



UNIwersYTET MEDYCZNY IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

TOMASZ SKALEC

Przydatność diagnostyczna i prognostyczna oznaczeń rozpuszczalnego receptora dla urokinazowego aktywatora plazminogenu u chorych leczonych z powodu sepsy

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor:

Dr hab. Waldemar Goździk, profesor nadzw.

Wrocław 2019

*Składam serdeczne podziękowania Promotorowi mojej pracy
Dr. hab. Waldemarowi Goździkowi, profesorowi nadzw.*

*a także dr. hab. Barbarze Adamik
oraz mgr. Łukaszowi Stróżeckiemu*

*Dziękuję także Karolinie, Zofii i Antoninie za nieustające wsparcie
i wyrozumiałość.*

Dedykuję Rodzicom

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP.....	6
1.1 <u>Wprowadzenie</u>	6
1.2 <u>Definicja sepsy</u>	7
1.3 <u>Skale prognostyczne i oceny niewydolności narządowej</u>	9
1.3.1 <i>Skala APACHE II</i>	9
1.3.2 <i>Skala SOFA</i>	10
1.4 <u>Epidemiologia i etiologia sepsy</u>	10
1.5 <u>Mechanizmy odpowiedzi immunologicznej w sepsie</u>	12
1.5.1 <i>Receptory Toll-podobne</i>	13
1.5.2 <i>Receptory NOD-podobne</i>	14
1.6 <u>Układ krzepnięcia w sepsie</u>	15
1.6.1 <i>Fibrynoliza, tPA, uPA</i>	16
1.7 <u>Biomarkery w sepsie</u>	17
1.7.1 <i>Białko C-reaktywne (CRP)</i>	18
1.7.2 <i>Prokalcytonina (PCT)</i>	18
1.8 <u>Rozpuszczalny receptor dla urokinazowego aktywatora plazminogen (suPAR)</u>	19
1.9 <u>Krążenie pozaustrojowe i reakcja zapalna</u>	22
1.10 <u>Wielomarkerowa analiza sepsy</u>	24
2. CELE PRACY.....	25
3. MATERIAŁ I METODA BADANIA.....	25
3.1 <u>Grupa badana i kryteria włączenia</u>	26
3.2 <u>Grupa kontrolna i kryteria włączenia</u>	26
3.3 <u>Protokół badawczy</u>	26
3.4 <u>Metoda oznaczenia suPAR</u>	26
4. METODY STATYSTYCZNE.....	30
5. WYNIKI.....	31
5.1 <u>Charakterystyka grup</u>	31
5.2 <u>Skale prognostyczne i oceny niewydolności narządowej</u>	34
5.3 <u>Rozpuszczalny receptor urokinazowego aktywatora plazminogenu (suPAR)</u>	36

5.4	<u>Biomarkery stanu zapalnego</u>	45
5.5	<u>Korelacje</u>	48
5.6	<u>Wartość prognostyczna</u>	52
6.	OMÓWIENIE WYNIKÓW.....	57
6.1	<u>Skala APACHE II</u>	58
6.2	<u>Skala SOFA</u>	59
6.3	<u>Biomarkery stanu zapalnego</u>	64
	6.3.1 <i>Prokalcytonina (PCT)</i>	64
	6.3.2 <i>Poziom mleczanów</i>	66
6.4	<u>Rozpuszczalny receptor urokinazowego aktywatora plazminogenu (suPAR)</u> ..	67
	6.4.1 <i>Wartość diagnostyczna</i>	67
	6.4.2 <i>Wartość prognostyczna</i>	71
7.	WNIOSKI.....	74
8.	ANEKS.....	75
8.1	<u>Skala qSOFA</u>	75
8.2	<u>Skala APACHE II</u>	75
8.3	<u>Skala SOFA</u>	76
9.	WYKAZ SKRÓTÓW UŻYTYCH W TEKŚCIE.....	77
10.	PIŚMIENNICTWO.....	79
11.	STRESZCZENIE.....	89
12.	SUMMARY.....	91

1. WSTĘP

1.1 Wprowadzenie

W ostatnich latach na całym świecie obserwuje się systematyczny wzrost częstości występowania sepsy. Sepsa jest również najczęstszą przyczyną hospitalizacji pacjentów na oddziałach intensywnej terapii (OIT) i jest ona także najczęstszą przyczyną zgonów na OIT [1]. Warunki kwalifikacji i przyjęcia do OIT określają min. wytyczne Krajowego Konsultanta w dziedzinie anestezjologii i intensywnej terapii z roku 2012. [2]. Istotną częścią tych wytycznych jest wyszczególnienie jakie stany chorobowe powinny być bezwzględnie leczone na oddziałach intensywnej terapii. W punkcie 8 podpunkcie H zapisana została ciężka sepsa i wstrząs septyczny. Dokument ten powstał przed 2016 rokiem, a więc obejmuje jeszcze starą nomenklaturę związaną z nieadekwatną odpowiedzią organizmu na infekcję.

W ostatnim czasie w obliczu starzenia się populacji zmienia się również profil pacjentów przyjmowanych do oddziałów intensywnej terapii i rośnie liczba chorych w zaawansowanym wieku, grupy szczególnego ryzyka wystąpienia powikłań infekcyjnych [3]. Stanowi to dodatkowe wyzwanie w opiece nad chorymi OIT. Niejednokrotnie pacjenci zawansowani wiekowo dodatkowo obarczeni są zespołem kruchości (Frailty syndrome), który zdecydowanie pogarsza ich rokowanie [4]. Jak dużym problemem jest sepsa świadczą liczne badania i publikacje na ten temat oraz inicjatywy podejmowane w skali globalnej. Wagę problemu sepsy może podkreślić fakt, że Światowa Organizacja Zdrowia (WHO - World Health Organization) w rezolucji WHA70.7 z 29 maja 2017r. ogłosiła rok 2017 rokiem walki z sepsą [5]. W Polsce, w 2005 roku, z inicjatywy profesora Andrzeja Küblera we Wrocławiu powstało Stowarzyszenie na Rzecz Badania i Leczenia „Pokonać Sepsę”. Stowarzyszenie propaguje wiele inicjatyw naukowych i społecznych, mających na celu upowszechnianie wiedzy na temat problemów profilaktyki, diagnostyki i leczenia sepsy w Polsce [6].

Ciągle jednak najważniejszym aspektem pozostaje kliniczna ocena pacjenta w sytuacjach zagrożenia życia znajdującego się poza OIT. W model ten wpisuje się działalność niedawno powołanych na terenie naszego kraju Zespołów Wczesnego Reagowania (ZWR), których celem i założeniem jest szybka identyfikacja chorych potencjalnie zagrożonych przyjęciem do OIT z powodu niewydolności narządowych, rozpoczęcie szybkiej diagnostyki i leczenia

w oczekiwaniu na transfer chorego do OIT. Działania takie dają możliwość wpływu na potencjalne zmniejszenie ilości zgonów związanych z sepsą [7].

W celu łatwiejszej identyfikacji pacjentów potencjalnie zagrożonych sepsą oraz kwalifikacji ich przyjęcia do oddziału intensywnej terapii niezbędne są odpowiednie narzędzia diagnostyki, monitorowania i prognozy przeżycia. Zadania te częściowo realizują odpowiednie skale kliniczne (m.in.: skala qSOFA, SOFA, APACHE II) i cząsteczki obecne w płynach ustrojowych pacjenta określane biomarkerami (m.in.: białko C-reaktywne, prokalcytonina). Narzędzia te jednak są dalekie od doskonałości. Prowadzone obecnie badania kliniczne ukierunkowane są między innymi na identyfikację biomarkerów i paneli biomarkerów oraz oceny ich związków z odpowiednimi skalami, które z największym prawdopodobieństwem określą ryzyko rozwoju sepsy [8]. W ostatnim okresie opisano szereg nowych biomarkerów, których przydatność we wczesnej diagnostyce sepsy poddawana jest bieżącej weryfikacji. Z uwagi na złożoność procesu jakim jest odpowiedź organizmu na infekcję oceniane są liczne substancje. Przykładem mogą być białka uwalnianie z komórek linii mieloidalnej szpiku (sTREM-1) czy białko błonowe CD 64 znajdujące się na powierzchni neutrofilii [9]. Innym z biomarkerów wzbudzających zainteresowanie jest presepsyna, która stanowi N-końcowy fragment receptora powierzchniowego CD 14 aktywowanego lipopolisacharydem bakteryjnym (LPS) [10]. Złożoność procesu jakim jest sepsa potwierdza fakt oceny użyteczności syndekanu-1 (sSDC1) stanowiącego fragment glikokaliksu wyścielającego naczynia krwionośne, a uwalnianego w czasie infekcji [11]. Jednak dotychczasowe badania nie potwierdzają większej użyteczności pojedynczych biomarkerów, a dopiero analiza wieloczynnikowa sprawia, że rośnie ich skuteczność w wykrywaniu i prognozowaniu przeżycia u pacjentów z nieadekwatną odpowiedzią organizmu na infekcję [9-11].

1.2. Definicja sepsy

Sepsa jest złożonym procesem patofizjologicznym, w którym dochodzi do szeregu zaburzeń funkcjonowania narządów wewnętrznych związanych z zakażeniem. Stan ten jako bezpośrednie zagrożenie życia, wymaga szybkich działań diagnostycznych i rozpoczęcia leczenia.

Już wiele wieków temu podejmowano próbę wyjaśnienia tego zagadnienia, jednak były to jedynie domysły oparte na zaburzeniach dotyczących czterech podstawowych płynów ustrojowych opracowane przez Hipokratesa [12]. Współcześnie, pierwszą próbę interpretacji zjawiska sepsy podjęto w latach 80 ubiegłego wieku. Obserwacje prowadzone i opisane przez Bone w 1989 roku [13] i następnie panel ekspertów powołany w 1992r zdefiniowały sepsę jako niedostosowana reakcję organizmu na infekcję [14]. Wiązało się to z koncepcją SIRS, czyli zespołu ogólnoustrojowej reakcji na zakażenie. Składowymi zespołu SIRS były temperatura ciała ($>38^{\circ}\text{C}$ lub $<36^{\circ}\text{C}$), częstość akcji serca ($>90/\text{min}$), częstość oddechu ($>20/\text{min}$) lub $\text{PaCO}_2 < 32\text{mmHg}$, poziom leukocytów (> 12 tys, <4 tys lub obecność form niedojrzałych w 10%). Aby rozpoznać sepsę chory musiał spełniać kryteria zespołu SIRS oraz mieć udowodnione źródło zakażenia. W tamtym okresie wprowadzono również pojęcie ciężkiej sepsy, które było interpretowane jako sepsa, której towarzyszyła ostra niewydolność narządowa. Wstrząs septyczny definiowano jako hipotensję pomimo podarząy należyj ilości płynów [14].

Powyższe definicje były jednak nieprecyzyjne. Zwłaszcza zespół ogólnoustrojowej reakcji na zakażenie (SIRS). Występowanie objawów było niespecyficzne i również obserwowano je u pacjentów, którzy nie prezentowali objawów sepsy. [15]. Kolejna próba ujednoczenia i interpretacji zmian zachodzących w sepsie podjęto w 2003r, gdy został opracowany i opublikowany dokument o nazwie SEPSIS-2 [16]. Dokument ten zwracał uwagę, na niską specyficzność i wysoką czułość kryteriów SIRS. Jednocześnie podkreślał on przydatność kliniczną SIRS, ułatwiającą postawienie rozpoznania sepsy. W związku z tym zespół ekspertów poszerzył listę objawów i wyników badań umożliwiających rozpoznanie sepsy. Kryteria diagnostyczne zostały podzielone na kilka podgrup. Objawy ogólne pacjenta poszerzono o dodatkowe kryterium dotyczące dodatniego bilansu płynowego lub obecności obrzęków obwodowych. W przypadku badań diagnostycznych dodano wzrost markerów reakcji zapalnej takich jak CRP, prokalcytonina i IL-6. Objawy ze strony układu krążenia poszerzono o badania hemodynamiczne (wzrost rzutu serca, spadek oporu obwodowego naczyń), ale również objawy kliniczne w postaci zmian zabarwienia skóry czy spadku diurezy. Do kryteriów rozpoznania sepsy dołączono objawy niewydolności narządowej w postaci zaburzeń świadomości, hiperglikemii czy zespołu wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC) [16].

Ponowną próbę ujednoczenia kryteriów rozpoznania sepsy podjęto w 2016r. Został powołany zespół ekspertów, który wprowadził dokument na nowo definiujący sepsę (SEPSIS-3) [17]. Odrzuca on kryteria rozpoznania SIRS jako elementu niezbędnego w celu rozpoznania

sepsy. Obecna definicja ujmuje sepsę jako stan zagrożenia życia związany z dysfunkcją narządową w skutek nieprawidłowej odpowiedzi organizmu gospodarza na zakażenie. W wyniku tych działań, zrezygnowano z dotychczasowego pojęcia ciężkiej sepsy. Powyższy dokument precyzuje wstrząs septyczny jako kontinuum sepsy z głęboko rozwiniętymi zaburzeniami dotyczącymi układu krążenia. U pacjentów z prawidłowo prowadzoną resuscytacją płynową, którzy wymagają włączenia w leczeniu amin katecholowych (norepinefryna, wazopresyna) w celu utrzymania średniego ciśnienia tętniczego na poziomie 65mmHg. Dodatkowo z pojawiającymi się zmianami na poziomie komórkowym i metabolicznym, co w ocenie laboratoryjnej przekłada się na podwyższony poziom stężenia mleczanów powyżej 2mmol/l. Dodatkowo obecna definicja sepsy kładzie nacisk na skalę SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) jako narzędzie do opisywania stopnia niewydolności narządowej. Według SEPSIS-3 rozpoznanie sepsy można również postawić w przypadku obecności źródła infekcji oraz nagłego wzrostu punktacji skali SOFA o co najmniej 2 punkty.

Panel ekspertów, na podstawie retrospektywnej analizy dużych baz danych, zaproponował wprowadzenie prostej skali opartej na trzech kryteriach klinicznych w celu identyfikacji pacjentów zagrożonych przedłużonym pobytem w oddziałach intensywnej terapii lub zwiększonym ryzykiem zgonu, u których potwierdzono występowanie zakażenia. Skalę nazwano „szybka” SOFA (Quick SOFA, qSOFA). W celu identyfikacji takiej grupy pacjentów, chorzy powinni spełniać przynajmniej dwa kryteria z poniższych trzech: nagła zamiana stanu świadomości, skurczowe ciśnienie tętnicze poniżej 100mmHg oraz częstość oddechów powyżej 22/min [17, 18], aneks tabela nr 1.

1.3 Skale prognostyczne i oceny niewydolności narządowej: SOFA, APACHE II

W celu oceny ciężkości niewydolności narządowej, monitorowania skuteczności leczenia lub ryzyka zgonu konieczna jest możliwość kodowania parametrów klinicznych w formie punktowej. To zadanie realizują skale. Zarówno skale prognostyczne jak APACHE II lub skale oceny ciężkości niewydolności narządowej jak skala SOFA. Skale prognostyczne mają na celu oszacowanie wyniku leczenia chorego w oddziale intensywnej terapii. Skale oceny niewydolności narządowej służą porównaniu w kolejnych dniach leczenia stanu pacjenta.

1.3.1 Skala APACHE II

Skala APACHE II została zaproponowana w 1985r. przez Knausa jako modyfikacja dotychczasowej skali APACHE (Acute Physiology and Chronic Health) z 1981 roku [19]. Zmiany w nowej skali prognostycznej wynikały z ograniczenia ilości danych koniecznych do wprowadzania w celu uzyskania wyniku. Obecnie skala APACHE II jest jedną z najszerzej użytkowanych skal prognostycznych. Składa się z dwunastu rutynowo oznaczanych parametrów, dodatkowo wieku i przeszłości chorobowej. W skali APACHE II pacjent może uzyskać od 0 do 71 punktów. Im wyższy wynik tym gorsze rokowanie chorego [20], aneks tabela nr 2.

1.3.2 Skala SOFA

Skala SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) została zaproponowana w 1994 roku w trakcie zjazdu Europejskiego Towarzystwa Intensywnej Terapii (European Society of Intensive Care Medicine, ESICM) w Paryżu, przez grupę roboczą do spraw problemów związanych z sepsą (The Working Group on Sepsis- Related Problems, ESICM). Raport z posiedzenia tej grupy roboczej ukazał się w 1996 roku i zawierał dokładny opis zastosowania skali SOFA oraz wartości punktowe dla określonych parametrów każdego z niewydolnych narządów [21]. Stworzenie takiego narzędzia diagnostycznego miało na celu ilościową i obiektywną ocenę niewydolności narządowej u pacjentów ze stwierdzoną sepsą. Początkowym zadaniem skali SOFA nie było określenie ostatecznego wyniku, a jedynie opis następujących po sobie powikłań u pacjentów w stanie niewydolności narządowej. W rezultacie z uwagi na fakt, że śmiertelność jest ściśle związana ze stopniem niewydolności narządowej, występuje bezpośredni związek pomiędzy ryzykiem zgonu, a wysokością punktacji w skali SOFA. Obecnie skala zawiera ocenę układu oddechowego pod postacią wskaźnika oksygenacji, układu krzepnięcia z wykorzystaniem poziomu pytek krwi, funkcji wątroby użycia amin katecholowych, funkcji centralnego układu nerwowego z wykorzystaniem skali śpiączki Glasgow oraz funkcji układu nerkowego za pomocą oceny poziomu kreatyniny w surowicy lub diurezy dobowej [17], aneks tabela nr 3.

1.4 Epidemiologia i etiologia sepsy

Określenie częstości występowania sepsy w populacji światowej stanowi poważny problem badawczy. Dotyczy on głównie braku jednolitych definicji czy narzędzi służących do rejestracji przypadków. Dotychczasowe badania dotyczą głównie krajów wysoko rozwiniętych.

Pierwszym dużym badaniem, prowadzonym na szeroką skalę w USA, była praca opublikowana w 2001 roku przez zespół pod przewodnictwem D. Angusa z Uniwersytetu w Pittsburghu. Badacze wykazali, po analizie ponad sześciu milionów przypadków, że częstość występowania ciężkiej sepsy w populacji amerykańskiej wynosi 751 000 przypadków na rok. Po przeliczeniu stanowi to 3/1000 mieszkańców USA oraz 2,26/100 wypisów szpitalnych. Badanie to zwróciło uwagę lekarzy na całym świecie na skalę problemu i spowodowało zwiększenie zainteresowania badaniami w kierunku częstości występowania ciężkiej sepsy [22].

Dużym badaniem epidemiologicznym na terenie Europy było opublikowane w 2006 roku badanie SOAP prowadzone przez zespół pod przewodnictwem J-L Vincenta. W badaniu brały udział liczne kraje Europy Zachodniej: Niemcy, Francja, Belgia, Holandia, Austria, Włochy, kraje skandynawskie oraz kraje Europy Wschodniej (m. In.: Polska, Czechy, Słowacja). Łącznie było to 198 ośrodków. Do badania zakwalifikowano 3147 pacjentów, wśród których 37% miało rozpoznaną sepse, a 930 chorych ciężką sepse [23].

W Polsce w 2001 roku Polskie Towarzystwo Anestezjologii i Intensywnej Terapii powołało Grupę Roboczą do spraw sepsy. Z inicjatywy tej grupy powstał internetowy rejestr, w którym lekarze pracujący w oddziałach intensywnej terapii mogli zgłaszać dane chorych leczonych z powodu ciężkiej sepsy. Na podstawie informacji zawartych w tym rejestrze internetowym zespół profesora Andrzeja Küblera opublikował dane, dotyczące analizy punktowej chorobowości w ciężkiej sepse u pacjentów oddziałów intensywnej terapii ocenianą w dniach 8 marca 2012 roku oraz 13 marca 2013 roku. W badaniu poddano analizie 1398 pacjentów zarejestrowanych w 2012 roku oraz 860 z 2013r. W oparciu o te dane oraz informacje z Narodowego Funduszu Zdrowia oszacowano, że roczna zachorowalność wynosiła odpowiednio 69 przypadków na 100 000 w 2012 roku oraz 60 zachorowań /100 000 w 2013r [24].

Powyższe dane wskazują, że największa częstość występowania sepsy występuje w krajach wysoko rozwiniętych, jednak podejrzewa się, że największy odsetek zgonów dotyczy głównie krajów nisko rozwiniętych, w których dokładna częstość występowania sepsy jest trudna do oceny. Dotychczasowe badania opierają się w głównie na ustaleniach zawartych w dokumencie SEPSIS-2. Niewiele jest badań dotyczących epidemiologii sepsy w oparciu o najnowsze definicje zawarte w ustaleniach z 2016 roku. Jest jednak bardzo prawdopodobne, że ilość rozpoznań sepsy na podstawie kryteriów SEPSIS-3 będzie zbliżona do ciężkiej sepsy, według definicji sprzed 2016r.

1.5 Mechanizmy odpowiedzi immunologicznej w sepsie

Wyniki badania SOAP pokazują, że najczęstszym miejscem pierwotnej infekcji u pacjentów z sepsą w krajach uczestniczących w tym badaniu są płuca (68% chorych), a w drugiej kolejności jama brzuszna (22%). Wyniki posiewów mikrobiologicznych udaje się uzyskać w 60% pobranych próbek. Autorzy badania najczęściej izolowali poniższe szczepy bakterii: *Staphylococcus aureus* (30%, w tym 14% szczep oporny na metycylinę), *Pseudomonas spp.* (14%), *Escherichia coli* (13%) [23]. Nieswoista odpowiedź immunologiczna stanowi pierwszą linię obrony organizmu gospodarza przed patogenami. Mikroorganizmy oraz ich czynniki zjadliwości są rozpoznawane przez komórkowe receptory rozpoznające wzorce (Pattern Recognition Receptors PRR), które znajdują się na licznych komórkach układu immunologicznego. Podstawowym zadaniem tych receptorów jest odróżnianie białek własnych gospodarza od czynników zjadliwości produkowanych przez patogeny. W przypadku tych drugich, po uwolnieniu fragmentów komórki lub rozpoznaniu białek znajdujących się na ich powierzchni, dochodzi do aktywacji wzoru związanego z patogenem (Pathogen-Associated Molecular Patterns – PAMP). Czynniki, które mogą wywierać wpływ na aktywację PAMP są między innymi lipopolisacharyd (endotoksyna – LPS), peptydoglikan, flagelina odpowiedzialna za zdolność ruchu rzęskowego niektórych szczepów bakterii. Dodatkowo, DNA bakterii, kwas lipotejchowy będący składnikiem błony komórkowej bakterii Gram dodatnich, czy mannan będący budulcem grzybów [25].

Nieswoista odpowiedź zapalna może zostać również aktywowana w wyniku działania czynników zewnętrznych takich jak oparzenia, martwica tkanek, uraz chirurgiczny. W tym przypadku uruchomione zostają struktury molekularne związane z uszkodzeniem (Danger-

Associated Molecular Pattern – DAMP), zwane również alarminami [26]. Zadaniem tego szlaku jest ostrzeżenie układu immunologicznego gospodarza o zbliżającym się zagrożeniu. Częsteczkami mającymi zdolność do aktywowania układu DAMP są między innymi białka szoku cieplnego (HSP), fibrynogen, białka S100, kwas hialuronowy oraz HMGB-1 (high-mobility group box-1 protein) [27].

Badania prowadzone od lat 90 ubiegłego wieku pozwoliły zidentyfikować liczne receptory typu PPR. Najlepiej poznane pozostają receptory Toll-podobne (Toll-like receptors, TLRs), NOD-podobne (NLR - NOD-like nucleotide -binding oligomerization domain-like receptors) oraz RIG – I – podobne (RLR – RIG-I-like receptors). Spośród tych receptorów TLR odgrywają największą rolę w odpowiedzi immunologicznej zachodzącej w sepsie [25].

1.5.1 Receptory Toll-podobne

Receptory typu TLR, początkowo wykryte u muszki owocówki (*Drosophilla*), występują również u innych gatunków. U ludzi zidentyfikowano aż 11 grup tych receptorów. Część z nich jest białkami błony komórkowej, których aktywacja prowadzi do zwiększenia transkrypcji genów dla mediatorów odpowiedzi immunologicznej. Występuje również grupa receptorów TLR obecna w endosomach i endolizosomach. Błonowe receptory Toll łączą się z lipopolisacharydem, lipoproteinami lub innymi białkami. Największą znaczenie w przypadku zakażenia wywołanego bakteriami Gram ujemnymi ma receptor TLR4. To on łączy się z kompleksem lipopolisacharyd – LBP (LBP – lipopolisachride binding protein, białko wiążące lipopolisacharyd) w wyniku czego dochodzi uruchomienia szlaku wewnątrzkomórkowego i aktywacji syntezy mediatorów stanu zapalnego. Innymi przykładami specyficznych połączeń są: TLR2 – peptydoglikan, TLR5 – flagelina [25].

Cztery białka z grupy TLR są receptorami wewnątrzkomórkowymi (TLR3, TLR7, TLR 8 i TLR9). Receptory wewnątrzkomórkowe wchodzą w skład endosomów i endolizosomów komórkowych. Ich zadaniem jest rozpoznawanie kwasów nukleinowych wydzielanych z fagocytowanych i poddawanych lizie komórek patogenów. TLR3 rozpoznaje dwuniciowe RNA wirusów, natomiast TLR7 i TLR8 rozpoznają jednoniciowe wirusowe RNA. Zadaniem receptora TLR9 jest wykrywanie DNA pochodzącego z różnych patogenów wywołujących stan zapalny [28].

Aby nastąpiła aktywacja ekspresji genów dla mediatorów stanu zapalnego sygnał z receptora aktywowanego ligandem musi zostać przekazany w głąb komórki. Cała grupa

receptorów TLR wykorzystuje cztery białka adaptorowe: białko adaptorowe MyD88 (*myeloid differentiation primary response protein 88*), TIRAP - białko adaptorowe zawierające domenę TIR (*TIRAP – TIR domain-containing adaptor protein*) zwane również jako Mal (*Mal - MyD88 adaptor like*), TRIF - białko adaptorowe zawierające domenę TIR indukujące interferon β (*TRIF – TIR domain-containing adaptor protein inducing IFN- β*) oraz TRAM - cząsteczkę adaptorową związaną z TRIF (*TRAM – TRIF related adaptor molecule*) Białka adaptorowe połączone z odpowiednimi kinazami prowadzą do fosforylacji białek hamujących czynniki jądrowe. Czynniki transkrypcji jądrowej kappab (NF κ B – *nuclear factor kappa B*) jest białkiem cytoplazmy. Przy braku aktywacji układu immunologicznego znajduje się on w formie nieaktywnych kompleksów z białkiem hamującym I κ B (*inhibitor kappa B*). W przypadku aktywacji receptorów TLR oraz kinaz wewnątrzkomórkowych następuje proces fosforylacji I κ B, który odszczepia się z połączenia z NF κ B. Reakcja ta uaktywnia NF κ B i zwiększa jego przenikanie do jądra komórkowego, a następnie zwiększa ekspresję genów mediatorów stanu zapalnego [29].

Jak istotne są białka adaptacyjne (My88D) oraz kinazy szlaku aktywacji NF κ B - IRAK-4 (kinaza białkowa IRAK 4, *IL-1R associated kinase-4*) dla procesu rozwoju sepsy wykazano u dzieci z defektem genetycznym tych białek. Obserwowano zwiększoną częstość ropnych infekcji u tych osób [30, 31].

Odpowiednia regulacja aktywności TLR ma istotny wpływ na przekazywanie sygnałów związanych z reakcją zapalną. Przykładem może być synergistyczne wzmocnienie przekazywania za pomocą komórkowych receptorów rozpoznających wzorce (PRR) oraz receptora TREM-1 (*triggering receptor expressed on myeloid cells 1*). W przypadku zablokowania TREM-1 w modelach zwierzęcych sepsy uwidoczono obniżoną ogólnoustrojową produkcję cytokin. Natomiast deficyt tego receptora u świnek morskich prowadził do zwiększonej śmiertelności w przypadku zapalenia płuc wywołanego *Pseudomonas aeruginosa* [32].

Część receptorów błon komórkowych takich jak ST2 (*IL-1 receptor-like 1*), SIGIRR (*single immunoglobulin IL-1R-related molecule*) lub RP105 (*radioprotective 105*) wywołuje efekt hamujący na reakcje wywołane przez TLR. W komórkach, które pozbawione są tych białek błonowych dochodzi do bardzo gwałtownej aktywacji i produkcji mediatorów stanu zapalnego [33]. Regulacja ekspresji genów może również zachodzić na poziomie białek adaptorowych. Białko TAG (*TRAM adaptor with Golgi dynamics domain*), które konkuruje z TRAM o miejsce wiązania na kolejnym białku adaptorowym TRIF może blokować TRIF-zależną ścieżkę ekspresji genów [34].

Jak widać, proces ekspresji genów dla mediatorów stanu zapalnego, w którym uczestniczą receptory TLR jest niezbędny do prawidłowej odpowiedzi organizmu gospodarza na wtargnięcie różnych patogenów. Zarówno nadmierna aktywacja lub brak któregoś z elementów szlaków sygnałowych wewnątrz komórki prowadzi do bardzo poważnych następstw.

1.5.2 Receptory NOD-podobne

Kolejnym rodzajem receptorów biorących udział w odpowiedzi na infekcję są receptory NLR, należą one do rodziny receptorów rozpoznających wzorce (PRR) [35]. Rozpoznają one specyficzne fragmenty komórek mikroorganizmów po wnikięciu ich do cytozolu komórkowego. Receptory te wykorzystują białko adaptorowe ASC (*ASC – apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase activation and recruiting domain*), które uczestniczy w procesie apoptozy i aktywuje liczne kaspazy. Zidentyfikowano kilka grup receptorów NLR. Największą grupą spośród NLR stanowią receptory z N-końcową domeną pirynową (NLRP), łącznie zidentyfikowano 14 podtypów tych receptorów [35]. Najważniejszymi w patogenezie stanu zapalnego są NLRP1, NLRP3, NLRC4. Mają one zdolność do gromadzenia się w wielocząsteczkowe kompleksy zwane inflamasomami. Tworzenie kompleksów następuje w wyniku działania różnych czynników, zarówno wewnętrznych – dwuniciowe DNA, kryształy kwasu moczowego, ale również zewnętrznych – wirusowe RNA, bakteryjny peptydoglikan. Powstawanie inflamasomów doprowadza do aktywacji kaspaz oraz procesu wytwarzania prozapalnych cytokin IL-1B, IL-18 [35].

U pacjentów we wstrząsie septycznym wykazano zmniejszoną ilość ekspresji mRNA dla białka adaptorowego ASC, kaspazy-1 oraz NLRP-1 w porównaniu z pacjentami wymagającymi intensywnej terapii, ale z innych powodów niż infekcja [36]. Może to wpływać na stan immunosupresji obserwowany u pacjentów we wstrząsie septycznym. Z drugiej strony, nadmierna aktywacja TLR, inflamosomów oraz układu kaspaz prowadzi do nadmiernej ilości uwalnianej IL-1B, co sprzyja uszkodzeniu narządów [25, 36].

Odpowiedź immunologiczna wyzwalana przy pomocy szlaków związanych z receptorami NOD-podobnymi stanowi kluczową rolę w prawidłowej odpowiedzi organizmu na infekcję.

1.6 Układ krzepnięcia w sepsie

Wystąpienie nieadekwatnej odpowiedzi organizmu na zakażenie sprzyja również zaburzeniom układu hemostazy. W przebiegu sepsy dochodzi do nadmiernej aktywacji układu krzepnięcia. Stanowi to adaptację organizmu do ograniczenia rozprzestrzeniania się patogenów poza obszar, w którym doszło do infekcji. Z powodu zaburzeń odpowiedzi organizmu na zakażenie ten proces również może ulegać destabilizacji. Nadmierna aktywacja prowadzi do przesunięcia delikatnej równowagi pomiędzy tworzeniem skrzepów, a procesem degradacji fibryny na korzyść pierwszego z nich oraz występowania zespołu wykrzepiania wewnątrznaczyniowego DIC (*DIC – disseminated intravascular coagulation*) [37].

W przebiegu infekcji dochodzi do stymulacji komórek jednojądrzastych oraz endotelium naczyniowego przez bakterie lub fragmenty ich komórek (LPS) oraz równoczesnego uaktywnienia cytokin prozapalnych (TNF α , IL-1, IL-8). Oba te procesy prowadzą do odsłonięcia czynnika tkankowego (*TF tissue factor*), który po połączeniu z czynnikiem VII kaskady krzepnięcia, wykazuje działanie prozakrzepowe oraz prozapalne [37]. Działanie prozakrzepowe zachodzi przy współdziałaniu aktywowanych czynników X oraz XI kaskady krzepnięcia i ostatecznie prowadzi do powstawania trombiny, która przekształca fibrynogen w fibrynę. W przypadku prozapalnego działania kompleksów czynnika tkankowego dochodzi do zwiększenia syntezy i wydzielania selektyn (selektyna P oraz E) przez komórki śródbłonka. Działanie tych białek znacząco wpływa na adhezję i aktywację neutrofilów. Proces ten sprzyja ich degranulacji i uwolnieniu licznych czynników uszkodzających endotelium, co nasila tworzenie się skrzepów, również w odległych narządach [38].

1.6.1 Fibrynoliza, tPA i uPA.

Fibrynoliza jest procesem enzymatycznego rozkładu usieciowanej fibryny i fibrynogenu. Zachodzi w naczyniach w celu utrzymania ich drożności. Taki proces ulega nasileniu również w sepsie z towarzyszącymi zmianami zakrzepowymi. Enzymem odpowiedzialnym za rozkład fibryny i fibrynogenu jest plazmina, która powstaje z plazminogenu poprzez aktywację tego proenzymu przez urokinazowy aktywator plazminogenu (*uPA – urokinase plasminogen activator*) biorący udział w wewnątrzpoходnym torze fibrynolizy lub tkankowy aktywator plazminogenu (*tPA – tissue plasminogen activator*) pochodzący z toru tkankowego [39].

Tor tkankowy zostaje aktywowany przez liczne czynniki, m.in.: siły ścinające działające na ścianę naczyń, ale również trombinę, wazopresynę i aminy katecholowe. W wyniku aktywacji

tej drogi dochodzi do wydzielania tPA z komórek endotelium, produkujących ten enzym. Tor tkankowy wykazuje większą aktywność w procesie fibrylizacji [40].

Udział uPA w zjawisku fibrylizacji jest związane z działaniem toru wewnątrzkomórkowego. Jego aktywacja następuje już w momencie uruchomienia drogi wspólnej układu krzepnięcia. Urokinaza łączy się ze swoistym receptorem uPAR (urokinazowy receptor aktywatora plazminogenu), który jest białkiem powierzchniowym komórki, połączonym kotwicą GPI. Kompleks uPA/uPAR aktywuje plazminogen do plazminy, która doprowadza do rozkładu fibryny i zapobiega jej nadmiernemu odkładaniu [39].

Dodatkowo kompleks uPA/uPAR wykazuje szereg innych funkcji. Między innymi wpływa na odpowiedź układu odpornościowego na infekcję [41]. Wydzielanie endotoksyn bakteryjnych oraz cytokin prozapalnych (interleukina 1B, czynnika martwicy nowotworów alfa - TNF α) wywiera wpływ na wydzielanie urokinazy przez neutrofile, monocyty i komórki endotelialne [41]. Uwalnianie uPA prowadzi do aktywacji neutrofilii i zwiększenia produkcji wolnych rodników tlenowych [42] oraz sprzyja migracji przy pomocy mechanizmów zależnych od uPAR [43]. Aktywacja plazminogenu do plazminy powoduje dalsze wydzielanie cytokin prozapalnych i nasilenie miejscowego stanu zapalnego. Dodatkowo kompleks uPA/uPAR wpływa na wrodzoną odpowiedź immunologiczną wywierając wpływ na proces przylegania komórek żernych oraz ich migracji [39, 41]. Inną rolą tego układu jest czynny udział w uruchamianiu procesów nabytej odporności. Niedojrzałe limfocyty T wykazują bazowy, niski poziom wydzielania uPA oraz uPAR, jednak dochodzi do ich wzmożonego wydzielania w przypadku aktywacji komórek T [41, 44]. Podobny efekt jest wywołany na komórkach prezentujących antygen [45].

Czynnikami wpływającymi na układ fibrylizacji aktywowanej za pomocą tPA i uPA są białka PAI (*plasminogen activator inhibitor*). W ludzkim organizmie obecne są dwie formy tego inhibitora: PAI-1 i PAI-2. Wykazują one zdolność do łączenia się zarówno z frakcją wolną, jak i związaną z receptorem obu aktywatorów plazminogenu. Powstające kompleksy białek złożone z aktywatora plazminogenu, receptora oraz białka PAI ulegają wchłonięciu do wnętrza komórki. Proces ten jest regulowany za pomocą białek receptorowych dla α_2 -makroglobuliny. Następnie kompleksy te ulegają uwolnieniu, a receptor dla aktywatorów plazminogenu jest transportowany na powierzchnię komórki [41, 46]. Sprawia to, że receptor dla uPA może być wykorzystany ponownie.

Należy jednak zauważyć, że wystąpienie infekcji znacznie upośledza procesy fibrynolizy regulowane również przez białko C, białko S i antytrombinę. Przesuwa to hemostazę w kierunku nasilonego krzepnięcia. Wpłynęło to na wprowadzenie rekombinowanego białka C jako leku wykorzystywanego w sepsie. Jednak z uwagi na liczne powikłania, preparat ten został wycofany z rynku produktów leczniczych [47].

1.7 Biomarkery w sepsie:

Biomarkery definiowane są jako wskaźniki, za pomocą których można zmierzyć i ocenić w sposób obiektywny procesy fizjologiczne, patologiczne lub odpowiedź na leczenie [48]. Zaproponowany podział biomarkerów przez Dupuy'a określa dwie główne funkcje tych wskaźników. Pierwsze z nich wykorzystywane są w testach diagnostycznych lub prognostycznych. Drugie wskazują odpowiedź na leczenie lub toksyczność danej terapii [49]. Pobudzenie układu immunologicznego w wyniku infekcji znacząco zwiększa wydzielanie substancji biologicznych będących potencjalnymi biomarkerami [48]. Z punktu widzenia klinicznego duże znaczenie ma szybka diagnostyka w celu potwierdzenia rozpoznania sepsy oraz określenie potencjalnego stanu chorego i oczekiwanego wyniku leczenia. Oznaczanie biomarkerów w trakcie procesu terapeutycznego pozwala w sposób kontrolowany prowadzić terapię, zwłaszcza antybiotykami [48 - 50].

Obecnie jest znanych kilka markerów sepsy [48] Ich efektywność jest znacząco ograniczona z powodu braku specyficzności lub wrażliwości. Klasycznymi biomarkerami wykorzystywanymi w diagnostyce sepsy, są prokalcytonina (PCT) oraz reaktywne białko C (CRP). Markery te mają swoje ograniczenia. Nie pozwalają na dokładne rozróżnienie pomiędzy zakażeniem, a stanem zapalnym wywołanym na przykład urazem chirurgicznym. Dodatkowo dyskutowana jest ich rola jako biomarkerów rokowniczych [8, 52].

1.7.1 Białko C-reaktywne (CRP)

Pierwsze próby wykorzystania białka C reaktywnego (CRP) do monitorowania stanu zapalnego i infekcji pojawiały się w latach osiemdziesiątych ubiegłego stulecia. Szybko zyskał popularność jako marker infekcji. Sprzyja temu szybka biosynteza tego wskaźnika już we wczesnej fazie stanu zapalnego. Jego produkcja następuje głównie w wątrobie oraz podlega regulacji między innymi przez interleukinę 6. Z uwagi na znaczny wzrost poziomu tego wskaźnika w trakcie stanu zapalnego, białko to jest szeroko stosowane w populacji dziecięcej,

zwłaszcza w oddziałach pediatrycznych [51]. U osób dorosłych jego wykorzystanie w diagnostyce sepsy jest ograniczone z powodu niskiej specyficzności tego markera [8, 51].

1.7.2 Prokalcytonina (PCT)

Prokalcytonina (PCT) jako biomarker została odkryta w latach pięćdziesiątych ubiegłego wieku u pacjentów z zakażeniem bakteryjnymi [51]. PCT jest prekursorem hormonu kalcytoniny. Uwalniana jest z komórek wątroby, nerek, komórek tkanki tłuszczowej i tkanki mięśniowej pod wpływem wydzielanych toksyn bakteryjnych. Jej wzrost pojawia się w 2-4 godziny od początku zakażenia. Prokalcytonina wykazuje większą specyficzność w diagnostyce infekcji bakteryjnych niż CRP [51]. W zakażeniach o etiologii wirusowej nie obserwowano wzrostu prokalcytoniny. Wiadomo jednak, że masywny uraz tkanek może doprowadzić do wzrostu stężeń tego biomarkera. Wysoki poziom prokalcytoniny wiąże się ze zwiększoną umieralnością, co bezpośrednio koreluje ze skalami rokowniczymi APACHE, SOFA czy SAPS [52]. Prokalcytonina jest również wykorzystywana jako wskaźnik do monitorowania antybiotykoterapii w sepsie. Sugeruje się, że spadek jej wartości poniżej 0,25ng/ml pozwala na odstawienie terapii antybiotykowej [8, 50].

1.8 Rozpuszczalny receptor dla urokinazowego aktywatora plazminogenu (suPAR)

Pierwsze doniesienia na temat rozpuszczalnego receptora urokinazowego aktywatora plazminogenu (*suPAR – soluble urokinase plasminogen activator receptor*) pojawiły się w 1991r, kiedy Ploug zidentyfikował białko o masie 60kDa, po tym jak za pomocą fosfolipazy C pochodzenia bakteryjnego działał na kolonię komórek wykazujących duże powinowactwo do urokinazy (uPA) [53]. Kolejne badania potwierdziły zdolność tego białka do łączenia z uPA oraz udział w procesach proteolizy, migracji komórek oraz proliferacji [54]. Ronne wraz z zespołem, jako pierwsi, zidentyfikowali suPAR również u zdrowych osób i zasugerowali, że osoczowy poziom rozpuszczalnego receptora aktywatora plazminogenu jest związany bezpośrednio z poziomem aktywacji układu immunologicznego [55]. Kolejnego odkrycia dokonał zespół Wahlbega, który wykazał obecność suPAR w płynach ustrojowych, m. in.: płynie z torbieli w przebiegu nowotworów jajnika, co zdecydowanie ułatwiło pobieranie i oznaczenie tego

markera w codziennej praktyce [56]. Doniesienia te wykazywały liczne funkcje biologiczne jakie pełni suPAR w procesach związanych z aktywacją proteolizy, stanu zapalnego, migracji komórek oraz nowotworzenia [39, 54, 56].

Rozpuszczalny urokinazowy receptor dla aktywatora plazminogenu jest krążącą postacią błonowego urokinazowego receptora dla aktywatora plazminogenu (uPAR). Białko to jest zakotwiczone za pomocą kotwicy glikozylofosfatydyloinozytolowej (GPI) w błonie komórkowej. Znajduje się ono na powierzchni komórek układu immunologicznego, między innymi monocytów, limfocytów T i makrofagów. Dodatkowo ekspresję tego białka wykazują komórki mające zdolność do prezentacji antygenów, jak keratynocyty, fibroblasty, komórki endotelium, komórki mięśni gładkich oraz niektóre komórki guzów litych [57]. Forma rozpuszczona receptora powstaje w wyniku trawienia enzymatycznego formy błonowej pomiędzy kotwicą GPI oraz domeną III (D III) suPAR [54, 57]. Rozpuszczalny uPAR wykazuje masę cząsteczkową ok. 55-60kDa. Zbudowany jest z trzech domen białkowych D I, D II, D III oraz regionu łącznikowego, który jest podatny na dalsze trawienie enzymatyczne [57]. Badania Wilhelma na komórkach nowotworowych jajnika poddawanych działaniu fosfolipazy D specyficznej dla kotwicy GPI wykazały, że cała pula suPAR pochodzi z trawienia enzymatycznego białka powierzchniowego i nie następuje jego wydzielanie ze struktur komórkowych [58]. Dodatkowo wykazano, że inne proteazy jak katepsyna G, fosfolipaza C dla fosfatydylo-inozytolu również są zdolne do rozkładu kotwicy GPI utrzymującej uPAR na powierzchni komórki [54, 58]. Dalsze działanie enzymów rozkładających białko prowadzi do trawienia rejonu łącznikowego pomiędzy domeną D I oraz domenami D II-III. Rejon łącznikowy może zostać trawiony przy użyciu urokinazy, plazminy powstałej z przekształcenia plazminogenu, chymotrypsyny, licznych metaloproteinaz oraz elastaz. Jednak trawienie rejonu łącznikowego uPAR za pomocą urokinazy może zachodzić jedynie w sytuacji, gdy uPAR pozostaje białkiem błonowym. Trawienie rejonu łącznikowego pomiędzy D I oraz D II-III prowadzi do powstawania kolejnych cząsteczek białkowych jak suPAR II-III oraz suPAR I. Każde z tych białek wykazuje funkcję biologiczną [54, 59].

Połączenie urokinazy z miejscem receptorowym uPAR, katalizuje reakcję przemiany plazminogenu do plazminy, a następnie plazmina jest zdolna do aktywacji licznych metaloproteinaz. Jedną z nich jest MMP-12 (*matrix metalloproteinase – 12*), metaloproteinaza należąca do grupy elastaz. Jej obecność jest ściśle związana z leukocytami i wykazuje silne działanie związane z rozkładem elastyny. Dprowadza to do miejscowej degradacji macierzy pozakomórkowej i sprzyja procesom migracji komórek [36].

Migracja komórek w poprzek błony podstawnej naczyń krwionośnych do otaczających tkanek jest istotnym elementem biorącym udział w odpowiedzi na zakażenie, przebudowie tkanek po urazie lub tworzenia ognisk przerzutowych. Proces ten jest ściśle związany z ekspresją i wydzielaniem cząsteczek odpowiedzialnych za chemotaksję oraz przyleganie komórek posiadających zdolność do migracji [54]. Układ urokinaza/uPAR jest ściśle związany z tym procesem. Badanie przeprowadzone na myszach pozbawionych genu uPAR i poddanych infekcji *Streptococcus pneumoniae* wykazały zmniejszoną migrację neutrofilii i zwiększoną śmiertelność w przebiegu zakażenia w porównaniu z populacją myszy bez mutacji [60]. Poza tym uPAR wpływa na dystrybucję integryn ich właściwości adhezyjne oraz zdolność do przekazywania sygnałów [36, 54, 61].

Dodatkowo ważnym aspektem migracji komórek jest ich interakcja z innym białkiem macierzy pozakomórkowej. Witronektyna wchodzi w skład ścian naczyń krwionośnych, zrębu narządów limfatycznych oraz luźnej tkanki łącznej [36, 54]. Po raz pierwszy Waltz i Chapman w 1994 roku wykazali, że witronektyna bierze udział w adhezji komórkowej zależnej od urokinazy [62]. Kolejne badania potwierdziły również, że receptor urokinazowego aktywatora plazminogenu uPAR I-III wykazuje silne właściwości łączenia z witronektyną [54]. Sidenius zaobserwował, że rozpuszczalna postać uPAR, w postaci trzech domen również wykazuje zdolność do łączenia witronektyny, jednak ta zdolność jest zależna od stężenia urokinazy (uPA) [63]. Jest to kolejny mechanizm pozwalający na migrację komórek. Dodatkowo stwierdzono, że proces ten może prowadzić do przebudowy cytoszkieletu komórkowego [36].

Dalsze trawienie enzymatyczne cząsteczki suPAR I-III w rejonie łącznikowym powoduje powstawanie dwóch nowych cząsteczek suPAR I oraz suPAR II-III. Domena D I (suPAR I) jest fragmentem rozpoznającym i łączącym się zarówno z urokinazą, ale również z witronektyną. Aktywność domeny DI po odszczepieniu jest niższa w stosunku do całej cząsteczki suPAR. Dodatkowo wykazano, że po trawieniu enzymatycznym suPAR II-III nie ma już zdolności do wiązania urokinazy [54]. Cząsteczka ta wykazuje inne właściwości. Trawienie enzymatyczne rejonu łącznikowego i odszczepienie domeny D I prowadzi do odsłonięcia pentapeptydu SRSRY (*Urokinase Receptor-derived Pentapeptide Serine-Arginine-Serine-Arginine-Tyrosine*). Rejon ten jest odpowiedzialny za zjawisko chemotaksji, czyli przemieszczania komórek wzdłuż gradientu stężenia czynnika chemotaktycznego. Wskazuje to na istotną funkcję jaką pełni suPAR II-III w procesach migracyjnych [36, 54, 59].

Obecność połączenia uPA/suPAR, a następnie połączenie z witronektyną wpływa także na przekaznictwo wewnątrzkomórkowe z użyciem kaskad kinaz białkowych. Szlaki kinaz FAK (*Focal Adhesion Kinase*) oraz MAPK (*Mitogen-activated Protein Kinase*) oddziałują na zwiększenie ilości podziałów komórkowych, przyleganie pomiędzy komórkami oraz interakcje z macierzą pozakomórkową, a więc na proces migracji komórek. Mają również istotny wpływ na ekspresję genów białek związanych z podziałami komórkowymi i apoptozą oraz samego receptora dla urokinazowego aktywatora plazminogenu [64].

SuPAR jest obecny w licznych płynach ustrojowych, a jego poziom nie wykazuje wahań dobowych. Obserwowano wzrost poziomu tego markera w infekcjach związanych z HIV, malarią, zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych, gruźlicą [55, 57]. Podwyższony poziom obserwuje się również u chorych z guzami litymi oraz w sepsie [36, 48, 59]. SuPAR nie jest markerem specyficznym dla infekcji, jednak stanowi wykładnik aktywacji układu immunologicznego. Jego wartość diagnostyczna jest niewielka, natomiast sugeruje się, że wykazuje on wysoką wartość predykcyjną [52, 57].

1.9 Krążenie pozaustrojowe i reakcja zapalna.

Zmiany zachodzące w zespole uogólnionej reakcji zapalnej skłoniły badaczy do poszukiwania odpowiedzi dotyczących wpływu krążenia pozaustrojowego, wykorzystywanego w operacjach kardiochirurgicznych na organizm ludzki. Pierwsze obserwacje poczynił Chenoweth, który wraz z zespołem zaobserwował, że krążenie pozaustrojowe w znaczny sposób wzmacnia aktywację układu dopełniacza [65]. Kolejne badania prowadzone przez Kirkilina dowiodły, że zachodzi korelacja pomiędzy aktywacją układu dopełniacza oraz chorobowością pooperacyjną [68].

Obecnie wiemy, że układy używane w technikach pozaustrojowych, zarówno podczas krążenia pozaustrojowego jak i terapii pacjentów w stanie skrajnej niewydolności narządowej, aktywują odpowiedź zapalną, ale również wzmagają aktywację układów stanowiących przeciwwagę dla SIRS [67].

Ekspozycja proteaz osoczowych na powierzchni nie będące śródbłonkiem naczyń powoduje uruchomienie alternatywnej drogi aktywacji dopełniacza, co w konsekwencji prowadzi do aktywacji czynnika osoczowego XII. Aktywny czynnik Hagemana prowadzi do zwiększania wydzielania bradykininy oraz uruchomienia wewnątrzpochodnej

kaskady krzepnięcia. Następujące uszkodzenie naczyń zwiększa wytwarzanie czynnika tkankowego (TF) oraz aktywacji zewnątrzpochodnej drogi układu krzepnięcia. Produkty pośrednie układu krzepnięcia i fibrynolizy, czynnik XIIIa oraz kompleksy heparyna-protamina doprowadzają do pobudzenia klasycznej drogi układu dopełniacza. Dodatkowo pobudzenie komórek układu immunologicznego i komórek endotelium zwiększa wytwarzanie mediatorów procesu zapalnego, enzymów lizosomalnych, kwas arachidonowego i innych czynników powodujących aktywację płytek krwi. Uwolnione w ten sposób mediatory doprowadzają do pojawienia się objawów w postaci gorączki, spadku ciśnienia tętniczego spowodowanym rozszerzeniem naczyń krwionośnych oraz zwiększenia przepuszczalności w mikrokrążeniu. Zwiększenie przepuszczalności mikrokrążenia prowadzi do obrzęku śródmiąższowego i nasila zużycie tlenu przez organizm [67, 68].

Innym elementem wpływającym na występowanie stanu zapalnego jest uraz reperfuzyjny. W trakcie krążenia pozaustrojowego dochodzi do przejściowego niedokrwienia tkanek obwodowych. Ponowny prawidłowy przepływ tkankowy i dostarczanie tlenu sprzyja uwalnianiu mediatorów zapalenia. Wśród nich dominują reaktywne formy tlenu oraz cytokiny. W początkowej fazie zmiany te następują lokalnie, jednak w kolejnych etapach obejmują one cały organizm. Mediatory stanu zapalnego powodują aktywację leukocytów, płytek krwi oraz komórek śródbłonna do zwiększenia ekspozycji białek błonowych odpowiedzialnych za przyleganie, integryn i selektyn. Przylegające komórki, leukocyty i płytki krwi, ulegają aktywacji i dochodzi do ich degranulacji i wydzielania enzymów lizosomalnych. Proces ten nasila lokalnie występujący stres tlenowy, aktywuje układ krzepnięcia oraz doprowadza do martwicy komórek. Dodatkowo reaktywne formy tlenu sprzyjają aktywacji procesu apoptozy. Uszkodzone endotelium, w wyniku uszkodzenia kaskady cyklicznego guanozynomonofosforanu tlenku azotu, nie jest w stanie produkować i wydzielać odpowiedniej ilości NO. Jego niedobór sprzyja rozwojowi procesów prozakrzepowych i prozapalnych. Powyższe mechanizmy wpływają na uszkodzenia narządowe powstające po krążeniu pozaustrojowym [67].

Występowanie zespołu uogólnionej reakcji zapalnej (SIRS) uruchamia przeciwdziałające mechanizmy kontrolujące zapalenie. Wydzielanie cytokin przeciwzapalnych, jak interleukina 10, stanowią składową część zespołu kompensacyjnej odpowiedzi przeciwzapalnej (Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome, CARS) [67, 69]. Zadaniem CARS jest również zmniejszenie zdolności prezentacji antygenów przez komórki niespecyficzne układu odpornościowego, np.: monocyty. Zmniejszenie ekspresji powierzchniowej antygenów ludzkich leukocytów (human

leucocyte antygen, HLA) ma znaczącą rolę w zdolnościach prezentacji antygeny przez komórki nieswoistej odpowiedzi immunologicznej. Dodatkowo CARS wpływa na rozpoznawanie lipopolisacharydu bakteryjnego w reakcji PAMPS, co ma związek ze zmniejszeniem produkcji i wydzielania czynnika martwicy nowotworu (TNF A). Powyższa sytuacja wpływa na zwiększoną możliwość zakażeń wtórnych do krążenia pozaustrojowego. Występuje zależność pomiędzy niskim TNF A oraz wysoką IL-10 [69].

Spodziewana aktywacja systemu immunologicznego, którego częścią jest układ urokinazowego aktywatora plazminogenu, powinna przekładać się na wzrost poziomu suPAR we krwi chorych poddawanych zabiegowi rewaskularyzacji tętnic wieńcowych z wykorzystaniem przeszć naczyń w krążeniu pozaustrojowym. Nie potwierdzają tej hipotezy badania prowadzone w Klinice Anestezjologii i Intensywnej Terapii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Zespół pod przewodnictwem Goździka nie obserwował istotnego statystycznie wzrostu poziomu suPAR u chorych po zabiegach kardiochirurgicznych [70]. Jednak poziom rozpuszczalnego uPAR w tej grupie pacjentów był podniesiony. Najprawdopodobniej jest to związane z miażdżycą, również tętnic wieńcowych, która jest najczęstszym wskazaniem do zabiegu pomostowania aortalno-wieńcowego. Miażdżycą jest procesem zapalnym występującym miejscowo, tuż przy ścianie naczyń. Towarzyszy jej migracja komórek układu immunologicznego co powoduje wzrost suPAR u tych chorych [71]. Znając poziom bazy suPAR w tej populacji i wiedząc, że ekspozycja na błonę oksygenatora w układzie do ECC nie powoduje istotnego statystycznie wzrostu rozpuszczalnego uPAR, populacja tych pacjentów wydaje się być odpowiednia jako grupa kontrolna dla chorych leczonych w OIT z powodu sepsy.

1.10 Wielomarkerowa analiza sepsy

Pomimo licznych oznaczeń pojedynczych markerów sepsy, niejednokrotnie chorzy hospitalizowani w dalszym ciągu narażeni są na wystąpienie infekcji i rozwój sepsy. Pojedyncze oznaczenia markerów nie odzwierciedlają znacznej dynamiki jaka zachodzi w układzie immunologicznym w chwili ekspozycji na czynnik infekcyjny. Opisują one jedynie stan stacjonarny, w momencie pobrania próbki. W celach szybszej i pewniejszej diagnozy podejmowano liczne próby stworzenia wielomarkerowych analiz, które pozwoliłyby szybko, z dużym prawdopodobieństwem określić obecność sepsy oraz przybliżyć rokowanie już w początkowym etapie choroby [8, 48].

Jedną z pierwszych prób wprowadzenia wielomarkerowej analizy sepsy podjął zespół kierowany przez Gibota. Analizowali oni poziom prokalcytoniny (PCT), sTREM-1 (*soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1*) oraz glikoproteiny CD 64 (*cluster of differentiation 64*) u chorych leczonych w oddziale intensywnej terapii. Badacze wykazali 80% skuteczność w różnicowaniu pomiędzy sepsą, a chorymi bez sepsy przy użyciu wielu biomarkerów w porównaniu z pojedynczym wskaźnikiem [72].

Jednakże, aktywacja układu immunologicznego podczas sepsy powoduje uruchomienie zarówno czynników prozapalnych jak i hamujących zapalenie. Zespół Anadalu-Ojeda zaproponował jednoczesną analizę obu tych czynników u pacjentów z ciężką sepsą. Zauważyli oni, że czynniki prozapalne: interleukina 6 (IL-6), interleukina 8 (IL-8) oraz białko chemotaktyczne monocytów MCP-1 (*monocyte chemoattractant proteine -1*) jak i czynniki przeciwzapalne: interleukina 10 (IL-10) są znacznie podniesione u chorych, którzy zmarli z powodu infekcji [73].

Analiza wielomarkerowa wydaje się być bardziej dokładna i skuteczniejsza w diagnostyce i określaniu rokowania chorych z sepsą. Jednak wymagane są dalsze badania w celu ustandaryzowania oznaczanych markerów i szerszego wprowadzenia takich analiz.

2. CELE PRACY

Celem prezentowanej pracy były:

1. Określenie przydatności diagnostycznej i prognostycznej monitorowania stężeń suPAR w populacji pacjentów septycznych leczonych w oddziale intensywnej terapii.
2. Określenie dynamiki i wartości prognostycznej suPAR w populacji pacjentów poddawanych planowej operacji serca z zastosowaniem krążenia pozustrojowego.
3. Zbadanie przydatności klinicznej seryjnego pomiaru stężenia suPAR u pacjentów w sepsie i wstrząsie septycznym.
4. Zbadanie wartości prognostycznej suPAR w relacji do innych monitorowanych biomarkerów sepsy, stężenia mleczanów oraz skal APACHE II i SOFA.
5. Określenie przydatności klinicznej wszystkich mierzonych wskaźników w ocenie prognozy wyleczenia i przeżycia pacjentów septycznych leczonych na oddziale intensywnej terapii.

3. MATERIAŁ I METODA BADANIA

Badania uzyskały zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, w dniu 12.02.2016r (opinia nr KB – 58/2016). Do badania włączeni zostali pacjenci Oddziału Intensywnej Terapii Kliniki Anestezjologii i Intensywnej Terapii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu hospitalizowani w okresie od marca do grudnia 2016 roku. Od chorych przytomnych uzyskiwano świadomą zgodę na uczestnictwo w projekcie badawczym. U jednego pacjenta uzyskano zgodę opiekuna prawnego pacjenta. W przypadku chorych nieprzytomnych w momencie przyjęcia do OIT zgoda była domniemana, co zapisywano w formularzu uczestnictwa, a o procedurze informowano osobę upoważnioną do kontaktu. W razie sprzeciwu osób upoważnionych do kontaktu, co do uczestnictwa chorego w badaniu, pacjent nie był kwalifikowany do dalszego etapu projektu.

3.1 Grupa septyczna i kryteria włączenia:

Grupę septyczną stanowili pacjenci z rozpoznaniem sepsy lub wstrząsu septycznego postawionym podczas przyjęcia do OIT i będącym przyczyną hospitalizacji na oddziale intensywnej terapii. Warunkiem włączenia do dalszej części protokołu było przeżycie pierwszych 24 godzin od momentu przyjęcia do OIT. Zakwalifikowano chorych w wieku powyżej 18 roku życia płci męskiej i żeńskiej. Kryteriami wykluczenia pacjentów z badania były rozpoznana i potwierdzona choroba nowotworowa oraz przewlekle przyjmowana ogólnoustrojowa terapia immunosupresyjna. Określono dwa punkty końcowe badania. Pierwszym z nich było przeżycie 10 dnia leczenia w OIT, co ściśle wiąże się to z kinetyką suPAR u chorego z sepsą. Drugim punktem końcowym był 28 dzień od momentu przyjęcia do OIT, w którym określano wartość predykcyjną dla suPAR.

3.2 Grupa kardiologiczna i kryteria włączenia:

Grupę kardiologiczną stanowiło 20 dorosłych pacjentów operowanych planowo w Klinice Chirurgii Serca we Wrocławiu. Pacjenci byli poddani zabiegom zarówno z wykorzystaniem krążenia pozaustrojowego, jak i bez jego użycia. Od pacjentów uzyskano pisemną, świadomą zgodę na udział w badaniu. Kryteriami wyłączenia z protokołu badawczego były, podobnie jak w grupie septycznej, rozpoznana i potwierdzona choroba nowotworowa

oraz przewlekle przyjmowana ogólnoustrojowa terapia immunosupresyjna. Dodatkowo z badania wykluczano pacjentów, u których stwierdzono objawy zakażenia w okresie okołoperacyjnym. Do badania kwalifikowano pacjentów operowanych trybie planowym. Punktem końcowym badania dla tej grupy była trzecia doba po zabiegu chirurgicznym.

3.3 Protokół badawczy:

Grupa septyczna:

W dniu przyjęcia do oddziału intensywnej terapii, po wstępnym rozpoznaniu sepsy lub wstrząsu septycznego, odnotowywano dane demograficzne i kliniczne pacjenta.

W protokole badawczym uwzględniono informacje dotyczące chorób przewlekłych, określano tryb przyjęcia do oddziału, potencjalne źródło zakażenia oraz nasilenie choroby (sepsa/wstrząs septyczny) na podstawie wytycznych SEPSIS-3 [17].

Dane kliniczne i laboratoryjne gromadzono następnie w 3, 5, 7, 10 dobie leczenia w OIT.

Grupa kardiologiczna:

Standardowo określano dane demograficzne oraz odnotowywano schorzenia towarzyszące pacjentów.

Procedury znieczulenia i chirurgiczne przeprowadzano według ogólnych zasad postępowania, przyjętych w Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym we Wrocławiu. Indukcję znieczulenia przeprowadzano z zastosowaniem sufentanylu i propofolu. Rocuronium w dawce 0,6 mg / kg podawano w celu ułatwienia intubacji. Do podtrzymania znieczulenia ogólnego stosowano sewofluran 1–3vol% obj. i ciągły wlew sufentanylu 0,2–0,5 µg / kg / h. Wentylację mechaniczną prowadzono w trybie wentylacji PCV z objętością oddechową (TV) 0,6 ml/kg m.c. należnej i PEEP 5 cm H₂O. Sewofluran w czasie CPB podawano do układu oksygatora z parownika zainstalowanego na maszynie płuco-serce. Techniki chirurgiczne i ochrony mięśnia sercowego były takie same dla wszystkich pacjentów zgodnie z protokołami instytucjonalnymi. U pacjentów operowanych z zastosowaniem CPB stosowano oksygatory (Affinity NT Oxygenator CB 511 z Medtronic Cardiac Surgery, Minneapolis, MN) oraz pompę rolkową przepływem krwi 2,2 do 2,4 l / min / m² (Stockert S3, Sorin Group, Niemcy). Heparynę podawano po początkowym bolusie 3mg / kg, aktywowany czas krzepnięcia (ACT) utrzymywano > 480 sekund. Dawkę 1 g kwasu traneksamowego podano podczas indukcji znieczulenia i po podaniu protaminy. Odłączenie od CPB rozpoczynano po ustabilizowaniu się rytmu serca

i osiągnięciu normotermii. Odnotowywano rodzaj zabiegu operacyjnego, czas trwania krążenia pozaustrojowego oraz czas zaklemowania aorty w czasie CPB.

Po operacji pacjentów przekazywano na oddział intensywnej terapii. Sedację z użyciem propofolu od 0,5 do 1,0 mg / kg / h kontynuowano do momentu odstawienia pacjenta od wentylacji mechanicznej i ekstubacji. Objawy niedokrwienia mięśnia sercowego, potrzebę wsparcia inotropowego i zaburzenia rytmu serca rejestrowano pooperacyjnie.

Próbki krwi do oznaczeń laboratoryjnych pobierane były poprzez aspirację krwi z cewnika tętniczego wprowadzonego do tętnicy promieniowej przed indukcją znieczulenia ogólnego:

T0 –przed indukcją znieczulenia ogólnego

T1- 6 godzin po zakończeniu zabiegu operacyjnego

T2- w drugiej dobie po operacji

T3- w trzeciej dobie po operacji

W obu grupach, określano stan pacjentów w dniu przyjęcia do OIT wykorzystaniem skali APACHE II. W grupie septycznej dodatkowo oceniano chorych za pomocą skali SOFA. Dane zapisywano na kartach obserwacji dziennej pacjentów, a stamtąd przenoszono do bazy danych projektu badawczego. Ocenie klinicznej poddawano poniższe układy:

Układ krążenia:

- ciśnienie tętnicze krwi: skurczowe, rozkurczowe, średnie (MAP);
- użycie amin katecholowych, rodzaj oraz dawka leku;

Układ oddechowy:

- konieczność prowadzenia wentylacji mechanicznej;
- tryb oddechowy użyty w terapii respiratorem;
- stężenie tlenu w mieszaninie oddechowej

Funkcja nerek:

- diureza godzinowa;
- konieczność użycia technik nerkozastępczych;
- użycie leków diuretycznych oraz ich dawka Inne parametry:
- konieczność użycia sterydoterapii oraz dawka;
- użycie leków przeciwkrzepliwych oraz dawka;

Chorzy obu grup mieli rutynowo wykonywane badania laboratoryjne, pobierane codzienne w ramach postępowania oddziałowego. Wyniki oznaczano w Centrum Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu według standaryzowanej procedury szpitalnej. Do analizy parametrów krytycznych wykorzystywano analizator Radiometer ABL 700 Copenhagen Blood Gas Analyzer.

Oznaczenia laboratoryjne:

W analizie oznaczeń laboratoryjnych wykorzystywano pomiary morfologii krwi: poziom leukocytów, hemoglobiny, płytek krwi, CRP, prokalcytoniny, stężenie kreatyniny oraz bilirubiny.

W analizie parametrów krytycznych odnotowywano wartości pH krwi tętniczej, prężność gazów we krwi tętniczej (PaO₂, PaCO₂), poziom wodorowęglanów, niedobór zasad (BE), oraz poziom mleczanów we krwi tętniczej.

Wyliczano gradient pęcherzykowo-włośniczkowy (A-a O₂) oraz wskaźnik oksygenacji (PaO₂/FiO₂).

3.4 Metoda oznaczenia suPAR

W obu grupach krew do oznaczeń suPAR pobierano z kaniuli tętniczej założonej wcześniej celem monitorowania i leczenia chorego. Krew (2,4ml) pobierano do probówki zawierającej EDTA (*Ethylenediaminetetraacetic acid*) jako antykoagulant. Pobraną krew odwirowywano do 30 minut po pobraniu (3000 rpm przez 15 min, +4°C), a uzyskane osocze przechowywano w temperaturze -70°C do czasu oznaczenia. Po zebraniu materiału badawczego od wszystkich pacjentów oznaczono ilościowo suPAR wykorzystując test suPARnostic® ELISA Kit (ViroGates A/S, Birkerød, Dania). Test jest dostępny komercyjnie i posiada certyfikat CE/IVD. Oznaczenia wykonuje się metodą immunoenzymatyczną ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) z zastosowaniem przeciwciał mysich i szczurzych skierowanych przeciwko ludzkiemu rozpuszczalnemu receptorowi dla urokinazowego aktywatora plazminogenu. Wszystkie oznaczenia zostały wykonane zgodnie z instrukcją podaną przez producenta testu. W pierwszym etapie oznaczeń do próbek osocza pacjentów, próbek krzywej standardowej i próbek kontrolnych dodaje się mysie przeciwciało anty-suPAR skoniugowane z peroksydazą. W kolejnym etapie, tak wymieszane próbki są przenoszone na

96-dołkową płytkę opłaszczoną szczurzym przeciwciałem anti-suPAR. Podczas inkubacji (1 godz. temp. pokojowa, w ciemności), tworzy się kompleks zawierający 3 elementy: związane z podłożem szczurze przeciwciała anti-suPAR, cząsteczkę suPAR oraz mysie przeciwciała anti-suPAR skoniugowane z peroksydazą. Niezwiązany materiał jest usuwany w trakcie płukania płytki roztworem buforu PBS (*Phosphate-buffered saline*). Następnie do dołków na płytce dodawany jest barwnik TMB (3,3',5,5'- tertrametylbenzydyna). W trakcie inkubacji (20 min., w ciemności) zachodzi reakcja pomiędzy barwnikiem a peroksydazą i obserwuje się niebieskie zabarwienie próbek, którego natężenie jest zależne od stężenia suPAR. Reakcję TMB z peroksydazą zatrzymuje się poprzez dodanie 0,45 M kwasu siarkowego do każdego dołka na płytce. Podczas tego procesu zachodzi zmiana zabarwienia z niebieskiego na żółty. Wyniki absorbancji odczytano za pomocą czytnika spektrofotometrycznego (ELx800UV, BIOKOM, Janki k/Warszawy) przy długości fali 450nm i referencyjnej 650 nm w ciągu 30 minut od dodania kwasu siarkowego. Stężenie suPAR w próbkach pobranych od pacjentów zostało oznaczone z wykorzystaniem krzywej standardowej. Limit detekcji dla testu wynosi 0,1 ng/mL. Stężenie suPAR u ludzi zdrowych wynosi 2-3 ng/mL (wg. danych ze strony firmy Virogates).

4. METODY STATYSTYCZNA

Uzyskane w toku badania dane zostały zebrane i usystematyzowane z wykorzystaniem narzędzi arkusza kalkulacyjnego Excel 2016. Badanie statystyczne przeprowadzono z wykorzystaniem pakietu Statistica 13.1 PL. Dla całego badania statystycznego przyjęto jako graniczny dla odrzucenia hipotezy zerowej poziom istotności $p = 0.05$.

Dla każdego z analizowanych parametrów ilościowych wyliczono podstawowe statystyki opisowe z uwzględnieniem podziału na założone podgrupy, Zastosowany na wstępie test Shapiro-Wilka odrzucił przy założonym poziomie istotności hipotezę o normalności rozkładów badanych zmiennych. Z tego też względu w analizie zastosowano testy nieparametryczne - test U Manna-Whitney'a i test ANOVA Kruskala-Wallisa z testem wielokrotnych porównań dla zmiennych niezależnych oraz test ANOVA Friedmana dla zmiennych zależnych (przebieg w czasie).

Siłę zależności wybranych zmiennych dychotomicznych od poszczególnych parametrów oceniono wykorzystując analizę krzywej ROC. Wyznaczono punkt odcięcia (punkt o optymalnym stosunku czułości do specyficzności. Porównania wartości prognostycznej dokonano za pomocą

pola powierzchni pod krzywą ROC (AUROC), gdzie największe pole powierzchni pod krzywą ROC wskazuje metodę o najwyższej wartości.

Istotnych związków korelacyjnych poszukiwano stosując nieparametryczny test korelacji rang Spearmana.

Dla parametrów jakościowych wyliczono częstości występowania poszczególnych wariantów z wykorzystaniem tabel wielodziednych (kontyngencji). Do oceny istotności różnic w rozkładach pomiędzy grupami zastosowano test χ^2 Pearsona, χ^2 Największej Wiarygodności i test χ^2 z poprawką Yatesa stosując je odpowiednio w zależności od liczebności oczekiwanych

5. WYNIKI

5.1 Charakterystyka badanych grup

	Grupa septyczna (N=51)
Płeć n (%): żeńska/ męska	24 (47,06) / 27 (52,94)
Wiek (lata, +/- SD)	67,49 +/- 13,923
Ciężar ciała (kg, +/- SD)	76,20 +/- 115,59
APACHE II (punkty, +/- SD (min-max))	22,14 +/- 7,75 (9- 38)
Tryb przyjęcia n (%) niechirurgiczny chirurgiczny nieplanowy	25 (49,02) 26 (50,98)
Choroby współistniejące n (%) choroba niedokrwienna serca, miażdżyca przewlekła niewydolność krążenia nadciśnienie tętnicze cukrzyca przewlekła choroba nerek POChP	4 (7,84) 5 (9,80) 7 (13,72) 2 (3,92) 4 (7,84) 3 (5,88)

Miejsce zakażenia n (%)	
pozaszpitalne zapalenie płuc	5 (9,80)
szpitalne zapalenie płuc	12 (23,53)
śródbrzuszne	25 (49,02)
układ moczowy	4 (7,84)
zakażenie krwiopochodne	1 (1,96)
tkanki miękkie	1 (1,96)
inne miejsca	3 (5,88)
Nasilenie odpowiedzi zapalnej n(%)	
sepsa	14 (27,45)
wstrząs septyczny	37 (72,55)
Przeżycie n (%):	
3 dni	41 (80,39)
10 dni	37 (72,55)
28 dni	32 (62,74)
Czas leczenia w OIT (dni, +/- SD (min-max))	9,78 +/- 8,73 (1-37)
Całkowity czas hospitalizacji (dni, +/- SD (min-max))	40,37 +/- 32,31 (1-154)

Tabela 1. Dane demograficzne i kliniczne grupy septycznej.

Ostatecznej analizie w grupie septycznej poddano 51 pacjentów z początkowo zakwalifikowanych 59 uczestników badania. Wynikało to z braków wszystkich danych niezbędnych do oceny (7 pacjentów) oraz niedostatecznej liczby oznaczeń suPAR (2 pacjentów). Grupa składała się z 24 kobiet oraz 27 mężczyzn. Średnia wieku w grupie wynosiła 67,49 lat, a średni ciężar ciała wynosił 76,20kg. Pacjenci byli przyjmowani jednakowo licznie po nieplanowanym zabiegu chirurgicznym, jak i bez interwencji chirurgicznej. W grupie septycznej nie było chorych, którzy zostali przyjęci po planowych zabiegach chirurgicznych. Średnia wartość skali APACHE II wynosiła 22,14 punkty, jednak zwraca uwagę znaczna rozpiętość punktacji przy minimum 9 punktów i maksimum 38 punktów. W tej grupie pacjentów wśród chorób towarzyszących występowało nadciśnienie tętnicze w 13,72%, a choroba niedokrwienna serca i miażdżyca w 7,84%. Równolicznie występowała przewlekła choroba nerek.

Przy przyjęciu do oddziału intensywnej terapii 27,45% chorych prezentowało objawy sepsy rozpoznawane na podstawie konsensusu SEPSIS-3, a aż 72,55% pacjentów miało

rozpoznany wstrząs septyczny. Najczęstszym pierwotnym miejscem zakażenia była jama brzuszna (25 pacjentów, 49,02%). Drugim pod względem rozpoznania było zapalenie płuc wewnątrzszpitalne (23,53%), a trzecim z najczęstszych pozaszpitalne zapalenie płuc (9,80%). Średni czas leczenia w OIT u tej grupy pacjentów wynosił 9,78 dnia, przy czym najdłuższy czas pobytu w oddziale wyniósł 37 dni. Po opuszczeniu oddziału intensywnej terapii pacjenci byli hospitalizowani przez średnio 40,37 dni, a najdłuższy pobyt po wypisie z OIT wyniósł 154 dni. W odniesieniu do punktów końcowych badania 72,55% pacjentów przeżyło do 10 doby leczenia w OIT, natomiast przeżycie wczesne w 28 dniu od momentu przyjęcia wyniosło 62,74%.

	Grupa kardiologiczna (N=19)
Płeć n (%):	
żeńską/ męską	7 (36,84) / 12 (63,16)
Wiek (lata, +/- SD)	66,55 (+/- 10,71)
Ciężar ciała (kg, +/- SD)	72,42 (+/- 13,07)
APACHE II (punkty +/- SD (min-max))	8,66 +/- 4,00 (1- 15)
Tryb przyjęcia n (%)	
chirurgiczny planowy	19 (100)
Rodzaj operacji (%)	
CABG	11 (57,89)
▪ OPCAB	2 (10,52)
Operacje zastawek	2 (10,52)
Operacje tętniaków aorty	1 (5,26)
Operacje kombinowane	5 (26,31)
Czas CPB	126,944 (+/- 47,19)
Czas ACC	80,833 (+/- 31,52)
Choroby współistniejące n (%)	
choroba niedokrwienna serca, miażdżycy	19 (100)
przewlekła niewydolność krążenia	1 (5,26)
nadciśnienie tętnicze	18 (94,73)
cukrzyca	7 (36,84)
przewlekła choroba nerek	2 (10,52)
POChP	2 (10,52)
Przeżycie n (%):	
3 dni	19 (100)
10 dni	19 (100)
28 dni	19 (100)

Czas leczenia w OIT (dni, +/- SD (min-max))	2,20 +/- 1,11
Całkowity czas hospitalizacji (dni, +/- SD)	20,65 +/- 12,21

Tabela 2. Dane demograficzne i kliniczne grupy kardiologicznej.

W grupie kardiologicznej analizie poddano 19 pacjentów z początkowych 20 osób. Jedna pacjentka rozwinęła objawy wstrząsu septycznego w okresie pooperacyjnym, w związku z tym została wyłączona z protokołu badawczego. W tej grupie pacjentów przeważała płeć męska (12 pacjentów, 63,13%). Średni wiek pacjentów wynosił 66,55lat, a ciężar ciała 72,42kg. Wszyscy pacjenci operowani byli w trybie planowym. W większości pacjenci operowani byli z powodu miażdżycy naczyń wieńcowych i mieli wykonane zabiegi pomostowania aortalno-wieńcowego (CABG) 57,89%. W tej grupie znalazło się dwoje pacjentów, u których wykonano zabieg bez użycia krążenia pozaustrojowego. Pięcioro pacjentów miało wykonany zabieg kombinowany, tj. operację pomostowania z zabiegiem zastawkowym lub zabieg zastawkowy z protezowaniem tętniaka aorty (26,31%). Dwójka pacjentów miała przeprowadzony zabieg zastawkowy, a w jednym przypadku przeprowadzono zabieg protezowania tętniaka aorty. W przypadku zabiegów z użyciem krążenia pozaustrojowego, czas krążenia wynosił średnio 126,94 minuty, a czas zamknięcia aorty wynosił 80,833. Średnia wartość punktacji APACHE II po przyjęciu do OIT wyniosła 8,66 pkt.

W tej grupie 100% pacjentów miało stwierdzoną chorobę niedokrwienną serca, a aż 94,73% nadciśnienie tętnicze. Istotnym pozostaje fakt, że u 36,84% grupy kardiologicznej rozpoznawano cukrzycę, a przewlekła choroba nerek występowała 2 pacjentów (10,52%). Przeżycie w tej grupie pacjentów wynosiło 100% niezależnie od punktu końcowego. Średni czas pobytu w OIT wynosił 2,20 dni, a czas hospitalizacji po wypisie z OIT 20,65 dni.

5.2 Skale prognostyczne i oceny niewydolności narządowej

	<i>Gr. septyczna</i>	<i>Gr. kardiologiczna</i>	<i>p</i>
<i>APACHE II</i>	23 (9 - 38; N=50)	9 (1 - 15; N=19)	<0,001

Tabela 3. Porównanie skali APACHE II pomiędzy grupą septyczną i grupą kardiologiczną. Dane przedstawiono w formie mediany (min – max, N – ilość pomiarów), $p < 0,05$.

Skala SOFA	Gr. septyczna
<i>dzień 1</i>	12 (2 - 18; N=49)
<i>dzień 3</i>	10 (0 - 19; N=37)
<i>dzień 5</i>	4,5 (0 - 18; N=30)
<i>dzień 7</i>	6 (0 - 18; N=22)
<i>dzień 10</i>	6 (2 - 20; N=17)

Tabela 4. Punktacja skali SOFA w grupie septycznej. Dane przedstawiono w formie mediany. (min – max, N – ilość pomiarów).

Poddano analizie wartość punktacji APACHE II, oceniającej śmiertelność chorych w oddziałach intensywnej terapii W grupie septycznej mediana wynosiła 23, a w kardiologicznej 9. Były to istotne statystycznie różnice pomiędzy grupami.

Tabela 4 prezentuje ocenę w skali SOFA przeprowadzoną w kolejnych dniach pobytu pacjenta na oddziale intensywnej terapii. W grupie kardiologicznej nie przeprowadzono pełnej oceny w skali SOFA z powodu brak rozpoznania sepsy u pacjentów w tej grupie. Analizowano jednak wartości parametrów laboratoryjnych i klinicznych wchodzących w skład skali SOFA monitorowanych w kolejnych dniach leczenia. W ocenie nie uwzględniono wartości punktacji GCS (Glasgow Coma Scale, skala śpiączki Glasgow). Dane porównano dwukrotnie, tj.: w pierwszej i trzeciej dobie pobytu w OIT. Dane poddane ocenie przedstawiono w tabeli 5.

Parametr	Grupa septyczna	Grupa kardiologiczna	P
<i>Kreatynina 0 (mg/dl)</i>	1,53 (0,53-6,91; N=51)	0,88 (0,57-1,31; N=17)	0,002
<i>Kreatynina 3 (mg/dl)</i>	0,96 (0,51-5,87; N=39)	0,82 (0,56-1,58; N=19)	0,521
<i>Bilirubina 0 (mg/dl)</i>	1 (0,2-13,4; N=51)	1,35 (1-2,8; N=10)	0,078
<i>Bilirubina 3 (mg/dl)</i>	0,7 (0,3-9,4; N=25)	1,4 (0,5-4,1; N=6)	0,391
<i>PaO₂/FiO₂ 0</i>	203,5 (43,7-436; N=48)	258 (157-690; N=19)	0,025
<i>PaO₂/FiO₂ 3</i>	248,5 (100-405; N=36)	334 (157-541; N=14)	0,001
<i>MAP 0 (mmHg)</i>	67 (32-92; N=49)	80 (63-100; N=19)	0,001
<i>MAP 3 (mmHg)</i>	71,66 (11-96; N=37)	74 (62-110; N=14)	0,352

<i>Trombocyty 0 ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)</i>	198 (12-628; N=51)	164 (66-420; N=19)	0,543
<i>Trombocyty 3 ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)</i>	189 (10-652; N=39)	154 (47-341; N=19)	0,223

Tabela 4. Składowe skali SOFA. PaO₂/FiO₂ – wskaźnik oksygenacji, MAP – mean arterial pressure średnie ciśnienie tętnicze. Dane przedstawiono jako mediana (min - max; N – ilość pomiarów), p<0,05.

Stwierdzono istotne statystycznie różnice między grupami poziomu kreatyniny, średniego ciśnienia tętniczego i współczynnika oksygenacji w pierwszym pomiarze. (Tabela nr 4). W przypadku wskaźnika oksygenacji również w trzeciej dobie różnica między obiema grupami była statystycznie istotna.

5.3 Rozpuszczalny receptor urokinazowego aktywatora plazminogenu (suPAR)

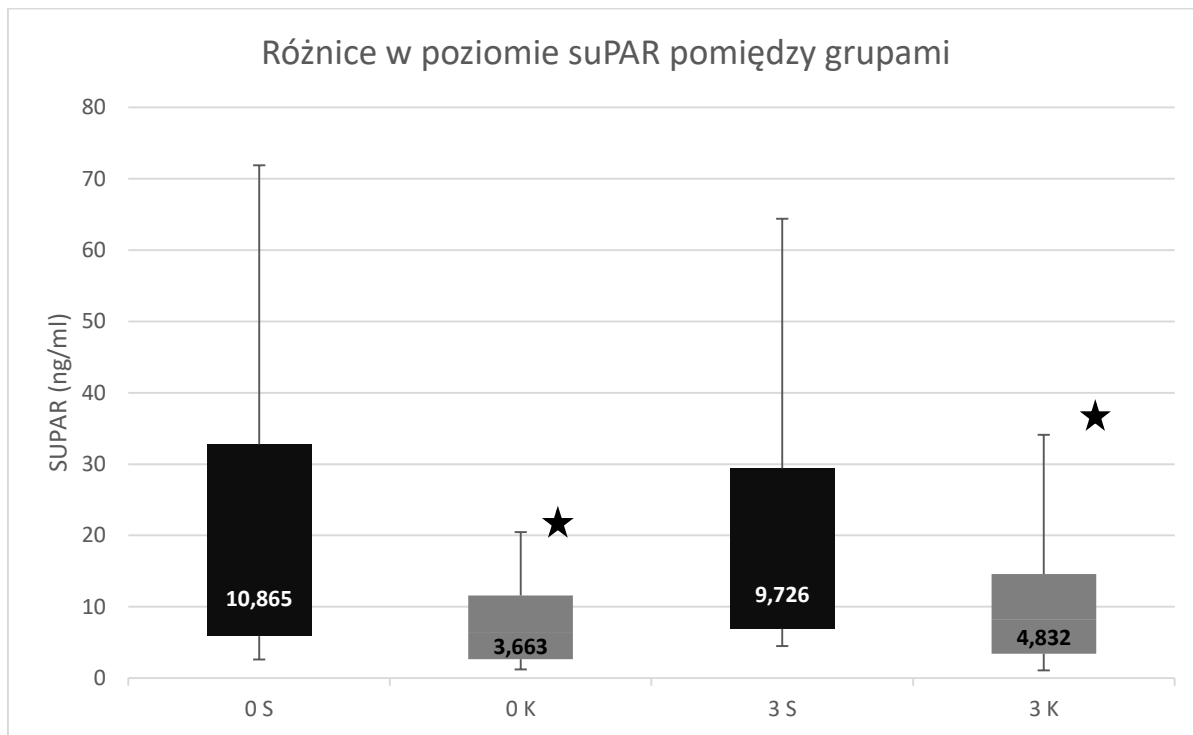
Wyjściowe stężenia suPAR w obu grupach utrzymywały się powyżej poziomu referencyjnego i były statystycznie istotnie wyższe w grupie septycznej mediana 10,86 ng/ml vs. 3,663 ng/ml, p < 0,001.

Podobną prawidłowość zaobserwowano w 3 dobie leczenia. W grupie kardiologicznej mediana wynosiła 4,832 ng/ml, co było istotnie statystycznie niższą wartością w porównaniu z grupą septyczną (9,726 ng/ml, p < 0,001). Wyniki zaprezentowano w tabeli nr 5.

<i>suPAR</i>	<i>Grupa septyczna</i>	<i>Grupa kardiologiczna (N=19)</i>	<i>P</i>
<i>Pomiar wyjściowy (0)</i>	10,865 (3,281 - 39,12; N=51)	3,663 (1,455 - 8,86)	< 0,001
<i>Pomiar dzień 3</i>	9,726 (2,454 - 34,97; N=36)	4,832 (2,325 - 19,51)	< 0,001

Tabela nr 5. Porównanie wartości suPAR pomiędzy obiema grupami. Dane przedstawiono jako mediana (min – max ; N – ilość pomiarów), p<0,05.

Za pomocą wykresu nr 1 zobrazowano różnice statystyczne pomiędzy pomiarami poziomu suPAR w obu grupach w oznaczeniu wyjściowym (0) i w trzeciej dobie.



Wykres 1. Różnice w poziomie suPAR pomiędzy grupami w pomiarze wyjściowym (0) oraz w trzecim dniu (3). S – grupa septyczna, K- grupa kardiologiczna. Gwiazdką (*) oznaczono statystycznie istotną różnicę w poziomie suPAR.

W poniższych tabelach nr 6 i nr 7 zaprezentowano wyniki pomiaru suPAR w kolejnych dniach oznaczeń. W tabeli nr 6 zestawiono wyniki pomiarów w grupie septycznej.

<i>suPAR</i>	<i>Grupa septyczna</i>
<i>Pomiar wyjściowy (0)</i>	10,865 (3,281 - 39,12; N=51)
<i>Pomiar dzień 3</i>	9,726 (2,454 - 34,97; N=36)
<i>Pomiar dzień 5</i>	11,277 (3,107 - 31,26; N=32)
<i>Pomiar dzień 7</i>	13,362

	(4,21 - 38,88; N=22)
Pomiar dzień 10	15,372
	(5,284 - 32,16; N = 21)

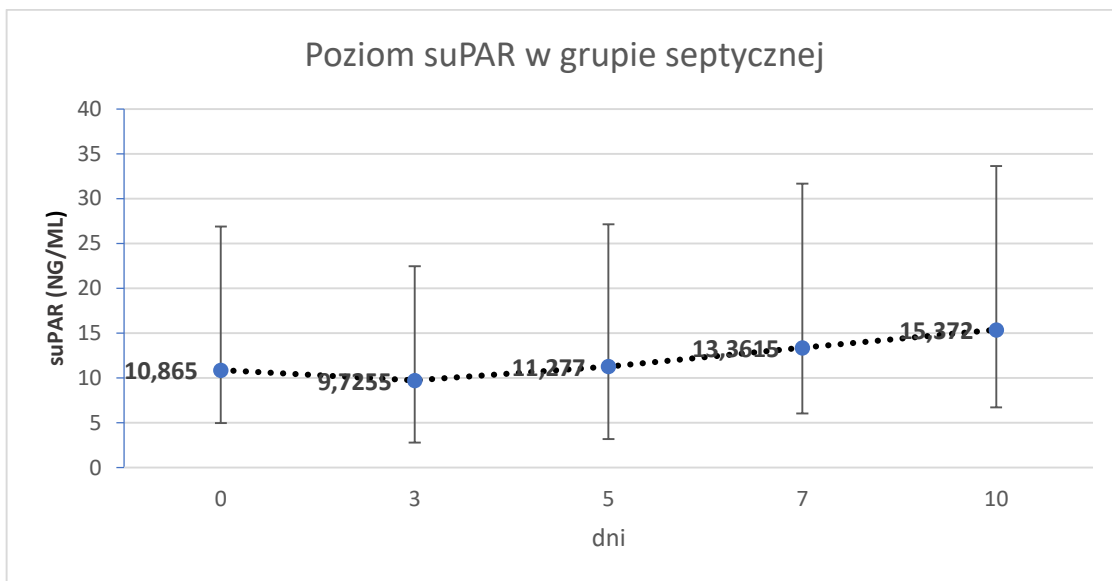
Tabela 6. Wyniki kolejnych oznaczeń suPAR (ng/ml) w grupie septycznej. Dane przedstawiono jako mediana (min – max; N – ilość pomiarów).

Tabela nr 7 prezentuje wyniki pomiarów suPAR w grupie kardiologicznej.

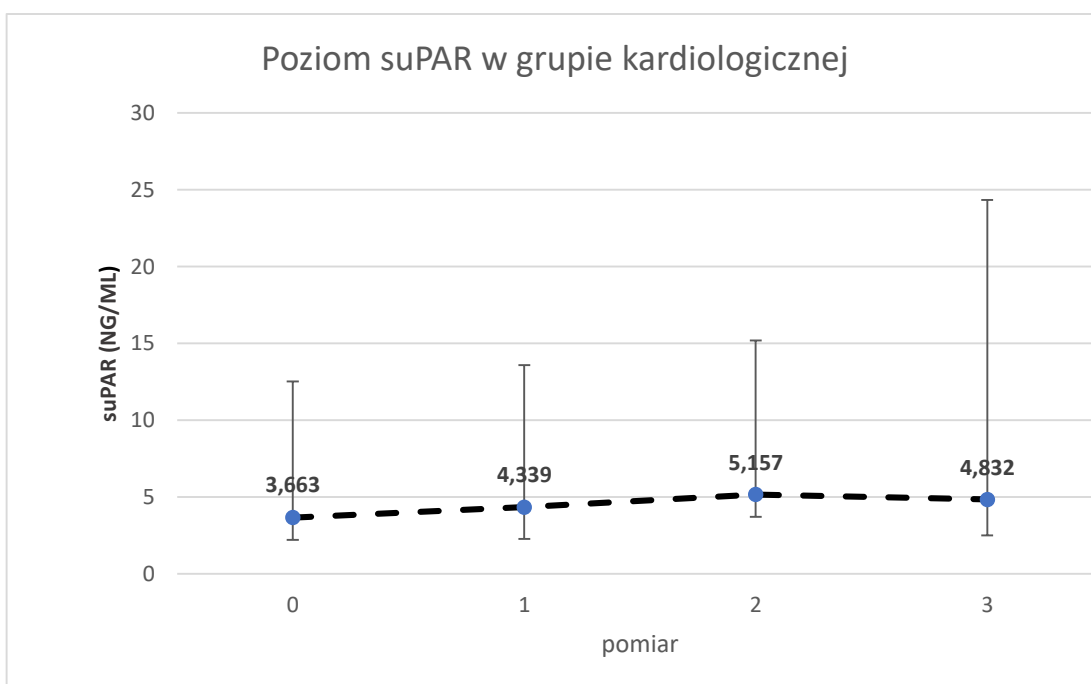
suPAR	Grupa kardiologiczna (N=19)
Pomiar wyjściowy (0)	3,663 (1,455, 8,86)
Pomiar 1	4,339 (2,079, 9,24)
Pomiar 2	5,157 (1,455, 10,03)
Pomiar 3	4,832 (2,325, 19,51)

Tabela 7. Wyniki kolejnych oznaczeń suPAR (ng/ml) w grupie kardiologicznej. Dane przedstawiono jako mediana (min – max); N – ilość pomiarów.

Poniższe wykresy obrazują poziom suPAR w obu opisywanych grupach w kolejnych pomiarach. Wykres nr 2 dotyczy grupy septycznej, a na wykresie nr 3 zawarte są wyniki pomiarów dla grupy kardiologicznej.



Wykres 2. Poziom suPAR w grupie septycznej w kolejnych oznaczeniach. Podano wartość mediany oraz zobrazowano wartość min. i max.



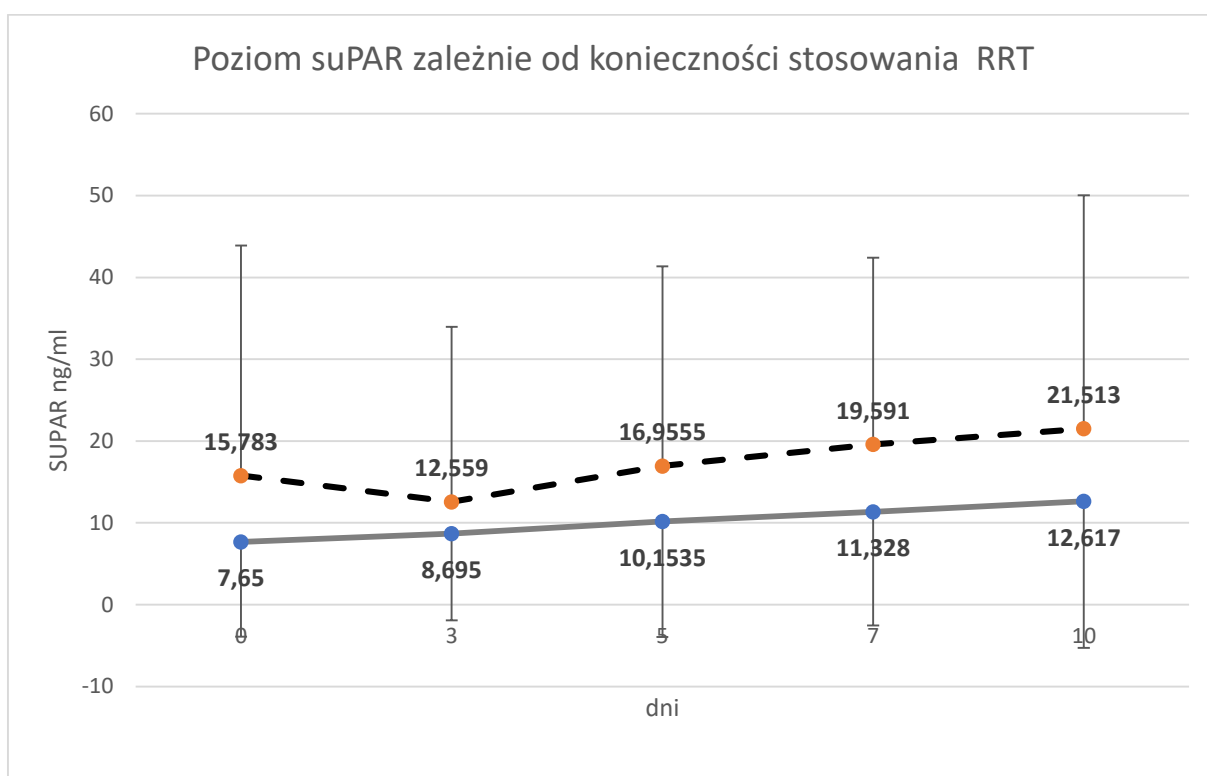
Wykres 3. Poziom suPAR w grupie kardiologicznej w kolejnych oznaczeniach. 0 – pomiar wyjściowy, 1 – 6 godz. po zakończeniu CBP, 2 – pomiar w 2. dobie po zabiegu, 3 – pomiar w 3. dobie po zabiegu.

Dodatkowo grupę septyczną podzielono na dwie podgrupy na podstawie nasilenia odpowiedzi organizmu na zakażenie. Pacjentów podzielono według kryteriów SEPSIS-3. Utworzono dwie podgrupy, podgrupa z sepsą i podgrupa ze wstrząsem septycznym. Przeprowadzono analizę poziomu suPAR w obu podgrupach. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic poziomu suPAR na żadnym etapie obserwacji. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 8.

suPAR	SEPSA	WSTRZĄS SEPTYCZNY	<i>p</i>
Pomiar wyjściowy (0)	10,226 (4,82, 18,376; N=14)	11,005 (3,281, 39,117; N=34)	0,508
Pomiar dzień 3	9,45 (3,833, 15,865; N=13)	10,001 (2,454, 34,97; N=21)	0,916
Pomiar dzień 5	10,1535 (4,762, 19,202; N= 12)	13,154 (3,107, 31,255, N=18)	0,266
Pomiar dzień 7	13,068 (4,965, 20,887; N=9)	14,45 (7,214, 38,88; N=11)	0,112
Pomiar dzień 10	13,597 (6,677, 28,533; N=8)	17,912 (8,186, 32,162; N=11)	0,109

Tabela 8. Porównanie poziomu suPAR (ng/ml) pomiędzy podgrupami grupy badanej. Dane przedstawiono w postaci mediany (min, max; N – ilość pomiarów), $p < 0,05$.

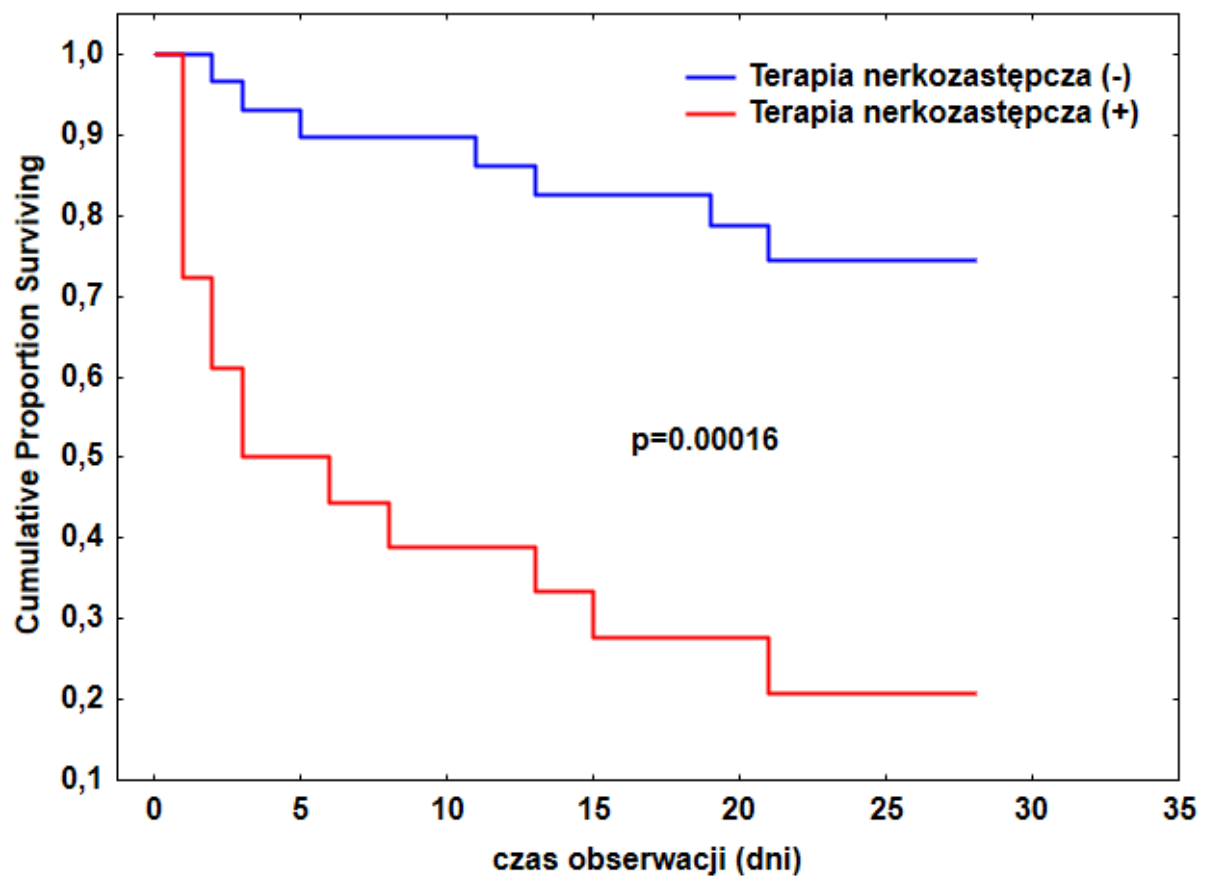
Wszystkich pacjentów grupy septycznej zakwalifikowanych do badania poddano dodatkowej analizie pod względem konieczności stosowania terapii nerkozastępczych (RRT, *renal replacement therapy*) podczas pobytu w OIT. Otrzymane wyniki wskazywały, że w subpopulacji wymagającej RRT wyjściowy poziom suPAR jest dwukrotnie wyższy i jest to różnica istotna statystycznie (15,783 vs 7,65, $p < 0,001$).



Wykres nr 4. Poziom suPAR w zależności od konieczności stosowania RRT w kolejnych dniach oznaczeń. Linia przerywana – grupa wymagająca RRT (RRT +), linia ciągła grupa niewymagająca RRT (RRT -). Podano wartość mediany oraz zobrazowano wartości min. i max.

W przeprowadzonej analizie przeżycia Kaplana - Meiera w obu podgrupach, zaobserwowano, że przeżywalność pacjentów wymagających RRT (RRT(+)) była istotnie niższa

w porównaniu do chorych niewymagających RRT (RRT(-)), ($p=0,00016$). Wyniki przedstawiono na wykresie nr.5



Wykres nr 5. Przeżywalność pacjentów grupy septycznej w zależności od konieczności stosowania terapii nerkozastępczej.

Analiza wartości poszczególnych parametrów pomiędzy podgrupą chorych, którzy przeżyli i zmarli.

	Przeżyli (N=30)	Zmarli (N=21)	P < 0,050
Dane demograficzne:			
Wiek * (lata +/- SD)	64,90 +/- 15,96	71,19 +/- 9,53	0,185
Ciężar ciała * (kg +/- SD)	78,38 +/- 17,38	73,19 +/- 12,40	0,435
Markery stanu zapalnego:			
Leukocyty (tys/ul +/-SD (min-max))	15,12 +/-7,54 (0,02-32,77)	14,12 +/- 11,62 (0,27 – 47,21)	0,453
Białko C-reaktywne (mg/dl +/- SD (min-max))	268,05 +/- 130,06 (25,40-552,33)	138,00 +/- 164,44 (6,14-498,78)	0,046
Prokalcytonina (ug/ml +/-SD (min-max))	3,66 +/- 61,79 (0,26-333,00)	10,85 +/- 252,75 (0,17-1127,50)	0,146
suPAR (ng/ml +/- SD (min-max))	9,85 +/- 7,22 (3,28-39,12)	12,76 +/-10,23 (4,88 – 35,85)	0,062
Średni suPAR (ng/ml +/- SD (min-max))	11,31 +/- 6,24 (2,95-35,28)	15,53 +/- 9,47 (4,88-35,85)	0,073
Parametry krytyczne gazometrii:			
pH (wartość +/- SD (min-max))	7,34 +/- 0,13 (6,83-7,49)	7,19 +/- 0,11 (6,98-7,37)	<0,001
Mleczany (mmol/l +/- SD (min-max))	1,75 +/- 2,14 (0,60-11,40)	10,20 +/- 7,24 (0,70-26,00)	<0,001
Markery niewydolności narządowych:			

Trombocyty (tys/ul +/- (min-max))	234,00 +/-144,75 (35,00-628,00)	124,00 +/- 152,40 (12,00-565,00)	0,017
Kreatynina (mg/dl +/-SD (min-max))	1,29 +/- 1,82 (0,53-6,91)	2,16 +/- 1,49 (0,61-6,72)	0,387
Bilirubina (mg/dl +/- SD (min-max))	0,9 +/- 1,85 (0,20-10,10)	0,95 +/-3,07 (0,30-13,40)	0,650
Wskaźniki układu krzepnięcia:			
APTT (s +/- SD (min-max))	36,89 +/- 10,02 (23,42-68,71)	62,97 +/-34,98 (30,33-	<0,001
Protrombina (s +/- SD (min-max))	83,75 +/-17,59 (28,85-101,36)	59,29 +/- 20,04 (11,21-79,59)-	<0,001
INR (wartość +/- SD (min-max))	1,22 +/- 0,50 (0,98-3,63)	1,67 +/-1,99 (1,30-10,00)	<0,001
Fibrynogen (mg/dl +/- SD (min-max))	5,32 +/-1,57 (2,38-8,08)	3,36 +/- 1,94 (0,69-6,18)	0,009

	Przeżyli (N=30)	Zmarli (N=21)	P <0,050
Pobyt w OIT (dni +/- SD (min-max))	9,50 +/-9,25 (2,00-37,00)	3,00 +/-6,95 (1,00-21,00)	0,006
Całkowity czas hospitalizacji (dni +/- SD (min-max))	48,50 +/- 32,55 (13,00-154,00)	16,00 +/- 14,39 (1,00-49,00)	<0,001
Skale punktowe:			
APACHE II (punkty +/- SD (min-max))	22,14 +/- 7,75 (9,00- 38,00)	25,00 +/- 6,78 (13,00-37,00)	0,003
SOFA 1 (punkty +/- SD (min-max))	11,00 +/- 3,92 (2,00-16,00)	14,00 +/- 3,37 (5,00-18,00)	0,009
SOFA 3 (punkty +/- SD (min-max))	8,00 +/- 3,98 (0,00-15,00)	12,00 +/- 3,40 (8,00-19,00)	0,005
SOFA 5 (punkty +/- SD (min-max))	3,50 +/- 3,05 (0,00-10,00)	13,50 +/- 4,26 (5,00-18,00)	<0,001
SOFA 7 (punkty +/- SD (min-max))	3,00 +/- 3,15 (0,00-9,00)	12,50 +/- 4,19 (5,00-18,00)	<0,001
SOFA 10 (punkty +/- SD (min-max))	3,50 +/- 2,46 (2,00-9,00)	15,00 +/- 5,29 (4,00-20,00)	0,001
Średnia SOFA (punkty +/- SD (min-max))	6,90 +/- 3,34 (2,00-16,00)	15,00 +/- 3,34 (6,00-18,00)	<0,001

Tabela nr 9a i 9b. Analiza poszczególnych parametrów pomiędzy podgrupami pacjentów, którzy przeżyli i zmarli.

Pacjentów grupy septycznej podzielono na dwie podgrupy, pacjentów, którzy przeżyli i tych, którzy zmarli w trakcie hospitalizacji. W pierwszej podgrupie znalazło się 30 pacjentów, a w drugiej 21. Pomiędzy grupami nie obserwowano różnic statystycznych w cechach demograficznych, jak wiek i ciężar ciała.

Analizując obie subpopulacje pod kątem wskaźników stanu zapalnego można zauważyć, że zarówno suPAR mierzony przy przyjęciu, jak i średnie wartości suPAR są wyższe w podgrupie pacjentów, którzy zmarli, wartości te utrzymują się na poziomie zbliżonym do istotności statystycznej, jednak ich nie przekraczają. Odwrotnej obserwacji dokonano w przypadku białka C-reaktywnego, gdzie wyższą wartość tego markera miała grupa chorych, którzy przeżyli. Nie wykazano natomiast różnic statystycznych w poziomie prokalcytoniny i liczby leukocytów. Wykazano jednak istotne różnice w poziomie mleczanów i pH. Z obserwacji wynika, że podgrupa pacjentów, którzy zmarli miała niższą wartość pH krwi i głębokie zaburzenia gospodarki kwasowo-zasadowe, a także zdecydowanie bardziej rozwinięty metabolizm beztlenowy glukozy i znacznie zwiększoną produkcję kwasu mlekowego, wyniki odpowiedni dla mleczanów 10,20mmol/l vs 1,75mmol/l, $p < 0,001$ oraz pH 7,19 vs 7,34, $p < 0,001$.

Ocena markerów uszkodzenia narządowego, będących elementami skal prognostycznych wykazała jedynie statystycznie istotną różnicę w poziomie płytek krwi na niekorzyść podgrupy pacjentów zmarłych (124,00tys/ul vs 234,00tys/ul, $p 0,017$). Pozostałe wskaźniki, zarówno enzymy wątrobowe, jak i metabolity azotowe usuwane przez nerki, nie wykazały istotnych różnic. Jednak analizując bezpośrednio same skale rokownicze, zarówno w skali APACHE II jak i w kolejnych pomiarach skali SOFA, subpopulacja pacjentów, którzy zmarli osiągała większą ilość punktów i była to różnica istotna statystycznie.

Analiza układu krzepnięcia wykazała, że istotnie statystycznie wydłużone są czasy krzepnięcia w podgrupie pacjentów zmarłych oraz prezentują oni statystycznie niższą wartość fibrynogenu. Nie obserwowano natomiast różnic w poziomie d-dimerów pomiędzy grupami.

5.4 Biomarkery stanu zapalnego

Grupę septyczną i kardiologiczną analizowano w aspekcie wartości klasycznych parametrów zakażenia oraz oznaczeń poziomu mleczanu, jako wskaźnika zaburzeń perfuzji tkankowej. Analizie poddano wyniki uzyskane w pierwszym pomiarze (pomiar wyjściowy)

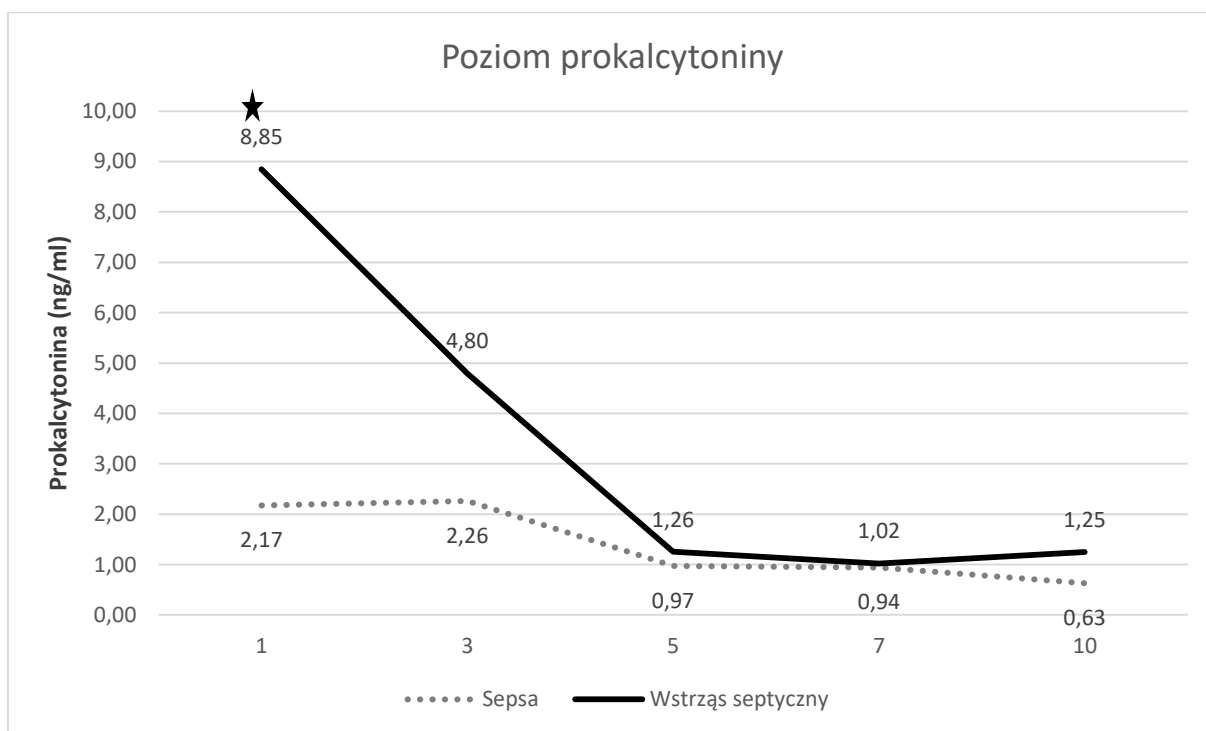
i trzeciej dobie pobytu w oddziale. Oznaczano wartość leukocytozy (WBC), białka C-reaktywnego (CRP) oraz prokalcytoniny (PCT). Istotne statystycznie różnice obserwowano pomiędzy grupami jedynie w przypadku pomiaru poziomu prokalcytoniny. Dla grupy septycznej mediana wynosiła w pierwszym pomiarze 6,75 ng/ml, natomiast w trzecim 3,03 ng/ml. W grupie kardiologicznej stężenia PCT wynosiły odpowiednio 0,1 ng/ml w pierwszym oznaczeniu i 1,16 ng/ml w trzeciej dobie. Pozostałe pomiary wskaźników zapalnych nie wykazywały istotnych różnic statystycznych. Wyniki zaprezentowano w poniższej tabeli nr 10.

<i>Parametr</i>	<i>Grupa septyczna</i>	<i>Grupa kardiologiczna</i>	<i>p</i>
<i>Mleczany 0 (mmol/l)</i>	2,3 (0,6-26; N=49)	1,5 (0,92-25; N=19)	0,063
<i>Mleczany 3 (mmol/l)</i>	1,8 (0,7-19; N=37)	1,4 (1-13,9; N=14)	0,253
<i>WBC 0 (x10³ /μl)</i>	14,79 (0,02-47,21; N=53)	14,855 (10,58-27,01; N=20)	0,511
<i>WBC 3 (x10³ /μl)</i>	13,31 (0,06-45,71; N=39)	14,055 (8,35-2563; N=20)	0,403
<i>CRP 0 (mg/dl)</i>	178,54 (6,14-552,33; N=48)	---	---
<i>CRP 3 (mg/dl)</i>	165,26 (45,15-628,44; N=35)	149,11 (118,57-164,04; N=3)	0,720
<i>PCT 0 (ng/ml)</i>	6,575 (0,17-1127,5; N=52)	0,1 (0,06-1,47; N=12)	0,000
<i>PCT 3 (ng/ml)</i>	3,03 (0,25-244,260; N=39)	1,16 (0,22-12,02; N=11)	0,013

Tabela nr 10. Wartości parametrów stanu zapalnego oraz poziomu mleczanu dla grupy septycznej i kardiologicznej. WBC -poziom leukocytów, CRP – białko C-reaktywne, PCT – prokalcytonina. Dane przedstawiono w postaci mediany (min – max; N – ilość pomiarów), p<0,05.

Poziom prokalcytoniny w podgrupach sepsa i wstrząs septyczny.

Przy podziale grupy septycznej na podgrupy z sepsą i wstrząsem septycznym stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenia PCT w pierwszym pomiarze wykonanym przy przyjęciu do OIT w subpopulacji wstrząsu septycznego. Podgrupa ta charakteryzowała się wyższą wartością tego wskaźnika. Mediana wynosiła 8,85 ng/ml, a dla podgrupy sepsa 2,17 ng/ml przy $p < 0,001$. W kolejnych dobach obserwacji różnice pomiędzy podgrupami zmniejszały się i nie wykazywały istotności statystycznej. Na poniższym wykresie zobrazowano trend wartości prokalcytoniny pomiędzy obiema podgrupami grupy badanej w kolejnych dniach oznaczeń.

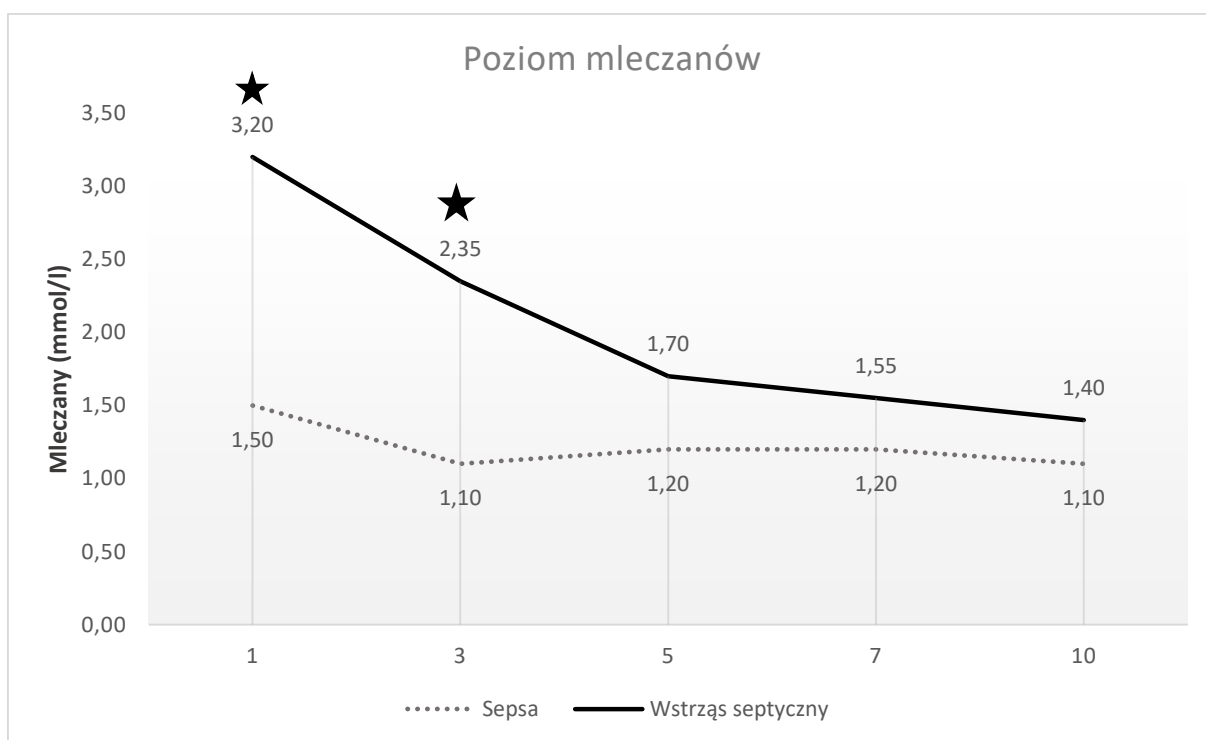


Wykres nr 6. Poziom prokalcytoniny (ng/ml) pomiędzy podgrupą sepsa i wstrząs septyczny w kolejnych dniach oznaczeń. Dane przedstawiono za pomocą mediany. * istotność statystyczna pomiaru.

Poziom mleczanów w podgrupie sepsa i wstrząs septyczny.

Uzyskane dane analizowano w 1, 3, 5, 7 i 10 dobie pobytu na oddziale intensywnej terapii. Istotne statystycznie różnice między podgrupami obserwowano na początku leczenia w dobie 0 oraz 3. Mediana wartości mleczanu wynosiła odpowiednio 3,3mmol/l dla populacji ze wstrząsem septycznym i 1,5mmol/l oraz dla pacjentów z sepsą. W trzeciej dobie mediana mleczanu pacjentów ze wstrząsem septycznym wynosiła 2,35mmol/l, a w podgrupie z sepsą 1,10mmol/l ($p < 0,002$ i $p < 0,002$).

Poniżej na wykresie nr 7 przedstawiono trend poziomu mleczanów w analizowanych podgrupach w kolejnych oznaczeniach.



Wykres nr 7. Poziom mleczanów (mmol/l) pomiędzy podgrupą sepsa i wstrząs septyczny w kolejnych dniach oznaczeń. Dane przedstawiono za pomocą mediany. * - istotność statystyczna pomiaru.

5.5 Korelacje

W celu oceny związków pomiędzy cechami poszczególnych grup oraz wartością suPAR wykorzystano wskaźnik korelacji Spearmana. Stosowano standardowe określenia dotyczące rodzaju i siły korelacji. Za wartość istotną statystycznie przyjęto $p < 0,05$.

Nie obserwowano istotnych statystycznie korelacji pomiędzy wartością suPAR oraz wiekiem chorych. Obserwacja ta dotyczyła obu grup.

Również, nie występowała istotna korelacja pomiędzy skalą APACHE oraz suPAR w obu grupach. Wartość skali SOFA w pierwszej dobie, w grupie badanej, nie korelowała istotnie statystycznie ze wskaźnikiem suPAR.

Obie grupy badano pod kątem zależności pomiędzy wartością suPAR, a klasycznymi markerami stanu zapalnego oraz mleczanami.

Leukocytoza

Poziom leukocytozy u chorych grupy septycznej i kardiologicznej pozostawał bez związku istotnego statystycznie z poziomem rozpuszczalnego suPAR.

Wynik istotny statystycznie obserwowano jedynie w siódmym dniu pobytu dla grupy septycznej, $R = 0,48$ i $p = 0,025$. Podobnie istotny statystycznie wynik uzyskano w grupie kardiologicznej w trzecim dniu pobytu w oddziale intensywnej terapii, $R = 0,4$ i $p = 0,029$. Pozostałe pomiary nie wykazywały poziomu istotności statystycznej.

Białko C-reaktywne

Nie obserwowano istotnych statystycznie korelacji suPAR i CRP zarówno w grupie septycznej, jak i kardiologicznej na żadnym etapie obserwacji.

Prokalcytonina

W grupie septycznej stwierdzono słabą korelację pomiędzy wartością PCT i suPAR w pierwszej dobie pobytu na $R = 0,49$ $p = 0,032$. Pacjenci tej grupy, również prezentowali umiarkowaną korelację obu wskaźników w dziesiątej dobie leczenia. $R = 0,49$, $p = 0,032$ Pomiary

prokalcytoniny przeprowadzone w pozostałych dniach obserwacji nie wykazywały korelacji, która była istotna statystycznie.

Mleczany

Nie wykazano związku między poziomem mleczanów w grupie septycznej, a suPAR na żadnym etapie obserwacji. Jedynie umiarkowaną korelację obserwowano w grupie kardiologicznej w trzeciej dobie pobytu w OIT ($R=0,49$, $p=0,029$).

W tabeli nr 11 przedstawiono jedynie istotne statystycznie wartości korelacji pomiędzy suPAR, a badanymi markerami zakażenia oraz mleczanami. Pozostałe wyniki zostały pominięte.

	<i>Zmienne</i>	<i>R</i>	<i>P</i>
<i>Grupa septyczna</i>	suPAR 7 i WBC 7	0,48	0,025
	suPAR 0 i PCT 0	0,31	0,029
	suPAR 10 i PCT 10	0,49	0,032
<i>Grupa kardiologiczna</i>	suPAR 3 i WBC 3	0,49	0,029
	suPAR 3 i Mleczany 3	0,49	0,029

Tabela nr 11. Istotne statystycznie korelacje pomiędzy suPAR, a analizowanymi markerami infekcji i mleczanami w grupie septycznej i kardiologicznej. R – współczynnik korelacji Spearmana, $p<0,05$.

Ocena korelacji suPAR z analizowanymi markerami stanu zapalnego i mleczanów w podgrupie z rozpoznaną sepsą i wstrząsem septycznym.

W obu subpopulacjach grupy septycznej analizowano korelacje poziomu suPAR oraz markerów stanu zapalnego i mleczanów. Istotne statystycznie korelacje suPAR stwierdzono jedynie w powiązaniu ze stężeniem prokalcytoniny.

W podgrupie z sepsą dość silna korelacja występowała w siódmym i dziesiątym dniu leczenia, odpowiednio $R = 0,76$ i $p = 0,028$ oraz $R = 0,78$ i $p = 0,036$. W podgrupie ze wstrząsem septycznym jedynie słaba korelacja była obserwowana w pierwszej dobie leczenia, $R = 0,35$ i $p = 0,046$. Wyniki korelacji przedstawiono w tabeli nr 12.

PODGRUPA	ZMIENNE	R	P
SEPSA	suPAR 0 i PCT 0	0,01	0,994
	suPAR 3 i PCT 3	0,30	0,325
	suPAR 5 i PCT 5	0,28	0,378
	suPAR 7 i PCT 7	0,76	0,028
	suPAR 10 i PCT 10	0,78	0,036
WSTRZAŚ SEPTYCZNY	suPAR 0 i PCT 0	0,35	0,046
	suPAR 3 i PCT 3	0,25	0,281
	suPAR 5 i PCT 5	0,30	0,223
	suPAR 7 i PCT 7	0,10	0,769

suPAR 10 i PCT 10	-0,01	0,987
-------------------	-------	-------

Tabela 12. Korelacja pomiędzy wartościami prokalcytoniny i suPAR w podgrupach ze stwierdzoną sepsą i wstrząsem septycznym. R – współczynnik korelacji Spearmanna, $p < 0,05$.

Analiza prognozy przeżycia w ocenie skal rokowniczych

Analizie poddano przeżycie 10 dniowe. Nie obserwowano korelacji istotnej statystycznie pomiędzy stężeniami suPAR i skalami APACHE oraz skalą SOFA na żadnym etapie obserwacji.

Analiza przeżycia 28 dniowego wykazała dość silną, istotną statystycznie, korelację pomiędzy wartościami skali SOFA w piątej i siódmej dobie obserwacji, a wartością suPAR u pacjentów, którzy zmarli. Wyniki przedstawiono w tabeli nr 13.

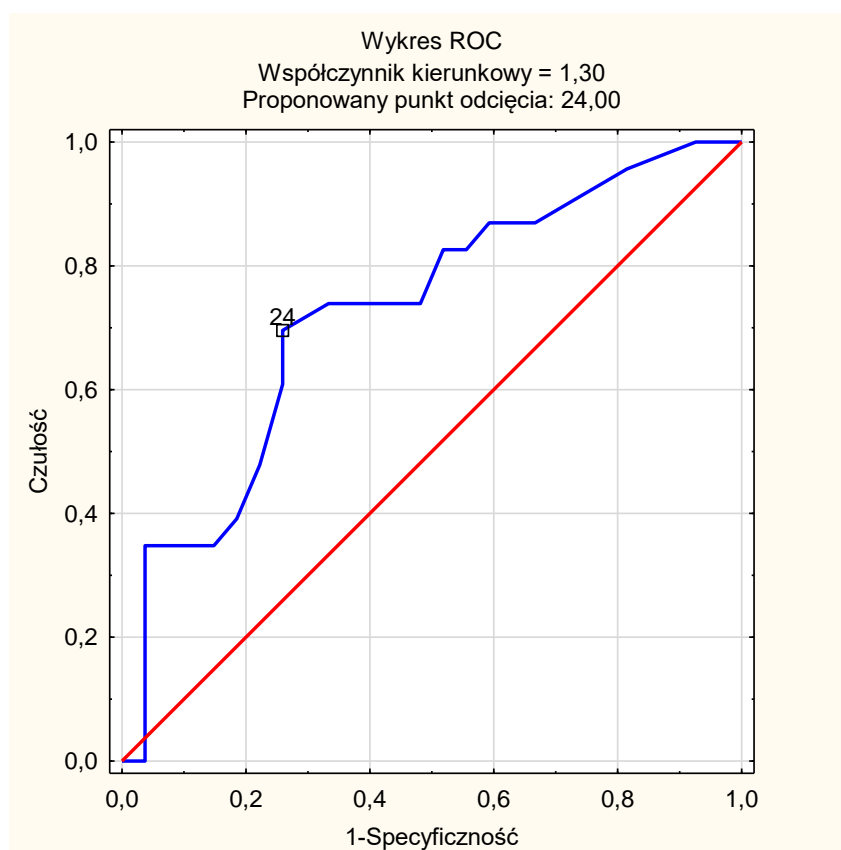
	ZMIENNE	R	P
PRZEŻYLI	APACHE II i suPAR 0	0,10	0,607
	SOFA 1 i suPAR 0	0,02	0,914
	SOFA 5 i suPAR 5	0,00	0,997
	SOFA 7 i suPAR 7	-0,42	0,203
ZMARLI	APACHE II & suPAR 0	0,30	0,192
	SOFA 1 i suPAR 0	0,19	0,405
	SOFA 5 i suPAR 5	0,79	0,007
	SOFA 7 i suPAR 7	0,86	0,014

Tabela 13. Przeżycie 28-dniowe w grupie septycznej. Korelacje pomiędzy suPAR, a skalami rokowniczymi. R – współczynnik korelacji Spearmanna, $p < 0,05$.

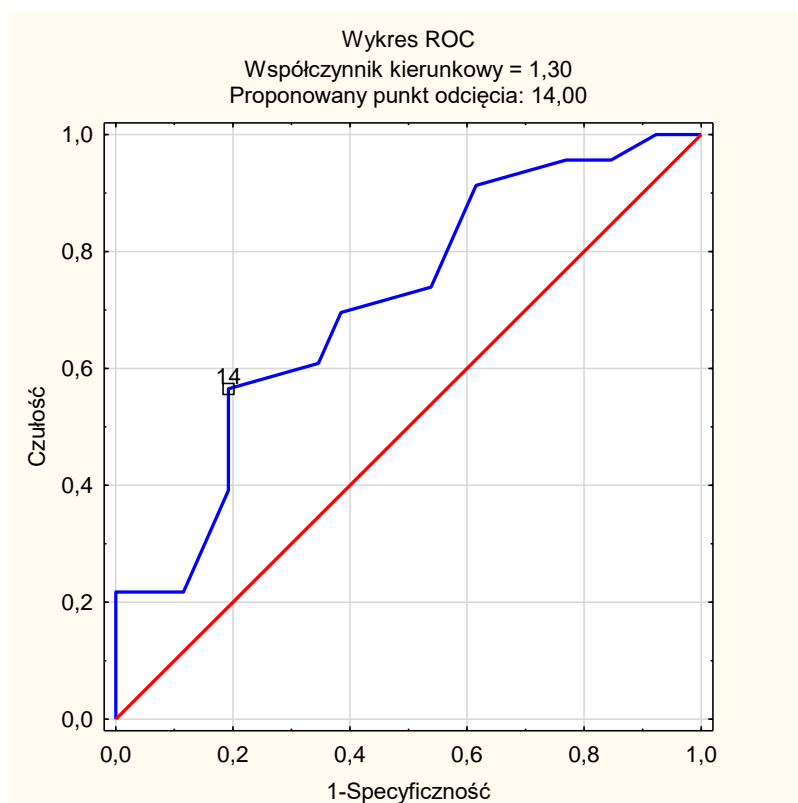
5.6 Wartość prognostyczna

W grupie septycznej, przeprowadzono analizę wartości predykcyjnej markerów sepsy, mleczanów oraz wartości suPAR dla śmiertelności 28-dniowej. Dodatkowo poddano ocenie wartość predykcyjną skal rokowniczych APACHE II oraz SOFA. Obserwacje przedstawiono za pomocą krzywych ROC oraz tabel. Spośród markerów stanu zapalnego wyniki istotne statystycznie uzyskano jedynie dla suPAR i poziomu mleczanów. Pozostałe markery nie dawały wyników, które wykazywały istotność statystyczną. W przypadku skal rokowniczych zarówno skala APACHE II, jak i skala SOFA wykazywały wartość prognostyczną istotną statystycznie.

Pole pod krzywą ROC dla skali APACHE II wynosiło 0,725 (CI 0,582-0,867, $p=0,002$). Proponowany próg odcięcia wynosił 24 punkty. Dla skali SOFA ocenianej w 1 dobie AUC ROC wynosiło 0,707 (CI 0,562-0,853, $p=0,0051$), a próg odcięcia wyliczono na 14 punkty. Wśród skal rokowniczych to skala APACHE II, z nieznacznie większym polem pod krzywą ROC, wydaje się być przypuszczalnie lepszym wskaźnikiem śmiertelności 28-dniowej. Jednak różnice pomiędzy obiema skalami są niewielkie. Na poniższych wykresach przedstawiono krzywą ROC dla wyżej wymienionych skal rokowniczych.



Wykres nr 8. Krzywa ROC dla wartości prognostycznej skali APACHE II (pkt).

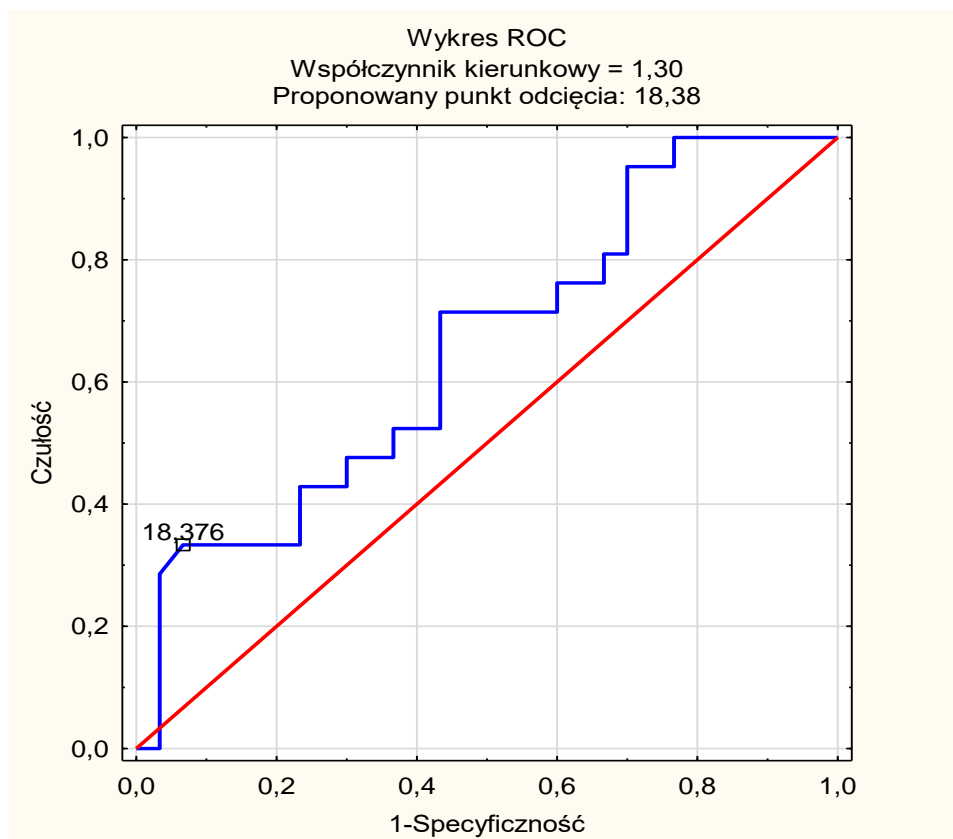


Wykres 9. Krzywa ROC dla wartości prognostycznej skali SOFA ocenianej w 1 dobie (pkt).

W ocenie suPAR punkt odcięcia uzyskano na poziomie 18,38 ng/ml, a pole pod krzywą ROC wynosiło 0,655. Wynik ten był istotny statystycznie, $p=0,046$, co przedstawiono w poniższej tabeli nr 14 oraz na wykresie 10.

suPAR			
AUC	AUC dolny 95%	AUC górny 95%	p
0,655	0,503	0,807	0,046

Tabela 14. Wartość pola pod krzywą ROC oraz istotność statystyczna dla zmiennej suPAR. AUC – pole pod krzywą, $p<0,05$.

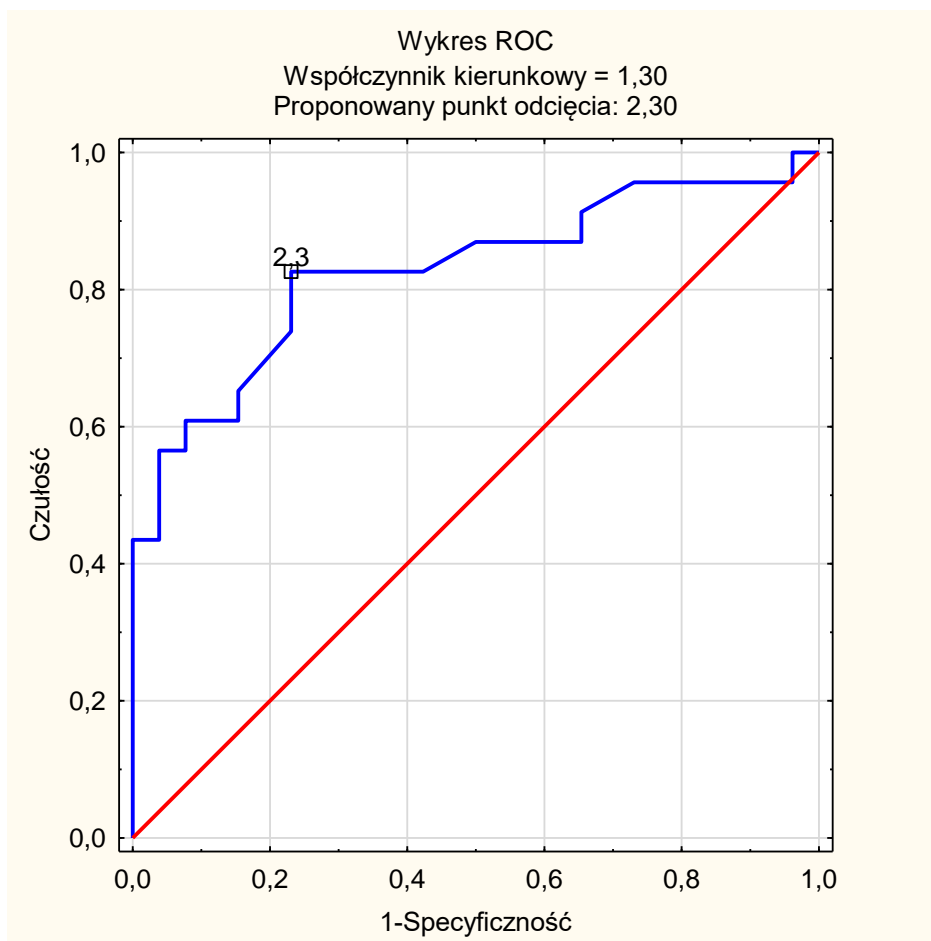


Wykres nr 10. Krzywa ROC dla zmiennej suPAR (ng/ml).

W ocenie wartości predykcyjnej poziomu mleczanu, punkt odcięcia uzyskano przy wartości 2,3 mmol/l, a pole pod krzywą ROC wynosiło 0,828. Wynik ten był istotny statystycznie ($p < 0,05$). Obserwowane wartości przedstawiono w tabeli nr 15 i na wykresie nr 11.

Poziom mleczanów			
AUC	AUC dolny 95%	AUC górny 95%	p
0,828	0,706	0,949	0,0000

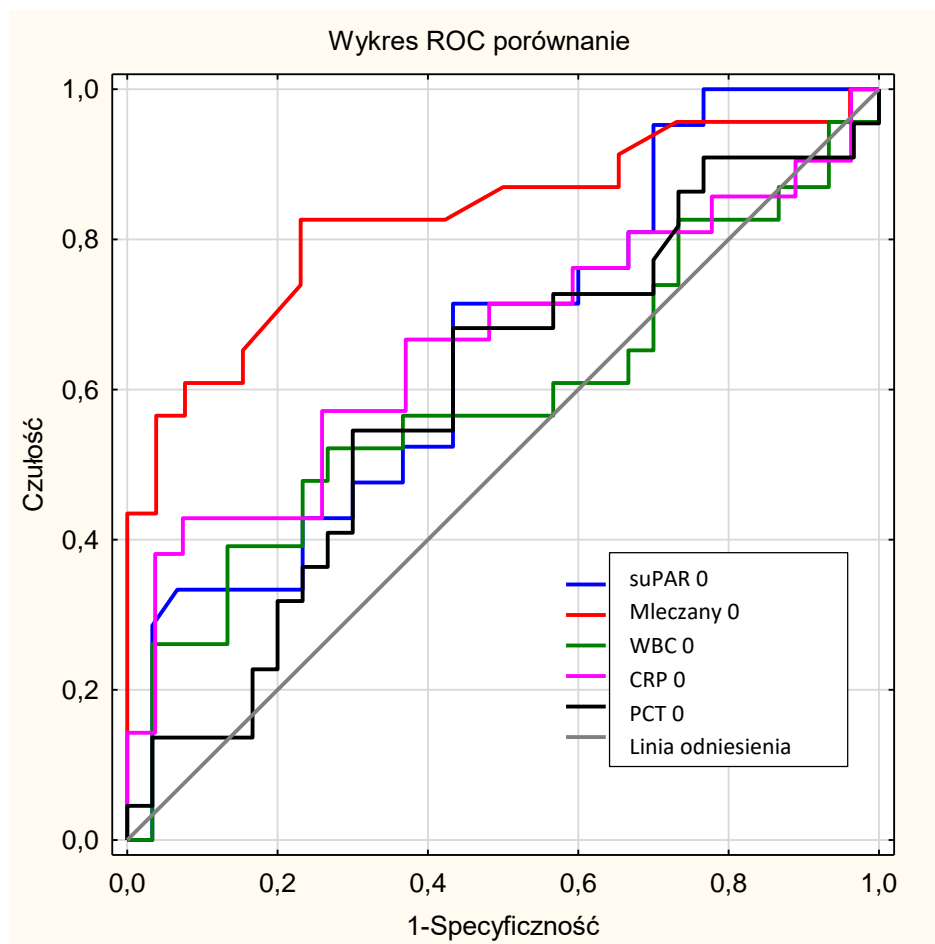
Tabela nr 15. Wartość pola pod krzywą ROC oraz istotność statystyczna dla zmiennej poziom mleczanów. AUC – pole pod krzywą, $p < 0,05$.



Wykres nr 11. Krzywa ROC dla zmiennej poziom mleczanów (mmol/l).

Najwyższą wartość pola pod krzywą ROC, w ocenie wszystkich analizowanych wskaźników uzyskano dla stężenia mleczanu. Wskazuje to na jego najlepszą wartość w 28-dniowej prognozie przeżycia badanej grupy pacjentów.

Analizowane wskaźniki stanu zapalnego zestawiono razem i przedstawiono w formie krzywej ROC na wykresie poniżej.



Wykres 12. Krzywa ROC dla klasycznych parametrów stanu zapalnego, poziomu mleczanów i suPAR dla śmiertelności 28-dniowej. WBC – poziom leukocytów, CRP – białko C-reaktywne, PCT – prokalcytonia.

6. OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przeprowadzone badanie miało na celu ocenę wartości diagnostycznej i prognostycznej rozpuszczalnego receptora aktywatora plazminogenu w porównaniu z klasycznymi markerami stanu zapalnego, skal rokowniczych oraz poziomu mleczanów. Wskaźniki te porównywano pomiędzy grupą pacjentów leczonych w OIT z powodu sepsy i wstrząsu septycznego oraz populacją pacjentów przyjętych do oddziału intensywnej terapii po zabiegu kardiochirurgicznym.

6.1 Skala APACHE II

Skale prognostyczne oraz oceniające funkcje narządów, stanowią użyteczne narzędzia pozwalające określić stopień nasilenia choroby i oszacować ryzyko zgonu pacjenta. W prezentowanym badaniu wykorzystano szeroko rozpowszechnioną skalę APACHE II, określającą ryzyko zgonu chorego podczas pobytu w oddziale intensywnej terapii [19, 20, 74]. Skala APACHE II nadaje się zarówno do oceny chorych przyjętych z powodu sepsy i wstrząsu septycznego, jak i chorych przyjętych z innych przyczyn. W związku z powyższym skala tak była odpowiednim narzędziem do oceny obu populacji, badanej i kontrolnej. Jednak skala APACHE II ma również swoje ograniczenia. Sytuacja ta dotyczy szczególnie młodych chorych z rozpoznaną sepsą, którzy nie cierpią z powodu chorób przewlekłych. Wyniki uzyskane w tej grupie mogą być stosunkowo niskie w porównaniu ze zwiększonym ryzykiem zgonu. Powoduje to, że ujemna wartość predykcyjna zgonu nie jest już tak dokładna, a narzędzie używane w intensywnej terapii nie jest już tak idealne [75, 76]. W związku z powyższym proponowane są rozwiązania, w których łączy się zarówno skalę APACHE II wraz z poziomem markerów infekcji, m.in. z suPAR [76, 77].

W naszym badaniu porównano punktację skali APACHE II pomiędzy grupą badaną i kontrolną uzyskaną w pierwszej dobie pobytu. Uzyskane wyniki wykazywały istotne statystycznie różnice pomiędzy grupami. Populacja badana miała wyższy poziom w punktacji skali APACHE II (23 punkty) w porównaniu z grupą pacjentów przyjętych po zabiegu kardiochirurgicznym (9 punktów). Koch w badaniu dotyczącym poziomu suPAR nie wykazał istotnych statystycznie różnic w skali APACHE II pomiędzy populacją z sepsą, a populacją bez rozpoznanej sepsy [78]. W przypadku badania Subervioli, już taka istotność statystyczna jest obserwowana. Jednak w tym projekcie populacja chorych została podzielona według kryterium przeżycia szpitalnego. Istotnie wyższy poziom skali APACHE II uzyskiwali chorzy, u których dochodziło do zgonu w trakcie pobytu w szpitalu [79]. Praca z 2016 roku prowadzona przez Liu na populacji 137 Chińczyków z rozpoznaną sepsą wykazały różnice statystyczne w punktacji APACHE II. Spomiędzy populacji chorych z sepsą, ciężką sepsą i wstrząsem septycznym najwyższe wyniki uzyskano w populacji chorych ze wstrząsem septycznym. Grupa ta wykazywała również najwyższą śmiertelność [80]. Dodatkowo badacze wykazali, że największą wartość predykcyjną niepomyślnego rokowania co do przeżycia uzyskano oceniając pole pod krzywą ROC dla skali APACHE II wraz z poziomem suPAR. Jednak ich obserwacje nie są spójne z dotychczas uzyskanymi wynikami. Duże badanie kohortowe prowadzone na populacji greckiej

i szwedzkiej również poruszało temat wartości predykcyjnej obu tych wskaźników [75]. Giamarellos-Bourboulis jednak nie analizował obu tych elementów jednocześnie, a traktował każdy z tych parametrów osobno. Mogło to powodować rozbieżności w uzyskanych przez obu badaczy wynikach. W badaniu prowadzonym w naszym ośrodku, także ocenialiśmy wartość prognostyczną skali APACHE II i osobno poziomu suPAR. W obu przypadkach uzyskane wyniki są zdecydowanie wyższe w porównaniu do obserwacji dokonanych przez wyżej wymienione zespoły badawcze. Przyczyną tego stanu może być jednak inny podział populacji badanej. Nasi chorzy w grupie badanej w większości prezentowali objawy wstrząsu septycznego (66,04%). Wpływa to na ich ocenę w skali APACHE II, jak również poziom suPAR. Wnioski płynące z tych badań, wskazują na konieczność wsparcia skali APACHE II dodatkowym markerem, w tym przypadku poziomem rozpuszczalnego urokinazowego receptora dla aktywatora plazminogenu, w celu uzyskania lepszego narzędzia do oceny chorych w stanach krytycznych. Z drugiej strony należy pamiętać, że wyżej wymienione badania powstały na założeniach jeszcze sprzed ogłoszenia najnowszych wytycznych dotyczących rozpoznania sepsy i wstrząsu septycznego [17]. W związku z tym wydaje się być zasadną ponowna ocena chorych już według dokumentu SEPSIS – 3.

W naszym badaniu ocenialiśmy również występowanie zależności pomiędzy skalą APACHE II, a pomiarem poziomu suPAR w punkcie początkowym. Chorych uczestniczących w badaniu podzielono na dwie podgrupy pod względem przeżycia 28-dniowego. W przypadku chorych którzy przeżyli korelacja tych wskaźników była nikła, a w grupie, która zmarła była słaba. W obu grupach wyniki nie były istotne statystycznie. Natomiast do innych wniosków doszli badacze z Akwizgranu. Zaobserwowali oni, że istnieje przeciętna korelacja pomiędzy poziomem suPAR, a wartością skali APACHE II. Uzyskany przez nich wynik był istotny statystycznie. Co świadczy o tym, że poziom suPAR jest ściśle związany z nasileniem choroby u pacjentów w stanie krytycznym [78]. Różnica dokonanych przez nas obserwacjach może wynikać z liczebności populacji poddanej badaniu oraz zmian w definicji i rozpoznaniu sepsy.

6.2 Skala SOFA

Kolejnym elementem prowadzonego badania była ocena chorych wg. skali SOFA. Skale prognostyczne są ważnym elementem oceny stanu chorego, ale również odpowiedniego skierowania zasobów oddziałów intensywnej terapii na pacjentów w stanie krytycznym. [81,

82]. Dotychczasowe badania wskazują, że uszkodzenia narządowe oceniane m.in. za pomocą skali SOFA, wiążą się ze zwiększonym ryzykiem zgonu w pacjentów w stanach krytycznych [83]. W naszym badaniu opieraliśmy się na nowym konsensusie dotyczącym rozpoznawania sepsy, w którym skala SOFA funkcjonuje pod nazwą SEPSIS ORGAN FAILURE ASSESSMENT, czyli ocena niewydolności narządowej w przebiegu sepsy [17].

O ile użycie tej skali w grupie badanej jest konieczne, o tyle wykorzystanie jej w grupie kontrolnej w świetle nowych badań stanowi pewne nadużycie. W związku z tym rozbiliśmy skalę SOFA na składowe oceniające wydolność poszczególnych narządów. Ocena wydolności poszczególnych narządów również ma swoje implikacje w ostatecznym wyniku leczenia [84]. Nie porównywaliśmy wyników procentowych wynikających z przeliczeń skali, a jedynie wartości liczbowe poszczególnych elementów. Wyniki porównano w dwóch punktach badania. Pierwszym był moment 0, w przypadku grupy badanej moment przyjęcia do OIT, przed rozpoczęciem leczenia, a w przypadku grupy kardiologicznej moment przed zabiegiem kardiochirurgicznym. Kolejnym punktem, w którym porównywano obie grupy była trzecia doba leczenia w OIT. Parametrami, które porównywano była kreatynina, bilirubina, wskaźnik oksygenacji (PaO_2/FiO_2), średnie ciśnienie tętnicze (MAP) oraz poziom płytek krwi.

Istotną różnicę statystyczną pomiędzy obiema populacjami obserwowano w przypadku poziomu kreatyniny w punkcie 0. Grupa badana wykazywała wyższy poziom tego wskaźnika. Może to świadczyć o ostrym uszkodzeniu nerek (AKI) u chorych z sepsą i wstrząsem septycznym [85]. Podobnych obserwacji dokonał zespół z Tampere w Finlandii. Badanie było prowadzone na populacji chorych z rozpoznaną infekcją i dodatnim posiewem mikrobiologicznym. Populacja została podzielona na dwie grupy. Wskaźnikiem decydującym o przynależności do grupy była wartość suPAR, którą ustalono na poziomie 11ng/ml. Zaobserwowano, że pacjenci zakwalifikowani do grupy z wysokim suPAR, a więc >11ng/ml, wykazują również wyższy poziom kreatyniny, a różnica pomiędzy grupą z niskim rozpuszczalnym uPAR jest istotna statystycznie [86]. Badanie to jednak nie określiło trendu zmiany poziomu kreatyniny w trakcie leczenia, koncentruje się jedynie na wartości maksymalnej. W naszym badaniu pomiar poziomu kreatyniny oceniany w trzeciej dobie leczenia w grupie badanej nie odbiegał statystycznie od grupy kontrolnej. Punkt odcięcia w dla poziomu suPAR był również wyższy i wynosił 18,38 ng/ml. O ile poziom urokinazowego rozpuszczalnego receptora dla aktywatora plazminogenu może wynikać z populacji zakwalifikowanej do badania, o tyle poprawa parametrów nerkowych wynika w dużej mierze ze skuteczności prowadzonej terapii. Należy jednak pamiętać, że sam

poziom kreatyniny nie świadczy o funkcji nerki i konieczne jest poszerzenie diagnostyki w celu oceny wydolności tego narządu [87].

Badanie przeprowadzone przez zespół Wittenhagena z Danii klasyfikuje niewydolność nerek w przebiegu infekcji jako jeden z czynników zwiększonej śmiertelności u chorych z bakterią wywołaną przez *Streptococcus pneumoniae*. Badacze nie odnoszą się jednak do wartości metabolitów nerkowych (kreatyniny) lub konieczności stosowania technik nerkozastępczych [88]. Obserwacja ta jest spójna z dotychczasowymi obserwacjami dotyczącymi niewydolności poszczególnych narządów jako czynnika zwiększającego ryzyko zgonu [84].

We wspomnianym wcześniej badaniu przeprowadzonym przez Suberviola populacja chorych została podzielona na dwie podgrupy, tych chorych którzy przeżyli leczenie szpitalne oraz chorych, którzy zmarli. Badacze oceniali wartość poziomu kreatyniny w pierwszych 24 godzinach od rozpoczęcia leczenia w oddziale intensywnej terapii. Nie wykazali oni różnic statystycznych pomiędzy tymi populacjami. Dodatkowo oceniano konieczność prowadzenia technik nerkozastępczych. W tym aspekcie większa liczba pacjentów, których nie przeżyli wymagała stosowania technik pozaustrojowych, a uzyskany wynik był statystycznie istotny ($p < 0,02$) [79]. W badaniu przeprowadzonym przez K. Donadello oceniano korelację poziomu osoczowej kreatyniny oraz poziom suPAR u 258 chorych leczonych w oddziale intensywnej terapii. Wykazano przeciętną korelację pomiędzy poziomem suPAR, a poziomem kreatyniny. W związku z tym wykazano związek kreatyniny jako wskaźnika niewydolności narządowej z poziomem suPAR [89]. Do trochę rozbieżnych wniosków doszedł Koch. W przeprowadzonym badaniu oceniał również występowanie związku pomiędzy poziomem suPAR, a poziomem kreatyniny. W przypadku pacjentów z rozpoznaną sepsą korelacja parametrów była jednak słaba ($r = 0,273$, $p < 0,01$). To grupa nieseptyczna prezentowała przeciętny poziom korelacji poziomu kreatyniny z wartością suPAR ($r = 0,430$, $p < 0,010$) [78]. Jak widać uzyskiwane wyniki nie są jednoznaczne. Ocena zależności pomiędzy wykładnikami uszkodzenia nerek, a poziomem suPAR wymagają dalszej analizy.

Kolejną składową oceny w skali SOFA jest wysokość poziomu bilirubiny. Wzrost tego wskaźnika może odpowiadać poziomowi uszkodzenia wątroby w przebiegu infekcji. Populacja badana i kontrolna oceniane w naszym badaniu nie wykazały istotnych statystycznie różnic. Podobnie badania prowadzone u chorych z rozpoznaną sepsą nie wykazują różnic statystycznych pomiędzy chorymi, którzy przeżyli lub zmarli [79]. Nie obserwuje się takich

wyników nawet ze względu na nasilenie objawów sepsy [80]. Jednak niektórzy badacze obserwują znacznie wyższy poziom bilirubiny u chorych z podwyższonym poziomem rozpuszczalnego uPAR. [86]. Istnieje zatem silny związek pomiędzy poziomem bilirubiny, a wartością suPAR [89].

Istotna różnica występowała natomiast w zakresie wskaźnika oksygenacji (PaO_2/FiO_2). Chorzy z grupy z rozpoznaniem sepsy lub wstrząsu septycznego przyjmowani do OIT, najczęściej prezentowali objawy ostrego uszkodzenia płuc (ALI) lub ostrej niewydolności oddechowej (ARDS). Może to być związane z pośrednim zajęciem płuc w przebiegu procesu zapalnego oraz uwalnianiem mediatorów. Stan ten prowadzi do uszkodzenia śródbłonna naczyniowego, również w płucnym łożysku naczyniowym, co sprzyja przesiąkaniu płynu z układu krążenia, zwiększa barierę pęcherzykowo-włośniczkową, utrudniając wymianę gazową i sprzyja występowaniu zjawiska przecieku przezpłucnego. [90, 91]. Jednak zaburzenia oksygenacji mogą także być związane z bezpośrednią infekcją w zakresie płuc [92]. W naszym badaniu, w grupie z rozpoznaniem sepsy/wstrząsu septycznego, około 36% chorych przyjętych zostało z pierwotnym ogniskiem infekcji zlokalizowanym w płucach. Z tego dwie trzecie chorych miało wewnątrzszpitalne zapalenie płuc. W grupie kontrolnej pacjenci zakwalifikowani do zabiegów kardiochirurgicznych początkowo nie wykazują zaburzeń oddechowych. Pierwszy pomiar następuje przed rozpoczęciem zabiegu operacyjnego, punkt 0. Dopiero w trakcie trwania procedury kardiochirurgicznej grupa ta jest narażona na niedokrwienne uszkodzenie płuc. Wywołane to jest przebiegiem krążenia pozaustrojowego, w wyniku którego dochodzi do aktywacji układu immunologicznego. Całość objawów składa się na tak zwany zespół poreperfuzyjny [68, 93]. Niewydolność oddechowa u tych pacjentów wynika z techniki prowadzenia znieczulenia do zabiegów kardiochirurgicznych. Chorzy są odłączani od respiratora i ekstubowani po wstępnej stabilizacji stanu ogólnego w ramach oddziału intensywnej terapii [70]. Gdy przyjrzymy się wynikom z 3 dnia leczenia, widać również różnice statystyczne pomiędzy obiema populacjami. U chorych po zabiegach kardiochirurgicznych dochodzi do powrotu prawidłowej wymiany gazowej i braku konieczności prowadzenia wentylacji mechanicznej. Natomiast chorzy z grupy septycznej w dalszym ciągu wymagają terapii za pomocą respiratora z powodu objawów ostrego uszkodzenia płuc.

Istotną składową skali SOFA jest wartość średniego ciśnienia tętniczego. Jest ona również jednym z elementów rozpoznania wstrząsu septycznego w oparciu o dokument SEPSIS – 3 [17]. W przebiegu nieadekwatnej odpowiedzi organizmu gospodarza na infekcję dochodzi

do uwolnienia licznych mediatorów stanu zapalnego co znacząco wpływa na systemowy opór naczyniowy i dystrybucję krwi [94, 95]. Zarówno w grupie z rozpoznaniem sepsy/wstrząsu septycznego, jak i u chorych po zabiegu operacyjnym mogą występować zaburzenia związane z układem krążenia. Istotnie statystycznie różnice pojawiają się już przy pierwszym oznaczeniu średniego ciśnienia tętniczego. Chorzy septyczni mają niższą wartość MAP w porównaniu z grupą kardiologiczną. Podobnych obserwacji dokonał Wittenhagen. Wykazał, że u pacjentów z rozpoznaną sepsą przyjmowanych do oddziału intensywnej terapii częściej występuje hipotonia i jest ona wskaźnikiem złego rokowania oraz zwiększonego ryzyka zgonu [88]. Autor jednak nie określił wartości ciśnienia tętniczego sklasyfikowanych jako hipotonia. W badaniu Huttunena obserwowano statystycznie istotną różnicę w wartościach średniego ciśnienia tętniczego pomiędzy grupą z wysokim poziomem suPAR, a grupą z niskim suPAR. W pierwszej populacji mediana wynosiła 60mmHg, natomiast w drugiej 78mmHg. Również w grupie z wysokim suPAR częściej obserwowano hipotonię, bo aż w 69%, a za niską wartość MAP uznano wyniki poniżej 70mmHg. W grupie tej chorzy częściej wymagali wsparcia układu krążenia za pomocą leków wazopresyjnych – 48% [86]. Uzyskane wyniki były prezentowane jako najniższa wartość MAP w okresie 0-6 dni od chwili uzyskania dodatniego posiewu mikrobiologicznego. Ciekawego spostrzeżenia dokonało grono badaczy z Korei Południowej. Young Kun Lee wraz z zespołem analizowali rejestr sepsy chorych przyjmowanych do oddziału ratunkowego. Główny celem badania była ocena wartości prognostycznych saturacji krwi żyłnej centralnej oraz poziomu mleczanów. Pomiarów dokonywano w chwili przyjęcia, a następnie po sześciu godzinach prowadzonej resuscytacji. Chorych poddano analizie pod kątem przeżycia 28-dniowego. Zarówno w grupie pacjentów, którzy przeżyli i tych, którzy zmarli nie obserwowano różnic statystycznych pomiędzy wyjściowymi wartościami ciśnienia tętniczego. Późniejsza analiza z podziałem na subpopulacje w zależności od poziomu saturacji krwi żyłnej i normalizacji poziomu mleczanów również nie wykazała różnic statystycznych w wartości średniego ciśnienia tętniczego pomiędzy obiema grupami [96]. Obie grupy otrzymały terapię lekami wazopresyjnymi w jednakowym odsetku, jednak grupa chorych, która nie przeżyła miała niższy odsetek pacjentów, którzy otrzymali odpowiednią podaż płynów w czasie wstępnej resuscytacji. W naszym badaniu stabilizacja poziomu MAP w trzeciej dobie obserwacji wskazuje na skuteczność prowadzenia terapii chorych w sepsie i wstrząsie septycznym. Nie wskazuje natomiast na rokowanie chorych. W przypadku pacjentów z grupy kardiologicznej wyjściowo nie obserwujemy się zmian dotyczących wartości średniego ciśnienia tętniczego. Z danych

demograficznych wynika, że zdecydowana większość tych pacjentów cierpi z powodu nadciśnienia tętniczego (94,73%). Dopiero ekspozycja na elementu układu do krążenia pozaustrojowego, która powoduje aktywację układu immunologicznego i uwolnienie mediatorów procesu zapalnego może prowadzić do spadku wartości MAP. Mediatorzy stanu zapalnego mają wpływ zarówno na łożysko tętnicze i naczynia żyłne [67]. Jednak w przebiegu leczenia i stabilizacji stanu ogólnego chorzy ci osiągają do 3 doby leczenia w OIT zbliżone wartości MAP do poziomu wyjściowego.

Kolejnym ocenianym elementem skali SOFA jest ocena ilości płytek krwi. Chorzy przyjmowani z powodu nieadekwatnej odpowiedzi organizmu na zakażenie rozwijają trombocytopenię w 5 do 20% przypadków [97]. Proces ten może następować w przebiegu zespołu wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC), supresji szpiku wywołanej lekami, zespołu HIT, hemodulucji lub masywnych przetoczeń [98]. Niejednokrotnie przyczyna trombocytopenii w przebiegu sepsy lub wstrząsu septycznego pozostaje niewyjaśniona. Sugeruje się, że uszkodzone endotelium w wyniku procesu zapalnego powoduje nadmierną aktywację i zużywanie płytek krwi, co stanowi mechanizm patogenezy trombocytopenii [99]. Pomijając przyczynę trombocytopenii wykazano wielokrotnie negatywny wpływ na przeżycie chorych w sepsie lub wstrząsie septycznym [100, 101]. W dużym badaniu kohortowym prowadzonym na 105 chorych w oddziale intensywnej terapii wykazano, że pacjenci z trombocytopenią przy przyjęciu, u których nie następuje normalizacja tego wskaźnika w trakcie leczenia oraz z wysokim poziomem suPAR wykazują najwyższe ryzyko zgonu [102]. W naszym badaniu nie wykazaliśmy różnic statystycznych w ilości płytek krwi pomiędzy grupą septyczną i kardiologiczną. Obserwacja ta dotyczy zarówno pierwszego pomiaru, jak i trzeciej doby pobytu w OIT.

6.3 Biomarkery stanu zapalnego

6.3.1 Prokalcytonina (PCT)

Prokalcytonina jest ważnym markerem używanym na szeroką skalę w diagnostyce zakażeń. PCT jest produkowana przez liczne komórki organizmu, nie tylko w miejscu wniknięcia patogenów. Jej poziom jest znacznie podniesiony w przypadku zakażeń bakteryjnych [8]. Metaanaliza 30 badań przeprowadzona przez Wackera wykazała, że prokalcytonina jest

wystarczająco silnym markerem pozwalającym rozróżnić chorych w sepsie od pacjentów z uogólnioną reakcją zapalną na podłożu innym niż infekcja [103]. Do podobnych wniosków doszedł zespół Andand. Badacze określali zdolność prokalcytoniny do rozróżnienia pomiędzy pacjentami w sepsie z dodatnim posiewem krwi, z ujemnym posiewem krwi oraz chorych prezentujących objawy SIRS bez cech infekcji. Wyniki badania wykazały, że prokalcytonina równie skutecznie różnicuje chorych w sepsie z ujemnym wynikiem posiewów krwi od pacjentów z SIRS, co grupę septyczną z dodatnim wynikiem posiewów od chorych z uogólnioną reakcją zapalną [104]. Należy jednak zwrócić uwagę, że wzrost prokalcytoniny może również towarzyszyć innym stanom chorobowym, nie związanym z zakażeniem. Przykładem może być podniesiony poziom tego markera u chorych z urazem [105]. Wartości wyjściowe PCT u pacjentów poddanych analizie w przeprowadzonym w naszym ośrodku badaniu, różniły się istotnie pomiędzy grupą septyczną i kardiologiczną. Chorzy z grupy septycznej mieli istotnie statystycznie wyższy poziom tego wskaźnika. Te różnice pomiędzy grupami obserwowano również w trzeciej dobie obserwacji. W grupie kardiologicznej odnotowano wzrost PCT, z medianą wartości tego parametru na poziomie 0,5-2,0ng/dl. Wynik ten znajduje się w zakresie średniego prawdopodobieństwa zakażenia [8]. Biorąc pod uwagę przebyty zabieg kardiochirurgiczny i wiążący się z tym uraz tkanek oraz uraz reperfuzyjny, wynik ten przemawia za niewielkim ryzykiem zakażenia.

W grupie septycznej, istotnie wyższe wartości PCT obserwowano u pacjentów z rozpoznaniem wstrząsem septycznym. Poziom tego wskaźnika ulegał stopniowej redukcji w trakcie leczenia, a kolejne pomiary i porównanie pomiędzy podgrupami nie wykazywały istotności statystycznej. Uzyskane wyniki badania nie wskazują natomiast na wysoką wartość predykcyjną pomiaru wyjściowego PCT na 28-dniową śmiertelność pacjentów badanej grupy leczonych na OIT.

Do podobnego wniosku doszedł w swoim badaniu zespół pod kierownictwem Zenga. Wykazali, oni, że prokalcytonina nie powinna być wskaźnikiem rozróżniającym chorych ze zwiększonym ryzykiem zgonu od pacjentów, którzy znajdują się w grupie niższego ryzyka [106]. W ocenie ciężkości stanu pacjentów dużo istotniejszy wydaje się być trend wartości PCT. Chorzy, u których nie obserwuje się spadku wartości PCT w trakcie leczenia lub ten spadek jest powolny, w przeciągu pierwszych 48 godzin od rozpoczęcia leczenia, rokują zdecydowanie gorzej co do przeżycia [107].

6.3.2 Poziom mleczanów

Zaburzenia funkcji organizmu w sepsie i we wstrząsie septycznym dotyczą zarówno poszczególnych narządów, jak i struktur komórkowych. W rozwiniętej sepsie perfuzja narządowa i dostarczanie tlenu są znacznie zredukowane. Prowadzi to ograniczenia funkcji oksydacyjnej cytochromu C w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym. Stan ten jest w głównej mierze spowodowany niedostateczną prężnością tlenu na poziomie mitochondrium [108]. W takich warunkach zachodzi metabolizm beztlenowy, którego produktem jest mleczan, a synteza ATP jest znacznie ograniczona [109, 110]. W przypadku osób zdrowych 70% mleczanów jest zużywanych w procesie glukoneogenezy w komórkach wątroby. Pozostała część jest metabolizowana w tkankach z wysoką zawartością mitochondriów i bierze udział w procesach glikolizy [111]. Czas półtrwania mleczanów wynosi ok. 20 min u osób zdrowych [112], a utrzymujący się wysoki poziom tego metabolitu świadczy o dalszej produkcji lub ograniczeniu jego eliminacji. Dotychczasowe badania wykazały, że pacjenci z sepsą, u których poziom mleczanów jest wyższy niż 4mmol/l, mają gorsze rokowanie [113].

W badanej grupie pacjentów z sepsą poziom mleczanów był istotnie niższy niż u chorych ze wstrząsem septycznym. Zależność taką obserwowano od chwili przyjęcia do OIT i utrzymała się ona do trzeciego dnia leczenia. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic poziomu mleczanu w tej grupie pacjentów w kolejnych dobach obserwacji. Mogło to wynikać z poprawy perfuzji obwodowej w efekcie intensywnie prowadzonego leczenia. Obserwacje dokonane przez zespół Subervioli wskazują, że chorzy, którzy nie przeżywają leczenia szpitalnego mają istotnie statystycznie wyższy poziom mleczanu w oznaczeniu początkowym, dotyczy to w zdecydowanej większości chorych ze wstrząsem septycznym [79]. Obserwacje takie zostały potwierdzone przez Liu i wsp., którzy również wskazywali na wyższy poziom mleczanów u chorych ze wstrząsem septycznym [80]. Ta prawidłowość występuje, także u chorych z sepsą i wstrząsem septycznym leczonych wstępnie w oddziale ratunkowym [114]. Poziom mleczanów w zakresie 2,0-3,9mmol/l oraz > 4mmol/l wiąże się ze złym rokowaniem [115].

Analiza wartości predykcyjnej zastosowanych w prezentowanym badaniu skal ryzyka, markerów zakażenia oraz metabolitów komórkowych wskazuje, że właśnie poziom mleczanów miał największe pole pod krzywą ROC. Można to wskazywać, że w ocenie populacji objętej badaniem poziom mleczanu był najlepszym wskaźnikiem prognozującym śmiertelność 28-dniową u pacjentów leczonych z powodu sepsy i wstrząsu septycznego. Podobnych

obserwacji dokonano u pacjentów przyjmowanych do oddziału ratunkowego z rozpoznaniem sepsy i wstrząsu septycznego. Chorzy byli oceniani w momencie rozpoznania sepsy, a następnie po sześciogodzinnej resuscytacji płynowej i wypełnieniu pakietów leczenia sepsy. Oceniano wartość prognostyczną poziomu mleczanów oraz saturacji centralnej krwi żyłnej (ScvO₂). Stwierdzono, że poziom mleczanów oznaczany po 6-godzinnym etapie wstępnego leczenia ma najsilniejszą wartość prognostyczną śmiertelności 28-dniowej [96].

6.4 Rozpuszczalny receptor urokinazowego aktywatora plazminogenu (suPAR)

Układ urokinazowego aktywatora plazminogenu (uPA) zbudowany jest z trzech elementów: receptora dla urokinazy (uPAR), enzymu proteolitycznego oraz inhibitora. Układ ten, poza funkcją w kaskadzie krzepnięcia i fibrynolizy, bierze udział w migracji komórek i przebudowie tkanek [57]. W normalnych warunkach komórki immunokompetentne wykazują się zdolnością do ekspresji genów dla składowych tego systemu proteolitycznego. Wartości stężeń jego składników pozostają na stałym i nie podlegającym wahaniom dobowym poziomie [54]. W odpowiedzi zapalnej i aktywacji komórek układu immunologicznego dochodzi do zwiększenia ekspresji genów składowych układu uPA oraz wydzielania formy rozpuszczalnej receptora dla urokinazowego aktywatora plazminogenu (suPAR) [116]. Ta obserwacja skłoniła badaczy do prób wykorzystania suPAR jako markera w diagnozowaniu chorych z sepsą i wstrząsem septycznym [51], określenia ciężkości stanu tych pacjentów wraz z rokowaniem [57] oraz określenia czy możliwe jest monitorowanie terapii za pomocą tego wskaźnika [88, 117, 118, 119].

6.4.1 Wartość diagnostyczna

Uzyskane przez nas wyniki potwierdzają obserwacje wskazujące na wzrost stężenia suPAR w grupie pacjentów z rozpoznaną sepsą lub wstrząsem septycznym. Poziom suPAR był istotnie statystycznie wyższy w porównaniu do grupy kardiologicznej. Wartości obserwowane w 3 dobie leczenia, co w grupie kardiologicznej przypadało na wczesny okres po zabiegu operacyjnym, również wykazywały istotne statystycznie różnice pomiędzy grupami. W grupie chorych kardiochirurgicznych obserwowano niższy poziom tego wskaźnika. Nie odnotowano natomiast w tej grupie istotnych zmian stężenia suPAR, w porównaniu do wartości oznaczonych

przed operacją. Operacji serca z zastosowaniem krążenia pozaustrojowego towarzyszy odpowiedź zapalna, nie była jednak ona w przypadku kardiologicznych pacjentów na tyle silna, aby spowodować istotną aktywację układu suPAR. Podobnych obserwacji dokonano u pacjentów po planowych operacjach rewaskularyzacji naczyń wieńcowych z użyciem CPB [70].

Wartość diagnostyczna suPAR jako wskaźnika umożliwiającego potwierdzenie lub wykluczenie sepsy u pacjentów manifestujących objawy uogólnionej reakcji zapalnej nie jest już tak jednoznaczna. Badanie przeprowadzone przez Yilmaza i wsp. w 2011 roku, wykazało znaczną czułość (92%) i specyficzność (85%) suPAR w diagnostyce zakażenia [120]. W badaniu tym grupę 85 pacjentów z objawami SIRS porównywano ze zdrową grupą kontrolną, która była heterogenna i znaleźli się w niej pacjenci bez potwierdzonego zakażenia. Pamiętać jednak należy, że badanie to powstało w oparciu o kryteria SIRS i sepsy z 1992 roku. Te zastrzeżenia sprawiają, że obserwowane w tym badaniu wyniki bardzo trudno jest odnieść do sepsy w obliczu nowej definicji. Niską wartość diagnostyczną suPAR wykazano w badaniu Kocha i wsp. gdzie pole pod krzywą ROC dla pomiaru suPAR przy przyjęciu do OIT wynosiło zaledwie 0,62. Dodatkowo autorzy sugerują, że użycie klasycznych markerów sepsy (CRP, PCT) jest szybsze i tańsze [78]. Podobne wnioski wynikają z metaanalizy siedemnastu badań klinicznych, w których oceniano wartości diagnostyczne i prognostyczne rozpuszczalnej formy receptora dla uPA [121]. Analiza wyników badań spełniających kryteria włączenia wykazała, że wartość diagnostyczna suPAR, w różnicowaniu pomiędzy sepsą, a zespołem uogólnionej reakcji zapalnej oceniana polem pod krzywą ROC wynosi jedynie 0,68. Jednym z wniosków płynących z tej metaanalizy było stwierdzenie, że suPAR jako pojedynczy marker, wykazuje niewielką wartość diagnostyczną w różnicowaniu pomiędzy sepsą, a SIRS. W ostatnim czasie ukazuje się szereg badań wskazujących na przydatność oznaczeń suPAR jako składowej wielomarkerowej oceny ryzyka i rozwoju sepsy. Takiej analizy dokonali Zeng i wsp., którzy porównywali stężenia suPAR u pacjentów leczonych w OIT i zdrowych ochotników z grupy kontrolnej. W badaniu tym, połączenie wyników oznaczeń prokalcytoniny i rozpuszczalnej formy receptora uPA, wykonanych w pierwszej dobie leczenia znacznie wzmacniało ich wartość diagnostyczną u pacjentów z podejrzeniem sepsy [106]. Dodatkowo, w badaniu tym wykazano istotne korelacje stężeń suPAR z poziomem prokalcytoniny u pacjentów z sepsą. Wyniki wskazujące na podobne zależności otrzymaliśmy również w naszym badaniu. W grupie pacjentów z sepsą lub wstrząsem septycznym wykazano w pierwszej dobie obserwacji słabą, niemniej jednak istotną

statystycznie korelację pomiędzy suPAR i poziomem PCT. Zależności takiej nie obserwowano w grupie kardiologicznej.

Blizsza analiza wzajemnych zależności tych wskaźników w podgrupach pacjentów z sepsą i wstrząsem septycznym wykazała, że stężenia suPAR lepiej korelują z poziomami PCT w późniejszych okresach rozwoju sepsy. Wysokie korelacje tych wskaźników obserwowano w 7 i 10 dobie obserwacji. U pacjentów ze wstrząsem septycznym zależność taką, jednak w znacznie mniejszym wymiarze, obserwowano tylko na początku obserwacji.

Uzyskane wyniki potwierdzają tezę, że u pacjentów intensywnej terapii, stężenia suPAR mają ograniczone zastosowanie do diagnostyki sepsy, natomiast stężenia monitorowane w przebiegu leczenia, korelują w czasie ze stopniem dysfunkcji narządów i mają lepszą zdolność do prognozowania wyniku leczenia w tej grupie chorych. Obserwacje tego typu może potwierdzać analiza grupy septycznej w aspekcie rozwoju AKI i konieczności prowadzenia terapii nerkozastępczych. Ostre uszkodzenie nerek (AKI) często towarzyszy pacjentom przyjmowanym do oddziałów intensywnej terapii, zarówno w przebiegu sepsy jak i w okresie pooperacyjnym. W sepsie AKI występuje w około 50% pacjentów [122]. W okresie pooperacyjnym, zwłaszcza po zabiegach kardiochirurgicznych, zespół ten może występować nawet w 40%. [123]. AKI definiowane jest jako nagłe ograniczenie funkcji nerek, które może prowadzić do ostrej ich niewydolności z towarzyszącą anurią, i wymogiem stosowania technik nerkozastępczych. Wystąpienie AKI u pacjentów intensywnej terapii pogarsza rokowanie. Przyjęte aktualnie kryteria rozpoznania AKI i algorytmy postępowania zawarte są w zaleceniach KIDGO z 2012 roku [124].

Rola suPAR w rozwoju przewlekłej choroby nerek jest dobrze udokumentowana, zwłaszcza w przebiegu nefropatii cukrzycowej, nefropatii toczniowej czy w ogniskowym stwardniającym zapaleniu nerek, gdzie rozpuszczalny uPAR bierze udział w uszkodzeniu kłębuszka nerkowego, powstawaniu białkomoczu i bliznowaceniu nerki. [125]. Niewiele jest badań podejmujących zagadnienie wpływu suPAR na ostre uszkodzenie nerek. Grupa z Wielkiej Brytanii pod kierownictwem Hall stwierdziła, że suPAR jako marker zakażenia wydaje się być lepszy niż białko C-reaktywne u chorych z ostrym uszkodzeniem nerek. Badanie przeprowadzono u 55 pacjentów, u których rozpoznano AKI w stopniu 2/3 wg KDIGO, w chwili przyjęcia do OIT. W badanej populacji zdecydowana większość (43 pacjentów) była leczonych z użyciem CRRT. Poziom suPAR u pacjentów z rozpoznaniem zakażenia był istotnie statystycznie wyższy niż w pozostałej części populacji badanej. Ocena suPAR jako przydatnego

markera w rozpoznawaniu zakażenia u chorych z AKI przemawia również analiza pola pod krzywą ROC. Zarówno w dniu włączenia do badania, jak i przy kolejnych oznaczeniach AUC dla suPAR było większe w grupie chorych z zakażeniem i AKI. [126]. W innym prospektywnym badaniu przeprowadzonym u pacjentów septycznych z AKI, oceniano przydatność pomiarów w moczu tkankowego inhibitora metaloproteiny-2 (TIMP-2), białka wiążącego insulinopodobny czynnika wzrostu -7 (IGFBP7) oraz stężenia suPAR w surowicy jako predyktorów potrzeby stosowania RRT. Przydatność prognostyczna stężeń w moczu [TIMP-2] × [IGFBP7], wzrastała wraz z upływem czasu obserwacji i w analizie ROC utrzymywała się na poziomie 0,89 (95% CI, 0,80–0,98) w 24 godziny po włączeniu do badania. Pierwszy pomiar suPAR miał wartość predykcyjną z ROC na poziomie 0,83 (0,75–0,92). Punkt odcięcia dla suPAR w prognozowaniu RRT określono na 8.53 ng/ml. Kombinacja nowo testowanych biomarkerów z cystatyną C spowodowała znaczną poprawę dokładności diagnostycznej. Cystatyna C w połączeniu z [TIMP-2] × [IGFBP7] w 24 godziny po włączeniu przewyższyła wszystkie standardowo monitorowane parametry funkcji nerek (ROC 0,93 [0,86–1,00]) [127]. Wyniki tych badań są w pewnym sensie zbieżne z naszymi obserwacjami i mogą potwierdzać tezę, że suPAR może być również cennym predyktorem postępu AKI z potrzebą RRT, niezależnie od stopnia zaawansowania ostrych zaburzeń czynności nerek i nasilenia reakcji zapalnej. Pacjenci w naszym badaniu, którzy wymagali stosowania technik nerkozastępczych mieli zdecydowanie wyższy wyjściowy poziom suPAR, 15,783 vs 7,65, $p < 0,001$, a użycie RRT przekładało się na większą śmiertelność i gorsze rokowanie.

Analizę suPAR pod kątem prognozowania ostrego uszkodzenia nerek u pacjentów poddawanych planowym zabiegom kardiochirurgicznym podjął zespół Mossanen [128]. Obserwację prowadzono u 107 pacjentów, których wyniki laboratoryjne były analizowane prospektywnie. Poza suPAR analizowano poziomy proenkefaliny oraz kreatyniny. W badanej populacji u 19,6% rozpoznano AKI we wczesnym okresie pooperacyjnym. U tych pacjentów poziomy proenkefaliny i suPAR był istotnie wyższe niż u pacjentów bez ostrego uszkodzenia nerek. Jednak, gdy z badania wyłączono 10 pacjentów (9%) z wywiadem w kierunku przewlekłego uszkodzenia nerek, wyjściowy poziom rozpuszczalnego uPAR był jedynym markrem wskazującym na rozwój AKI we wczesnym okresie okołoperacyjnym.

6.4.2 Wartość prognostyczna

O ile wartość diagnostyczna suPAR pomiędzy SIRS, a sepsą nie jest zdecydowanie wyższa od innych markerów szeroko używanych w diagnostyce zakażenia, o tyle wartość prognostyczna tego wskaźnika wygląda obiecująco. Liczne badania wykazały, że wartość suPAR jest ściśle związana z nasileniem zakażenia oraz z gorszym rokowaniem u skrajnie ciężkich pacjentów. [57, 78, 86, 88, 119, 129-131]. Próba wykorzystania suPAR jako markera prognostycznego opisano w zakażeniach różnymi patogenami, między innymi wirusem HIV [132, 133], zarodźcem malarii [134], czy też prątkami gruźlicy [135]. Prowadzono również badania nad wykorzystaniem rozpuszczalnej formy receptora dla uPA w chorobach serca oraz ocenie ryzyka wystąpienia powikłań okołoperacyjnych i zgonu u pacjentów [136, 137].

U pacjentów z podejrzeniem sepsy, przyjmowanych do oddziałów ratunkowych zespół Kofoeda [129] oceniał przydatność monitorowania suPAR w porównaniu z innymi markerami sepsy, m. in. CRP, PCT, rozpuszczalnym aktywującym receptorem komórek mieloidowych (sTREM-1), czynnikiem hamującym migrację makrofagów (MIF) oraz skalami prognostycznymi SOFA, SAPS II (Simplified Acute Physiology Score). Stwierdzono, że poziom suPAR > 6,661mcg/l wykazuje lepszą wartość prognostyczną w porównaniu z klasycznymi markerami sepsy (CRP i PCT). Dodatkowo porównanie ze skalami rokowniczymi wykazało, że rozpuszczalny uPAR wykazuje bardzo zbliżoną do nich wartość prognostyczną. Zaobserwowano również, że zdolność prognostyczna suPAR, analizowana według kategorii wieku pacjentów, przewyższa zdolność prognostyczną skali SAPS II.

Obserwacje dokonane przez Wittenhagen [88], u pacjentów z bakteriami wywołaną *Streptococcus pneumoniae* wykazały, że pacjenci, którzy zmarli mieli aż o 17% wyższy poziom suPAR przy przyjęciu od chorych, którzy przeżyli. Dalsza analiza wyników pozwoliła określić poziom suPAR >10ng/ml jako pojedynczy czynnik złego rokowania chorych z bakteriami. Podobnych obserwacji dokonano u pacjentów z urosepsą i endotoksemią. Florquin i zespół [119] również potwierdzili, że pacjenci z wysokim poziomem suPAR w przebiegu urosepsy wywołanej bakteriami Gram ujemnymi mają gorsze rokowanie. W badaniu Huttunena i wsp. [86] pacjenci z bakteriami wywołaną *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* lub *Escherichia coli*, u których dochodziło do zgonu w odstępie 30 dni od rozpoczęcia leczenia wykazywali poziom rozpuszczalnego uPAR >11ng/ml. Dodatkowo wykazano, że wyniki powyżej poziomu odcięcia wiążą się z objawami niewydolności wielonarządowej (niewydolność nerek,

wątroby, układu krążenia) i podnoszą punktację w skali SOFA. Dalsza analiza tego badania wskazywała, że pojedynczy pomiar poziomu suPAR, jest tak samo skuteczny w ocenie ryzyka zgonu jak skala SOFA. Molkanen z zespołem określili punkt odcięcia dla suPAR na poziomie 9,25ng/ml. W swoim badaniu obserwowali pacjentów z potwierdzonym zakażeniem *Staphylococcus aureus* w posiewie krwi. W badanej populacji, 19 chorych, którzy zmarli miało wyższy poziom suPAR w porównaniu z 40 chorymi, którzy przeżyli [130]. Metaanaliza prowadzona przez Ni i wsp., wykazała, że wysoki poziom suPAR w stwierdzany w pierwszym oznaczeniu jest związany z wysokim ryzykiem zgonu [121].

Koch i wsp. badali u pacjentów z ciężką sepsą i wstrząsem septycznym związek pomiędzy poziomem suPAR, a ciężkością choroby, ocenianą według skalach rokowniczych (APACHE, SAPS II, SOFA) [78]. Autorzy tego badania zaobserwowali również, że powtarzany pomiar suPAR pozwala w sposób bardziej precyzyjny prognozować rokowanie chorych. Wykazano, że niskie wartości suPAR w dniu przyjęcia, a następnie dynamika zmian obserwowanych w 3 i 7 dobie leczenia, wykazywały wysoką wartość predykcyjną w ocenie przeżycia chorych. Stwierdzono, że stężenia suPAR powyżej 8ng/ml w pierwszej dobie oraz 13ng/ml w trzeciej dobie leczenia, były związane z ryzykiem zgonu pacjentów. Analiza pola pod krzywą ROC dla całkowitego przeżycia wykazała, że suPAR ma większą zdolność prognozowania zgonu pacjentów w porównaniu z klasycznymi markerami sepsy (PCT i CRP) oraz skalą APACHE II. Natomiast jest ona niższa w stosunku do skali SAPS II. Badanie prowadzone przez Donadello i wsp. [57] wykazało, że pole pod krzywą ROC dla śmiertelności w oddziale intensywnej terapii pacjentów septycznych wynosi 0,68, a punkt odcięcia suPAR określono na 6 ng/ml. Wartość AUROC była zdecydowanie niższa niż wartości uzyskane dla skal rokowniczych SOFA i APACHE II. Obserwowane wartości w punktacji skal rokowniczych, uzmysławiają dodatkowo zakres zaawansowania intensywnego leczenia w tej grupie chorych.

W prezentowanym badaniu podjęto próbę określenia wartości prognostycznej dla suPAR, klasycznych markerów infekcji, skal rokowniczych oraz poziomu mleczanów jako wskaźnika niedotlenienia na poziomie komórkowym. Analizowano wartość pierwszego pomiaru. Krzywe ROC określano dla śmiertelności 28-dniowej. Rozpuszczalny receptor dla urokinazowego aktywatora plazminogenu prezentował pole pod krzywą ROC rzędu 0,665 z punktem odcięcia na poziomie 18,376ng/ml. Uzyskany wynik nie jest zadowalający dla predykcji zgonu pacjentów w sepsie i wstrząsie septycznym. Oceniane skale SOFA jak i APACHE II, charakteryzowały się

większą zdolnością do predykcji zgonu niż suPAR. Pole pod krzywą ROC dla tych skal wynosił odpowiednio 0,707 i 0,725, a punkt odcięcia dla skali SOFA wynosił 14, a dla APACHE II 24. Może to wskazywać również, że jednak skala APACHE II dla populacji septycznej była lepszym wskaźnikiem zgonu 28-dniowego niż skala SOFA.

Punkt odcięcia dla suPAR, uzyskany w naszym badaniu jest dwu-, a nawet w niektórych przypadkach trzykrotnie wyższy, niż opisywane w piśmiennictwie. Przyczyną tego może być zjawisko opóźnionego diagnozowania, kierowania i przyjmowania pacjentów do OIT z rozpoznaniem sepsy lub wstrząsu septycznego. Uwarunkowania organizacyjne powodują, że pacjenci z takim rozpoznaniem przyjmowani są często w bardzo zaawansowanym stadium rozwoju powikłań septycznych. Wskazywać na to może punktacja APACHE II określana w pierwszej dobie od przyjęcia. Nawet w dużym badaniu Kocha i wsp. [78], mediana punktacji APACHE II w grupie z sepsą wynosiła 18 pkt., natomiast w grupie septycznej naszego badania wartość ta została wyliczona na 23 punkty. Pozostałe markery stanu zapalnego nie prezentowały istotności statycznej dla obliczonych pól pod krzywymi ROC, w związku z tym wyniki te pominięto jako nie wpływające na określenie ryzyka zgonu w populacji pacjentów z sepsą. Dodatkowo zaobserwowaliśmy bardzo wysoką korelację pomiędzy wartością skali SOFA, a poziomem suPAR w dobie 5 i 7. Oznacza to, że stopień nasilenia niewydolności wielonarządowej u pacjentów septycznych, koresponduje z wartością suPAR. Potwierdza to również dotychczasowe obserwacje [78].

Największe pole pod krzywą ROC, dla określenia wartości predykcyjnej zgonu uzyskaliśmy dla poziomu mleczanów (AUROC 0,828), z punktem odcięcia na poziomie 2,3mmol/l. Potwierdza to przydatność oznaczania mleczanu, jako wskaźnika oceniającego zakres niewydolności narządowej na poziomie komórkowym, a nawet mitochondrialnym. Może to sugerować również, że jednak mleczan, a nie skale rokownicze czy wskaźniki zakażenia, jest skuteczniejszy w prognozowaniu wyniku leczenia pacjentów w sepsie czy wstrząsie septycznym.

Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że wykorzystanie suPAR jako czynnika prognostycznego może być przydatne w praktyce klinicznej i pozwala w sposób bardziej precyzyjny prognozować rokowanie u pacjentów leczonych w oddziale intensywnej terapii. Przydatność monitorowania suPAR w tym zakresie, podobnie jak wielu innych markerów reakcji zapalnej, wymaga jednak dalszych badań i obserwacji klinicznych. Użyte skale rokownicze

(SOFA, APACHE II) wydają się potwierdzać swoją przydatność i spełniają w sposób oczekiwany swoje funkcje. Należy jednak pamiętać o kluczowej roli oceny klinicznej, która jest najbardziej skuteczna w określeniu rokowania chorych w sepsie i we wstrząsie septycznym. Monitorowanie stężenia suPAR jako narzędzia wspomagającego proces diagnostyki i terapii, wydaje się być pomocne, szczególnie w ocenie stopnia nasilenia niewydolności wielonarządowej, a pacjenci, u których stwierdza się podwyższone stężenia suPAR powinni być ściśle monitorowani i intensywnie leczeni.

7. WNIOSKI:

Przeprowadzone badanie wykazało, że:

1. U pacjentów w sepsie i wstrząsie septycznym stwierdza się podwyższone wartości suPAR, a wartość prognostyczna przeżycia 28-dniowego jest istotna przy stężeniach powyżej 18,38 ng/ml.
2. Stężenia suPAR w grupie pacjentów poddawanych planowej operacji serca z zastosowaniem krążenia pozaustrojowego nie wykazują istotnych wahań w analizowanym wczesnym okresie okołoperacyjnym.
3. Stwierdzany, podwyższony poziom suPAR przed zabiegiem operacyjnym, w tej grupie pacjentów może wynikać z przewlekłego stanu zapalnego jaki towarzyszy miażdżycy.
4. Nie ma różnic w poziomie suPAR u pacjentów z sepsą i wstrząsem septycznym.
5. Przydatność kliniczna seryjnego pomiaru stężenia suPAR u pacjentów w sepsie i wstrząsie septycznym nie przewyższa wartości skali SOFA.
6. Wartości wyjściowe stężeń suPAR wykazywały większą zdolność do predykcji 28-dniowej śmiertelności, w porównaniu do oznaczeń poziomu leukocytów, CRP czy PCT.
7. U pacjentów septycznych, wymagających ciągłych terapii nerkozastępczych, stężenia suPAR są istotnie wyższe, w grupie tej notuje się również istotnie wyższą śmiertelność.
8. Stwierdzone zależności pomiędzy stężeniami suPAR i innymi analizowanymi markerami sepsy, mogą wskazywać na ich przydatność w wielomarkerowej ocenie nasilenia i rozwoju sepsy, jednak ta hipoteza wymaga dalszej weryfikacji.

8. ANEKS

8.1 Skala qSOFA.

Kryteria qSOFA (Quick SOFA)	
Częstość oddechów $\geq 22/\text{min}$	1pkt
Zaburzenia świadomości	1pkt
Skurczowe ciśnienie tętnicze $\leq 100\text{mmHg}$	1pkt

Tab. 1. Kryteria skali qSOFA, wg [6].

8.2 Skala APACHE II

Kryteria skali APACHE II									
Zmienna	Punktacja (A)								
	>N				N	<N			
	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Głęboka temperatura ciała (°C)	≥ 41	39-40,9		38,5-38,9	36-38,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	$\leq 29,9$
Średnie ciśnienie tętnicze (mmHg)	≥ 160	130-159	110-129		70-109		50-69		≤ 49
Częstość akcji serca (min^{-1})	≥ 180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	≤ 39
Częstość oddechów (min^{-1})	≥ 50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		≤ 5
$\text{FiO}_2 \geq 0,5$, A-aDO ₂	≥ 500	350-499	200-349		<200	-	-	-	-
$\text{FiO}_2 < 0,5$, PaO ₂ (mmHg)	-	-	-	-	>70	61-70		55-60	<55
pH krwi tętniczej	$\geq 7,7$	7,6-7,69		7,5-7,59	7,33-7,49		7,25-7,32	7,15-7,24	<7,15
Stężenie Na ⁺ (mmol l ⁻¹)	≥ 180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	110-119	<110
Stężenie K ⁺ (mmol l ⁻¹)	≥ 7	6-6,9		5,5-5,9	3,5-5,4	3-3,4	2,5-2,9		<2,5
Stężenie kreatyniny (mg dl ⁻¹), podwójna wartość przy ostrej niewydolności nerek	$\geq 3,5$	2-3,4	1,5-1,9		0,6-1,4		<0,6		
Hematokryt (%)	≥ 60		50-59,9	46-49,9	30-45,9		20-29,9		<20
Leukocyty ($\times 10^3 \text{ mm}^{-3}$)	≥ 40		20-39,9	15-19,9	3-14,9		1-2,9		<1
Skala GCS	Punkty = 15 – obecny GCS								

Wiek (B): 0 pkt - <44 lata 2 pkt – 45-54 lata 3 pkt – 55-64 lata 5 pkt – 65-74 lata 6 pkt - ≥75 lat	Inne (C): +2 pkt – jeśli pacjent po planowanej operacji z niedoborami odporności lub ciężka niewydolność narządowa w wywiadzie +5 pkt - jeśli pacjent bez zabiegu lub po nagłej operacji z niedoborami odporności lub ciężka niewydolność narządowa w wywiadzie
Punkcja = SUMA A + B + C (0-71pkt)	

FiO₂ – prężność tlenu w mieszaninie oddechowej, A-aDO₂ – pęcherzykowo-włośniczkowy gradient tlenu, PaO₂ – prężność tlenu we krwi tętniczej, GCS – skala śpiączki Glasgow.

Tab. 2. Kryteria skali APACHE II, wg [9].

8.3 Skala SOFA

KRYTERIA SKALI SOFA

NARZĄD	Wskaźnik	0pkt	1pkt	2pkt	3pkt	4pkt
UKŁAD ODDECHOWY	PaO ₂ /FiO ₂ , mmHg, (kPa)	≥400 (≥53,3)	<400 (<53,3)	<300 (<40)	<200 (<26,7) Wspomaganie oddychania	<100 (<13,3) Wspomaganie oddychania
UKŁAD KRZEPNIĘCIA	Płytki krwi x10 ³ mm ⁻³	≥150	<150	<100	<50	<20
WĄTROBA	Bilirubina, mg dl ⁻¹ (μmo l ⁻¹)	<1,2 (<20)	1,2-1,9 (20-32)	2,0-5,9 (33-10)	6,0-11,9 (102-204)	>12 (>204)
UKŁAD KRAŻENIA	Hipotonia	MAP ≥70mm Hg	MAP <70mmHg	Dopamina <5 lub Dobutamina (dowolna dawka)	Dopamina 5,1-15 lub Epinefryna =<0,1 lub Norepinefryna =<0,1	Dopamina >15 lub Epinefryna >0,1 lub Norepinefryna >0,1
OŚRODKOWY UKŁAD NERWOWY	GCS	15	13-14	10-12	6-9	<6
NERKI	Kreatynina, mg dl ⁻¹ (μmol l ⁻¹) lub poziom diurezy	<1,2 (<110)	1,2-1,9 (110-170)	2,0-3,4 (171-299)	3,5-4,9 (300-440) Lub <500ml/dobę	>5,0 (>440) Lub <200ml/dobę

MAP (MEAN ARTERIAL PREASSURE) – ŚREDNIE CIŚNIENIE TĘTNICZE, GCS (GLASGOW COMA SCALE)- SKALA ŚPIĄCZKI GLASGOW.

DAWKI AMIN KATECHOLOWYCH PODAWANE PRZYNAJMNIEJ PRZEZ 1 GODZINĘ, μG/KG * MIN⁻¹

Tab. 3. Kryteria skali SOFA, wg [6].

9. WYKAZ SKRÓTÓW UŻYTYCH W TEKŚCIE

- A-aDO₂** - gradient tlenu pęcherzykowo - włośniczkowy
- APACHE II** (Acute Physiology and Chronic Health) - skala APACHE II
- ASC** (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase activation and recruiting domain)
- ATP** - adenozynotrójfosforan
- AUROC/AUCROC** (area under receiver-operator curve) - pole pod krzywą ROC
- BE** - niedobór zasad
- CARS** (Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome) - zespół kompensacyjnej odpowiedzi przeciwzapalnej
- CD 64** (cluster of differentiation 64) - antygen CD 64
- CRP** (C-reactive Proteine) - białko C-reaktywne
- D I, D II, D III** - domeny po trawieniu enzymatycznym suPAR
- DAMP** (Danger-Associated Molecular Pattern) - struktury molekularne związane z uszkodzeniem, alarminy
- DIC** (Disseminated Intravascular Coagulation) - zespół wykrzepiania wewnątrznaczyniowego
- DNA** - kwas deoksyrybonukleotydowy
- ECC** (extracorporeal circulation) - krążenie pozaustrojowe
- FAK** (Focal Adhesion Kinase) - szlak kinaz FAK
- GCS** (Glasgow Coma Scale) - skala śpiączki Glasgow
- GPI** - kotwica glikozylofosfatydyloinozytolowa
- HIV** (human immunodeficiency virus) - wirus ludzkiego nabytego niedoboru odporności
- HLA** (human leucocyte antigen) - antygeny ludzkich leukocytów
- HMGB-1** (High-Mobility Group Box-1 protein) - białko wysokiej ruchliwości ramki 1
- HSP** (Heat Shock Protein) - białka szoku cieplnego
- IKB** (inhibitor kappa B) - białko hamujące kappa B
- IL-6, IL-1B, IL-18** - interleukiny
- IRAK-4** (IL-1R associated kinase-4) - kinaza białkowa IRAK 4
- LBP** (lipopolisachride binding protein) - białko wiążące lipopolisacharyd
- LPS** (Lipopolisachride) - lipopolisacharyd, endotoksyna
- Mal** (MyD88 adaptor like)
- MAP** (mean arterial pressure) - średnie ciśnienie tętnicze
- MAPK** (Mitogen-activated Protein Kinase) - szlak kinaz MAPK
- MCP-1** (monocyte chemoattractant proteine -1) - białko chemotaktyczne monocytów

MMP-12 (matrix metalloproteinase – 12) - metaloproteinaza

mRNA - messenger RNA

MyD88 (myeloid differentiation primary response protein 88)

NF κ B (nuclear factor kappa B) - Czynniki transkrypcji jądrowej kappa B

NLR (NOD-like, nucleotide -binding oligomerization domain-like receptors) - receptory NOD-podobne

NLRP - NLR z N-końcową domeną pirynową

OIT - oddział intensywnej terapii

OPCAB (off-pump coronary aortic by-pass) - pomostowanie aortalno-wieńcowe bez wykorzystania krążenia pozaustrojowego

PaCO₂ - prężność dwutlenku węgla we krwi tętniczej

PAI (plasminogen activator inhibitor) - inhibitor aktywacji plazminogenu

PAMP (Pathogen-Associated Molecular Patterns) - struktury wzoru związanego z patogenem

PaO₂ - prężność tlenu we krwi tętniczej

PaO₂/FiO₂ - wskaźnik oksygenacji

PCT (procalcitonine) - prokalcytonina

PRR (Pattern Recognition Receptors) - receptory rozpoznające wzorce

qSOFA (Quick SOFA) - skala qSOFA

RLR (RIG-I-like receptors) - receptory RIG-I podobne

RNA - kwas rybonukleotydowy

RP105 (radioprotective 105)

SAPS II (Simplified Acute Physiology Score) - skala SAPS II

SD - odchylenie standardowe

SIGIRR (single immunoglobulin IL-1R-related molecule)

SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome) - zespół ogólnionej reakcji zapalnej

SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) - skala SOFA

SRSRY (Urokinase Receptor -derived Pentapeptide Serine-Arginine-Serine-Arginine-Tyrosine) pentapeptyd pochodzący z trawienia suPAR

ST2 (IL-1 receptor-like 1)

sTREM-1 (soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1)

suPAR (soluble uPAR) - rozpuszczalny uPAR

TAG (TRAM adaptor with Golgi dynamics domain)

TF (tissue factor) - czynnik tkankowy

TIRAP (TIR domain-containing adaptor protein) - białko adaptorowe zawierające domenę TIR

TLR (Toll-like Receptors) - receptory Toll-podobne

TLR-2, TLR-3, TLR-5, TLR-7, TLR-8, TLR – 9 -receptory Toll-podobne

TMB - 3,3',5,5' - tertrametylbenzydyna

TNF (tumor necrosis factor) - czynnik martwicy nowotworów

tPA (tissue plasminogen activator) - tkankowy aktywator plazmonogenu

TRAM (TRIF related adaptor molecule) - cząsteczkę adaptorową związaną z TRIF

TREM-1 (triggering receptor expressed on myeloid cells 1)

TRIF (TIR domain-containing adaptor protein inducing IFN-beta) - białko adaptorowe zawierające domenę TIR indukujące interferon beta

uPA (urokinase plasminogen activator) - urokinazowy aktywator plazminogenu

uPAR (urokinase plasminogen activator receptor) - receptor dla urokinazowego aktywatora plazmonogenu

WBC (white blood count) - liczba białych krwinek

9. PIŚMIENNICTWO

1. Sakr Y, Jaschinski U, Wittebole X, et al. Sepsis in Intensive Care Unit Patients: Worldwide Data From the Intensive Care over Nations Audit. *Open Forum Infect Dis.* 2018;5(12): ofy313.
2. Kusza K, Piechota M. Wytyczne Polskiego Towarzystwa Anestezjologii i Intensywnej Terapii określające zasady kwalifikacji oraz kryteria przyjęcia chorych do Oddziałów Anestezjologii i Intensywnej Terapii - luty 2012.
3. Flaatten H, de Lange DW, Artigas A, et al. The status of intensive care medicine research and a future agenda for very old patients in the ICU. *Intensive Care Med.* 2017; 43(9): 1319–1328.
4. Fronczek J, Polok K, Nowak-Kózka I et al. Frailty increases mortality among patients \geq 80 years old treated in Polish ICUs. *Anaesthesiol Intensive Ther* 2018; 50(4): 245–251.
5. Resolution WHA70.7: Improving the prevention, diagnosis and clinical management of sepsis. Dostęp on-line 29.05.2019r.: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA70/A70_R7-en.pdf?ua=1&ua=1.
6. Portal Pokonać Sepse. Dostęp on-line 03.10.2019r.: <http://pokonacsepsę.pl/>
7. Szczeklik W., Czarnik T., Czuczwar M., Dudzik-Urbaniak E., Gałkin P., Górka J., Goździk W., Kosiński S., et al., w imieniu Polskiej Grupy Roboczej Zespołów Wczesnego

- Reagowania: Zespoły wczesnego reagowania – szybka pomoc w stanach nagłych w szpitalu. Część II: wdrażanie systemu ZWR w Polsce. *Med. Prakt.*, 2018; (10): 113–122.
8. Fan SL, Miller NS, Lee J, Remick DG. Diagnosing sepsis - The role of laboratory medicine. *Clin Chim Acta*. 2016; 1(460): 203-10.
 9. Dolin HH, Papadimos TJ, Stepkowski S, Chen X, Pan ZK. A Novel Combination of Biomarkers to Herald the Onset of Sepsis Prior to the Manifestation of Symptoms. *Shock*. 2018; 49(4):364–370.
 10. Behnes M, Bertsch T, Lepiorz D, et al. Diagnostic and prognostic utility of soluble CD 14 subtype (presepsin) for severe sepsis and septic shock during the first week of intensive care treatment. *Crit Care*. 2014;18(5):507.
 11. Puskarich MA, Cornelius DC, Tharp J, Nandi U, Jones AE. Plasma syndecan-1 levels identify a cohort of patients with severe sepsis at high risk for intubation after large-volume intravenous fluid resuscitation. *J Crit Care*. 2016; (36):125–129.
 12. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin*. 2009; 25(1):83-101.
 13. Bone RC, Fisher CJ Jr, Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA. Sepsis syndrome: a valid clinical entity. Methylprednisolone Severe Sepsis Study Group. *Crit Care Med*. 1989; 17(5):389-93.
 14. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med*. 1992; 20(6):864-74.
 15. Vincent JL. Dear SIRS, I'm sorry to say that I don't like you... *Crit Care Med*. 1997; 25(2):372-4.
 16. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G; 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med*. 2003; 29(4):530-8.
 17. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315(8):801-10.
 18. Raith EP, Udy AA, Bailey M, McGloughlin S, MacIsaac C, Bellomo R, Pilcher DV. Prognostic Accuracy of the SOFA Score, SIRS Criteria, and qSOFA Score for In-Hospital Mortality Among Adults With Suspected Infection Admitted to the Intensive Care Unit. *JAMA*. 2017; 317(3):290-300.
 19. Knaus WA, Zimmerman JE, Wagner DP, Draper EA, Lawrence DE. APACHE-acute physiology and chronic health evaluation: a physiologically based classification system. *Crit Care Med*. 1981; 9(8):591-7.
 20. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985; 13(10):818-29.
 21. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ

- dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 1996; 22(7):707-10.
22. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001; 29(7):1303-10.
 23. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, Moreno R, Carlet J, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med.* 2006; 34(2):344-53.
 24. Kübler A, Adamik B, Ciszewicz-Adamiczka B, Ostrowska E. Severe sepsis in intensive care units in Poland - a point prevalence study in 2012 and 2013. *Anaesthesiol Intensive Ther.* 2015; 47(4):315-9.
 25. Wiersinga WJ, Leopold SJ, Cranendonk DR, van der Poll T. Host innate immune responses to sepsis. *Virulence.* 2014; 5(1):36-44.
 26. Bianchi ME DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol.* 2007; 81(1):1-5.
 27. Lamkanfi M Emerging inflammasome effector mechanisms. *Nat Rev Immunol.* 2011; 11(3):213-20.
 28. Kim YM, Brinkmann MM, Paquet ME, Ploegh HL. UNC93B1 delivers nucleotide-sensing toll-like receptors to endolysosomes. *Nature.* 2008; 452(7184):234-8.
 29. Shih VF, Tsui R, Caldwell A, Hoffmann A. A single NF κ B system for both canonical and non-canonical signaling. *Cell Res.* 2011; 21(1):86-102.
 30. von Bernuth H, Picard C, Jin Z, Pankla R, Xiao H, Ku CL, Chrabieh M, Mustapha IB, et al. Pyogenic bacterial infections in humans with MyD88 deficiency. *Science.* 2008; 321(5889):691-6.
 31. Ku CL, von Bernuth H, Picard C, Zhang SY, Chang HH, Yang K, Chrabieh M, Issekutz AC, et al. Selective predisposition to bacterial infections in IRAK-4-deficient children: IRAK-4-dependent TLRs are otherwise redundant in protective immunity. *J Exp Med.* 2007; 204(10):2407-22.
 32. Klesney-Tait J, Keck K, Li X, Gilfillan S, Otero K, Baruah S, Meyerholz DK, Varga SM, et al. Transepithelial migration of neutrophils into the lung requires TREM-1. *J Clin Invest.* 2013; 123(1):138-49.
 33. Anwar MA, Basith S, Choi S. Negative regulatory approaches to the attenuation of Toll-like receptor signaling. *Exp Mol Med.* 2013; 45:e11.
 34. Palsson-McDermott EM, Doyle SL, McGettrick AF, Hardy M, Husebye H, Banahan K, Gong M, Golenbock D, et al. TAG, a splice variant of the adaptor TRAM, negatively regulates the adaptor MyD88-independent TLR4 pathway. *Nat Immunol.* 2009; 10(6):579-86.
 35. Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell.* 2010; 140(6):821-32.
 36. Fahy RJ, Exline MC, Gavrillin MA, Bhatt NY, Besecker BY, Sarkar A, Hollyfield JL, Duncan MD, et al. Inflammasome mRNA expression in human monocytes during early septic shock. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008; 177(9):983-8.

37. Levi M, van der Poll T. Inflammation and coagulation. *Crit Care Med.* 2010; 38(2 Suppl):S26-34.
38. Gando S. Microvascular thrombosis and multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med.* 2010; 38(2 Suppl):S35-42.
39. Kołodziejczyk J, Talar B, Olas B, Wachowicz B. Urokinase-type plasminogen activator in cancer progression – role, potential applications in diagnostics and anticancer therapy. *Acta Haematologica Polonica* 2011; 42(4):619–627.
40. Hoffman M, Monroe DM. Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2007; 21(1):1-11.
41. Mondino A, Blasi F. uPA and uPAR in fibrinolysis, immunity and pathology. *Trends Immunol.* 2004; 25(8):450-5.
42. Abraham E, Gyetko MR, Kuhn K, Arcaroli J, Strassheim D, Park JS, Shetty S, Idell S. Urokinase-type plasminogen activator potentiates lipopolysaccharide-induced neutrophil activation. *J Immunol.* 2003; 170(11):5644-51.
43. Gyetko MR, Sitrin RG, Fuller JA, Todd RF 3rd, Petty H, Standiford TJ. Function of the urokinase receptor (CD87) in neutrophil chemotaxis. *J Leukoc Biol.* 1995; 58(5):533-8.
44. Nykjaer A, Møller B, Todd RF 3rd, Christensen T, Andreasen PA, Gliemann J, Petersen CM. Urokinase receptor. An activation antigen in human T lymphocytes. *J Immunol.* 1994; 152(2):505-16.
45. Blasi F. The urokinase receptor. A cell surface, regulated chemokine. *APMIS.* 1999; 107(1):96-101.
46. Blasi F, Sidenius N. The urokinase receptor: focused cell surface proteolysis, cell adhesion and signaling. *FEBS Lett.* 2010; 584(9):1923-30.
47. Ranieri VM, Thompson BT, Barie PS, Dhainaut JF, Douglas IS, Finfer S, Gårdlund B, Marshall JC, et al. PROWESS-SHOCK Study Group. Drotrecogin alfa (activated) in adults with septic shock. *N Engl J Med.* 2012; 366(22):2055-64.
48. Sandquist M, Wong HR. Biomarkers of sepsis and their potential value in diagnosis, prognosis and treatment. *Expert Rev Clin Immunol.* 2014; 10(10):1349-56.
49. Dupuy AM, Philippart F, Péan Y, Lasocki S, Charles PE, Chalumeau M, Claessens YE, Quenot JP, et al. Maurice Rapin Institute Biomarkers Group. Role of biomarkers in the management of antibiotic therapy: an expert panel review: I - currently available biomarkers for clinical use in acute infections. *Ann Intensive Care.* 2013; 3(1):22.
50. Schuetz P, Chiappa V, Briel M, Greenwald JL. Procalcitonin algorithms for antibiotic therapy decisions: a systematic review of randomized controlled trials and recommendations for clinical algorithms. *Arch Intern Med.* 2011; 171(15):1322-31.
51. Henriquez-Camacho C, Losa J. Biomarkers for sepsis. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 547818.
52. Vincent JL, Beumier M. Diagnostic and prognostic markers in sepsis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013; 11(3):265-75.

53. Ploug M, Rønne E, Behrendt N, Jensen AL, Blasi F, Danø K. Cellular receptor for urokinase plasminogen activator. Carboxyl-terminal processing and membrane anchoring by glycosyl-phosphatidylinositol. *J Biol Chem.* 1991; 266(3):1926-33.
54. Thunø M, Macho B, Eugen-Olsen J. suPAR: the molecular crystal ball. *Dis Markers.* 2009; 27(3):157-72.
55. Rønne E, Pappot H, Grøndahl-Hansen J, Høyer-Hansen G, Plesner T, Hansen NE, Danø K. The receptor for urokinase plasminogen activator is present in plasma from healthy donors and elevated in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol.* 1995; 89(3):576-81.
56. Wahlberg K, Høyer-Hansen G, Casslén B. Soluble receptor for urokinase plasminogen activator in both full-length and a cleaved form is present in high concentration in cystic fluid from ovarian cancer. *Cancer Res.* 1998; 58(15):3294-8.
57. Donadello K, Scolletta S, Covajes C, Vincent JL. suPAR as a prognostic biomarker in sepsis. *BMC Med.* 2012; 10:2.
58. Wilhelm OG, Wilhelm S, Escott GM, Lutz V, Magdolen V, Schmitt M, Rifkin DB, Wilson EL, et al. Cellular glycosylphosphatidylinositol-specific phospholipase D regulates urokinase receptor shedding and cell surface expression. *J Cell Physiol.* 1999; 180(2):225-35.
59. Wrotek A, Jackowska T. Soluble urokinase plasminogen activator receptor as a potential biomarker in pneumonia. *Adv Exp Med Biol.* 2014; (9):661-664.
60. Rijneveld AW, Levi M, Florquin S, Speelman P, Carmeliet P, van Der Poll T. Urokinase receptor is necessary for adequate host defense against pneumococcal pneumonia. *J Immunol.* 2002; 168(7):3507-11.
61. Wei Y, Eble JA, Wang Z, Kreidberg JA, Chapman HA. Urokinase receptors promote beta1 integrin function through interactions with integrin alpha3beta1. *Mol Biol Cell.* 2001; 12(10):2975-86.
62. Waltz DA, Chapman HA. Reversible cellular adhesion to vitronectin linked to urokinase receptor occupancy. *J Biol Chem.* 1994; 269(20):14746-50.
63. Sidenius N, Andolfo A, Fesce R, Blasi F. Urokinase regulates vitronectin binding by controlling urokinase receptor oligomerization. *J Biol Chem.* 2002; 277(31):27982-90.
64. Trisciuglio D, Iervolino A, Candiloro A, Fibbi G, Fanciulli M, Zangemeister-Wittke U, Zupi G, Del Bufalo D. bcl-2 induction of urokinase plasminogen activator receptor expression in human cancer cells through Sp1 activation: involvement of ERK1/ERK2 activity. *J Biol Chem.* 2004; 279(8):6737-45.
65. Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE, Stewart RW, Blackstone EH, Kirklin JW. Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N Engl J Med.* 1981; 304(9):497-503.
66. Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH, Kirklin JW, Chenoweth DE, Pacifico AD. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1983; 86(6):845-57.

67. Bronicki RA, Hall M. Cardiopulmonary Bypass-Induced Inflammatory Response: Pathophysiology and Treatment. *Pediatr Crit Care Med*. 2016; 17(8 Suppl 1):S272-8.
68. Miller BE, Levy JH. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 1997; 11(3):355-66.
69. Paśnik J. Role of interleukin 10 in inflammatory response after cardiovascular surgery with cardiopulmonary bypass. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2006; (60):8-14.
70. Gozdzik W, Adamik B, Gozdzik A, Rachwalik M, Kustrzycki W, Kübler A. Unchanged plasma levels of the soluble urokinase plasminogen activator receptor in elective coronary artery bypass graft surgery patients and cardiopulmonary bypass use. *PLoS One*. 2014; 9(6): e98923.
71. Eugen-Olsen J, Andersen O, Linneberg A, Ladelund S, Hansen TW, Langkilde A, Petersen J, Pielak T, et al. Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor predicts cancer, cardiovascular disease, diabetes and mortality in the general population. *J Intern Med*. 2010; 268(3):296-308.
72. Gibot S, Béné MC, Noel R, Massin F, Guy J, Cravoisy A, Barraud D, De Carvalho Bittencourt M, et al. Combination biomarkers to diagnose sepsis in the critically ill patient. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012; 186(1):65-71.
73. Andaluz-Ojeda D, Bobillo F, Iglesias V, Almansa R, Rico L, Gandía F, Resino S, Tamayo E et al. A combined score of pro- and anti-inflammatory interleukins improves mortality prediction in severe sepsis. *Cytokine*. 2012; 57(3):332-6.
74. Corrêa TD, Sanches PR, de Moraes LC, Scarin FC, Silva E, Barbas CS. Performance of noninvasive ventilation in acute respiratory failure in critically ill patients: a prospective, observational, cohort study. *BMC Pulm Med*. 2015; 15:144.
75. Giamarellos-Bourboulis EJ, Norrby-Teglund A, Mylona V, Savva A, Tsangaris I, Dimopoulou I, Mouktaroudi M, Raftogiannis M, et al. Risk assessment in sepsis: a new prognostication rule by APACHE II score and serum soluble urokinase plasminogen activator receptor. *Crit Care*. 2012; 16(4): R149.
76. Vincent JL, Opal SM, Marshall JC. Ten reasons why we should NOT use severity scores as entry criteria for clinical trials or in our treatment decisions. *Crit Care Med*. 2010; 38(1):283-7.
77. Kofoed K, Schneider UV, Scheel T, Andersen O, Eugen-Olsen J. Development and validation of a multiplex add-on assay for sepsis biomarkers using xMAP technology. *Clin Chem*. 2006; (52):1284–1293.
78. Koch A, Voigt S, Kruschinski C, Sanson E, Dücker H, Horn A, Yagmur E, Zimmermann H, Trautwein C, Tacke F. Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor is stably elevated during the first week of treatment in the intensive care unit and predicts mortality in critically ill patients. *Crit Care*. 2011; 15:R63.
79. Suberviola B, Castellanos-Ortega A, Ruiz A, Lopez-Hoyos M, Santibañez M Hospital mortality prognostication in sepsis using the new biomarkers suPAR and proADM in a single determination on ICU admission. *Intensive Care Med*. 2013; 39(11):1945-52.

80. Liu X, Shen Y, Li Z, Fei A, Wang H, Ge Q, Pan S. Prognostic significance of APACHE II score and plasma suPAR in Chinese patients with sepsis: a prospective observational study. *BMC Anesthesiol.* 2016; 16(1):46.
81. Cullen DJ, Chernow B. Predicting outcome in critically ill patients. *Crit Care Med.* 1994; 22(9):1345-8.
82. Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Mélot C, Vincent JL. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA.* 2001; 286(14):1754-8.
83. Tran DD, Groeneveld AB, van der Meulen J, Nauta JJ, Strack van Schijndel RJ, Thijs LG. Age, chronic disease, sepsis, organ system failure, and mortality in a medical intensive care unit. *Crit Care Med.* 1990; 18(5):474-9.
84. Vincent JL, de Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, Sprung CL, Colardyn F, Blecher S. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med.* 1998; 26(11):1793-800.
85. Alobaidi R, Basu RK, Goldstein SL, Bagshaw SM. Sepsis-associated acute kidney injury. *Semin Nephrol.* 2015; 35(1):2-11.
86. Huttunen R, Syrjänen J, Vuento R, Hurme M, Huhtala H, Laine J, Pessi T, Aittoniemi J. Plasma level of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor as a predictor of disease severity and case fatality in patients with bacteraemia: a prospective cohort study. *J Intern Med.* 2011; 270(1):32-40.
87. Ostermann M, Joannidis M. Acute kidney injury 2016: diagnosis and diagnostic workup. *Crit Care.* 2016; 20(1):299.
88. Wittenhagen P, Kronborg G, Weis N, Nielsen H, Obel N, Pedersen SS, Eugen-Olsen J. The plasma level of soluble urokinase receptor is elevated in patients with Streptococcus pneumoniae bacteraemia and predicts mortality. *Clin Microbiol Infect.* 2004; 10(5):409-15.
89. Donadello K, Scolletta S, Taccone FS, Covajes C, Santonocito C, Cortes DO, Grazulyte D, Gottin L, Vincent JL. Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor as a prognostic biomarker in critically ill patients. *J Crit Care.* 2014; 29(1):144-9.
90. ARDS Definition Task Force, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, Camporota L, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome: The Berlin Definition. *JAMA.* 2012; 307(23):2526-33.
91. Matthay MA, Ware LB, Zimmerman GA. The acute respiratory distress syndrome. *J Clin Invest.* 2012; 122(8):2731-40.
92. Hendrickson CM, Matthay MA. Endothelial biomarkers in human sepsis: pathogenesis and prognosis for ARDS. *Pulm Circ.* 2018; 8(2):2045894018769876.
93. Goździk W. Ocena aktywacji układu immunologicznego w przebiegu chirurgicznej rewaskularyzacji naczyń wieńcowych z zastosowaniem różnych metod znieczulenia. Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Wrocław 2014. ISBN 978-83-7055-533-7

94. Vincent JL, Zhang H, Szabo C, Preiser JC. Effects of nitric oxide in septic shock. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 161(6):1781-5.
95. Cecconi M, Evans L, Levy M, Rhodes A. Sepsis_and_septic shock. *Lancet*. 2018; 392(10141):75-87.
96. Lee YK, Hwang SY, Shin TG, Jo IJ, Suh GY, Jeon K. Prognostic Value of Lactate and Central Venous Oxygen Saturation after Early Resuscitation in Sepsis Patients. *PLoS One*. 2016; 11(4):e0153305.
97. Greinacher A, Selleng K. Thrombocytopenia in the intensive care unit patient. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2010; 2010:135-43.
98. Thiele T, Selleng K, Selleng S, Greinacher A, Bakchoul T. Thrombocytopenia in the intensive care unit-diagnostic approach and management. *Semin Hematol*. 2013; 50(3):239-50.
99. Levi M, Löwenberg EC. Thrombocytopenia in critically ill patients. *Semin Thromb Hemost*. 2008; 34(5):417-24.
100. Vanderschueren S, De Weerd A, Malbrain M, Vankersschaever D, Frans E, Wilmer A, Bobbaers H. Thrombocytopenia and prognosis in intensive care. *Crit Care Med*. 2000; 28(6):1871-6.
101. Crowther MA, Cook DJ, Meade MO, Griffith LE, Guyatt GH, Arnold DM, Rabbat CG, Geerts WH, Warkentin TE. Thrombocytopenia in medical-surgical critically ill patients: prevalence, incidence, and risk factors. *J Crit Care*. 2005; 20(4):348-53.
102. Tsirigotis P, Chondropoulos S, Frantzeskaki F, Stamouli M, Gkirkas K, Bartzeliotou A, Papanikolaou N, Atta M, et al. Thrombocytopenia in critically ill patients with severe sepsis/septic shock: Prognostic value and association with a distinct serum cytokine profile. *J Crit Care*. 2016; (32):9-15.
103. Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2013; (13):426–435.
104. Anand D, Das S, Bhargava S, Srivastava LM, Garg A, Tyagi N, et al. Procalcitonin as a rapid diagnostic biomarker to differentiate between culture-negative bacterial sepsis and systemic inflammatory response syndrome: A prospective, observational, cohort study. *J Crit Care*. 2015; (30):218. e7–12.
105. Faix JD. Biomarkers of sepsis. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2013; (50):23–36.
106. Zeng M, Chang M, Zheng H, Li B, Chen Y, He W, Huang C. Clinical value of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor in the diagnosis, prognosis, and therapeutic guidance of sepsis. *Am J Emerg Med*. 2016; 34(3):375-80.
107. Muller, B., Harbarth, S., Stolz, D., Bingisser, R., Mueller, C., Leuppi, J. et al, Diagnostic and prognostic accuracy of clinical and laboratory parameters in community-acquired pneumonia. *BMC Infect Dis*. 2007; 7:10.
108. Lorente L, Martin MM, Lopez-Gallardo E, et al. Higher platelet cytochrome oxidase specific activity in surviving than in non-surviving septic patients. *Crit Care Lond Engl*. 2014; 18 (3): R136.

109. Peretz DI, McGregor M, Dossetor JB. Lacticacidosis: A Clinically Significant Aspect of Shock. *Can Med Assoc J.* 1964; 90(11):673-675.
110. Broder G, Weil MH. EXCESS LACTATE: AN INDEX OF REVERSIBILITY OF SHOCK IN HUMAN PATIENTS. *Science.* 1964; 143(3613):1457-1459.
111. Phypers B, Pierce JT. Lactate physiology in health and disease. *Contin Educ Anaesth Crit Care Pain.* 2006; 6(3):128-132.
112. Ewaschuk JB, Naylor JM, Zello GA. d-Lactate in Human and Ruminant Metabolism. *J Nutr.* 2005; 135(7):1619-1625.
113. Mikkelsen ME, Miltiades AN, Gaieski DF, et al. Serum lactate is associated with mortality in severe sepsis independent of organ failure and shock. *Crit Care Med.* 2009; 37(5):1670-1677.
114. Peschanski et al. Prognostic value of PCT in septic emergency patients. *Ann. Intensive Care.* (2016) 6:47.
115. Shin TG, Jo IJ, Hwang SY, Jeon K, Suh GY, Choe E, Lee YK, Lee TR, Cha WC, Sim MS. Comprehensive interpretation of central venous oxygen saturation and blood lactate level during resuscitation of patients with severe sepsis and septic shock in the emergency department. *Shock* (2016); 45; 4-9.
116. Sanquist M, Wong HR. Biomarkers of sepsis and their potential value in diagnosis, prognosis and treatment. *Expert Rev Clin Immunol.* (2014); 10, 1349-1356.
117. Ostrowski SR, Ravn P, Hoyer Hansen G, Ullum H, Andersen AB. Elevated levels of soluble urokinase receptor in serum from mycobacteria infected patients: still looking for a marker of treatment efficacy. *Scand J Infect Dis.* 2006; (38):1028-1032.
118. Mizukami IF, Faulker NE, Gyetko MR, Sitrin RG, Todd RF: Enzyme-linked immunoabsorbent assay detection of soluble form of urokinase plasminogen activator receptor in vivo. *Blood* 1995, (86):203-211.
119. Florquin S, Berg JG, Olszyna DP, Claessen N, Opal SM, Weening JJ, Poll T. Release of urokinase plasminogen activator receptor during urosepsis and endotoxemia. *Kidney Int.* 2001; 59:2054–2061.
120. Yilmaz G, Köksal I, Karahan SC, Mentese A. The diagnostic and prognostic significance of soluble urokinase plasminogen activator receptor in systemic inflammatory response syndrome. *Clin Biochem.* 2011; 44(14-15):1227-30.
121. Ni W, Han Y, Zhao J, Cui J, Wang K, Wang R, Liu Y. Serum soluble urokinase-type plasminogen activator receptor as a biological marker of bacterial infection in adults: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2016; 6:39481.
122. Hoste EA, Bagshaw SM, Bellomo R, Cely CM, Colman R, Cruz DN, Edipidis K, Forni LG, et al. Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study. *Intensive Care Med.* 2015; 41(8):1411-23.
123. Mariscalco, G. et al. Akute kidney injury: A relevant complication after cardiac surgery. *Ann Thorac. Surg.* 2011; 92: 1539-1547.
124. Khwaja A. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury *Nephron Clin Pract.* 2012; 120(4):c179-84.

125. Hayek SS. Et al. Soluble Urokinase receptor and chronic kidney disease. *N Engl J Med.* 2015; 373: 19-16-25.
126. Hall A, Crichton S, Varrier M, Bear DE, Ostermann M. suPAR as a marker of infection in acute kidney injury - a prospective observational study. *BMC Nephrol.* 2018; 19(1):191.
127. Nussbag C, Rupp C, Schmitt F, Krautkrämer E, Speer C, Kälble F, Tamulyte S, Bruckner T, et al. Cell Cycle Biomarkers and Soluble Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor for the Prediction of Sepsis-Induced Acute Kidney Injury Requiring Renal Replacement Therapy: A Prospective, Exploratory Study. *Crit Care Med.* 2019.
128. Mossanen JC, Pracht J, Jansen TU, Buendgens L, Stoppe C, Goetzenich A, Struck J, Autschbach R, et al. Elevated Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor and Proenkephalin Serum Levels Predict the Development of Acute Kidney Injury after Cardiac Surgery. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(8).
129. Kofoed K, Andersen O, Kronborg G, Tvede M, Petersen J, Eugen-Olsen J, Larsen K: Use of plasma C-reactive protein, procalcitonin, neutrophils, macrophage migration inhibitory factor, soluble urokinase-type plasminogen activator receptor, and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in combination to diagnose infections: a prospective study. *Crit Care.* 2007; 11: R38.
130. Molkanen T, Ruotsalainen E, Thorball CW, Jarvinen A: Elevated soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) predicts mortality in Staphylococcus aureus bacteremia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011; 30: 1417-1424.
131. Donadello K, Covajes C, Scolletta S, Taccone FS, Santonocito C, Brimiouille S, Beumier M, Vannuffelen M, Gottin L, Vincent JL: Clinical value of suPAR, a new biomarker. *Intensive Care Med.* 2011; 37: S199-(abst).
132. Djoba Siawaya JF, Ruhwald M, Eugen-Olsen J, Walzl G: Correlates for disease progression and prognosis during concurrent HIV/TB infection. *Int J Infect Dis.* 2007; 11: 289-299.
133. Lawn SD, Myer L, Bangani N, Vogt M, Wood R: Plasma levels of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) and early mortality risk among patients enrolling for antiretroviral treatment in South Africa. *BMC Infect Dis.* 2007; 7: 41-10.
134. Ostrowski SR, Ullum H, Goka BQ, Hoyer-Hansen G, Obeng-Adjei G, Pedersen BK, Akanmori BD, Kurtzhals JA: Plasma concentrations of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor are increased in patients with malaria and are associated with a poor clinical or a fatal outcome. *J Infect Dis.* 2005; 191: 1331-1341.
135. Eugen-Olsen J, Gustafson P, Sidenius N, Fischer TK, Parner J, Aaby P, Gomes VF, Lisse I: The serum level of soluble urokinase receptor is elevated in tuberculosis patients and predicts mortality during treatment: a community study from Guinea-Bissau. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2002; 6: 686-692.
136. Hodges GW, Bang CN, Wachtell K, et al. suPAR: a new biomarker for cardiovascular disease? *Can J Cardiol* 2015; 31:1293–302.

137. Hodges GW, Bang CN, Eugen-Olsen J, Olsen MH, Boman K, Ray S, Kesaniemi AY, Jeppesen J, Wachtell K. SuPAR predicts postoperative complications and mortality in patients with asymptomatic aortic stenosis. *Open Heart* 2018; 5(1): e000743.

10. STRESZCZENIE

Systematyczny wzrost częstości występowania sepsy na świecie sprawia, że jest ona jedną z najczęstszych przyczyn hospitalizacji i zgonów pacjentów w oddziałach intensywnej terapii.

Z uwagi na osobniczo zmienny przebieg sepsy i złe rokowanie pacjentów, bardzo ważne jest jej wczesne rozpoznanie. Celowi temu służą liczne wskaźniki biochemiczne zwane biomarkerami. Poza klasycznymi markerami takimi jak prokalcytonina i białko C-reaktywne, prowadzone są badania nad przydatnością diagnostyczną i prognostyczną nowych cząsteczek biologicznych, między innymi rozpuszczalnego receptora dla urokinazowego aktywatora plazminogenu (suPAR). Białko to pochodzące z enzymatycznego trawienia białka błonowego komórek układu immunologicznego występuje we wszystkich płynach ustrojowych. Jego wytwarzanie wzrasta w trakcie procesów stymulujących układ odpornościowy, między innymi podczas zakażenia, ale również w procesach nowotworowych, chorobach cywilizacyjnych, jak miażdżyca oraz procesów stymulujących reakcję zapalną, np.: krążenie pozaustrojowe, uraz chirurgiczny.

Celem badania było:

1. Określenie przydatności diagnostycznej i prognostycznej monitorowania stężeń suPAR w populacji pacjentów septycznych leczonych na oddziale intensywnej terapii.
2. Określenie dynamiki i wartości prognostycznej suPAR w populacji pacjentów poddawanych planowej operacji serca z zastosowaniem krążenia pozustrojowego.
3. Zbadanie przydatności klinicznej seryjnego pomiaru stężenia suPAR u pacjentów w sepsie i wstrząsie septycznym.
4. Zbadanie wartości prognostycznej suPAR w relacji do innych monitorowanych biomarkerów sepsy, stężenia mleczanów oraz skal APACHE II i SOFA.
5. Określenie przydatności klinicznej wszystkich mierzonych wskaźników w ocenie prognozy wyleczenia i przeżycia pacjentów septycznych leczonych na oddziale intensywnej terapii.

Materiał i metoda: Analizie poddano pacjentów oddziału intensywnej terapii w Klinice Anestezjologii i Intensywnej Terapii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu hospitalizowanych w okresie od marca do grudnia 2016 roku. Pacjentów podzielono na dwie grupy. Grupę septyczną, w której znalazły się 51 osoby, stanowili pacjenci z rozpoznaną sepsą lub wstrząsem septycznym. W grupie kardiologicznej znalazło się ostatecznie 19 pacjentów hospitalizowanych w OIT po planowych zabiegach kardiochirurgicznych.

Dokonano oceny parametrów klinicznych oraz konieczności użycia inwazyjnych technik terapeutycznych. W ocenie markerów stanu zapalnego analizowano stężenia Prokalcytoniny, CRP i suPAR. Dodatkowo chorych poddano ocenie za pomocą skal APACHE II i SOFA. W grupie septycznej pomiarów dokonywano po przyjęciu do OIT (doba 0) oraz w 3, 5, 7, 10 dobie pobytu, a w grupie kardiologicznej w 0, 1, 2, 3 dobie pobytu. Punkty czasowe 0 i 3 były wspólne dla obu grup badanych.

Wyniki: wartość wyjściowa suPAR oraz poziom w 3 dobie były wyższe w grupie septycznej niż w grupie kardiologicznej, odpowiednio 10,865 vs 3,663 oraz 9,726 vs 4,832. Nie obserwowano różnic statystycznych w poziomie suPAR pomiędzy pacjentami z sepsą i wstrząsem septycznym. Jednak pacjenci wymagający użycia technik nerkozastępczych w przebiegu sepsy mieli przeszło dwukrotnie wyższy poziom suPAR (15,783 vs 7,65). Spośród markerów zapalenia jedynie poziom prokalcytoniny był istotnie wyższy w grupie septycznej, w porównaniu z grupą kardiologiczną: 6,575 vs 0,1 oraz 3,03 vs 1,16 odpowiednio w pomiarze 0 i 3. Wartość prognostyczna 28-dniowej śmiertelności była istotna statystycznie zarówno dla skali APACHE (AUC ROC 0,725), skali SOFA (AUC ROC 0,707) i stężeń suPAR (AUC ROC 0,655).

Wnioski:

1. W sepsie i wstrząsie septycznym stwierdza się podwyższone wartości suPAR, a wartość prognostyczna przeżycia 28-dniowego jest istotna przy stężeniach powyżej 18,38 ng/ml.
2. Stężenia suPAR w grupie pacjentów poddawanych planowej operacji serca z zastosowaniem krążenia pozaustrojowego nie wykazują istotnych wahań w analizowanym wczesnym okresie okołoperacyjnym.
3. Stwierdzany, podwyższony poziom suPAR przed zabiegiem operacyjnym, w tej grupie pacjentów może wynikać z przewlekłego stanu zapalnego jaki towarzyszy miażdżycy.
4. Nie ma różnic w poziomie suPAR u pacjentów z sepsą i wstrząsem septycznym.
5. Przydatność kliniczna seryjnego pomiaru stężenia suPAR u pacjentów w sepsie i wstrząsie septycznym nie przewyższa wartości skali SOFA.
6. Wartości wyjściowe stężeń suPAR wykazywały większą zdolność do predykcji 28-dniowej śmiertelności, w porównaniu do oznaczeń poziomu leukocytów, CRP czy PCT.
7. U pacjentów septycznych, wymagających ciągłych terapii nerkozastępczych, stężenia suPAR są istotnie wyższe, w grupie tej notuje się również istotnie wyższą śmiertelność.

8. Stwierdzone zależności pomiędzy stężeniami suPAR i innymi analizowanymi markerami sepsy, mogą wskazywać na ich przydatność w wielomarkerowej ocenie nasilenia i rozwoju sepsy, jednak ta hipoteza wymaga dalszej weryfikacji.

Podsumowanie:

Przydatność oznaczeń stężeń suPAR, jako wczesnego markera diagnostycznego sepsy jest ograniczona. Jednak jego użyteczność w prognozowaniu 28-dniowej śmiertelności przewyższa klasyczne biomarkery zakażenia i jest zbliżona do oceny wg. skal punktowych SOFA i APACHE II. Dodatkowo wykazano przydatność suPAR w ocenie prognozowania przeżycia pacjentów wymagających terapii nerkozastępczych w przebiegu sepsy.

12. SUMMARY

Systematically growing incidence of the sepsis all around the World makes it one of the commonest reasons of admission to the ICUs and death of the patients.

Due to the individual course and poor prognosis of the septic patients it became very important to diagnose sepsis as soon as possible. Many biochemical indicators known as biomarkers are useful in setting up the diagnosis. Despite of classical biomarkers like procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) many clinical trials are being held to describe diagnostic and prognostic usefulness of new biomarkers. One of these investigated biomarkers is the soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR). This protein is being released after enzymatic cleavage from superficial protein present on cell membrane of immune system cells. Cleaved form is present in physiological fluids. Its concentration increases during processes leading to immune system activation like infection but also in neoplastic growth, civilization diseases like arteriosclerosis or conditions which are stimulating systemic inflammatory reaction like extracorporeal circulation or surgical injury.

The aims of the study were:

1. To describe diagnostic and prognostic usefulness of concentration monitoring of suPAR in population of patients treated in ICU;
2. To describe dynamics and prognostic value of suPAR in population of patients undergoing heart surgery with extracorporeal circulation;
3. To evaluate clinical usefulness of serial measurements of suPAR concentration in septic and septic shock patients
4. To estimate prognostic value of suPAR in relation to other sepsis biomarkers, lactate levels and APACHE II and SOFA scales
5. To evaluate clinical usefulness of all measured indicators in assessment of prognosis and survival of septic patients treated in ICU

Material and method:

Patients of the Intensive Care Unit of the University Hospital in Wrocław admitted between March and December 2016 were analyzed. Those patients were divided into two groups. The first called septic was composed of 51 patients with diagnosed sepsis or septic shock. To the second group called cardiologic finally 19 patients after scheduled cardiosurgical procedures were included. Vital signs, clinical parameters and a need of invasive treatment were being analyzed. In the evaluation of sepsis biomarkers procalcitonin, CRP and suPAR were used. Additionally, patients were assessed with APACHE II and SOFA scores. In the septic group measurements were performed at the time of admission (0 point) and on the 3, 5, 7 and 10 day of hospitalization in the ICU. Cardiologic patients had the measurements taken on the 0, 1, 2, 3 day of stay. Points 0 and 3 were common for both groups.

Results:

Initial values of suPAR and level in the third day were significantly higher in the septic group in comparison to the cardiologic group. Respectively 10,865 vs 3,663 and 9,726 vs 4,832. Statistical differences were not observed between subpopulation with sepsis and septic shock in the septic group. Nevertheless, patients requiring renal replacement therapies in the course of sepsis had double high levels of suPAR comparing to the patients who did not need the RRT (15,783 vs 7,65). Among the inflammatory markers only levels of procalcitonin were significantly higher in the septic group in comparison to the cardiologic group. This regularity was observed at 0 point and on the 3 day, respectively 6,575 vs 0,1 and 3,03 vs 1,16. Prognostic value of 28th day mortality rate was statistically important for APACHE II score (AUC ROC 0,725), for SOFA score (AUC ROC 0,707) and concentration of suPAR (AUC ROC 0,655).

Conclusions:

1. In sepsis and septic shock suPAR levels are increased and 28th day mortality rate is important with levels of suPAR above 18,38 ng/ml.
2. suPAR concentration in the group of patients undergoing scheduled cardiosurgery procedures with extracorporeal circulation does not fluctuate in the early perioperative period.
3. Determined increased level of suPAR in cardiologic group before surgical procedure is being considered as an effect of chronic inflammation due to arteriosclerosis.
4. There were no differences in suPAR levels between septic and septic shock patients.
5. Clinical usefulness of serial suPAR measurements in septic patients is not higher than SOFA score evaluation.
6. Baseline suPAR level had higher predictive values as 28th day mortality rate than leucocyte levels, CRP or procalcitonin.
7. Septic patients requiring renal replacement therapies had statistically higher levels of suPAR and higher mortality rate was observed in this group of patients.

8. Determined relations between suPAR and other inflammatory markers might be useful in multimarkers analysis method for assessment of intensity and sepsis development. This hypothesis needs to be verified by further studies.

Usefulness of suPAR concentration as an early diagnostic marker of sepsis is limited. Nevertheless, its prognostic utility of 28th day mortality rate is higher than classical inflammation markers and is almost as accurate as SOFA and APACHE II score assessment. Furthermore, its usefulness in survival prognosis of septic patients requiring RRT was demonstrated.