

# Prognostička uloga cirkulirajućeg kalprotektina u predviđanju sepse

---

**Glibanović, Mihaela**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:791766>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-27**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO  
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Mihaela Glibanović**

**PROGNOSTIČKA ULOGA  
CIRKULIRAJUĆEG KALPROTEKTINA  
U PREDVIĐANJU SEPSE**

**Završni rad**

**Osijek, 2022.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO  
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Mihaela Glibanović**

**PROGNOSTIČKA ULOGA  
CIRKULIRAJUĆEG KALPROTEKTINA  
U PREDVIĐANJU SEPSE**

**Završni rad**

**Osijek, 2022.**

Rad je ostvaren u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Mentor rada: doc.dr.sc.Vatroslav Šerić, mag.med.biochem.

Neposredni voditelj: Ines Šahinović, spec.med. biokemije i laboratorijske medicine

Rad ima 30 listova, 4 tablice i 8 slika.

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Sepsa .....	1
1.2. Definicija trećeg konsenzusa za sepsu i septični šok (Sepsis-3) .....	2
1.3. Biljezi sepse .....	3
1.4. Kalprotektin .....	4
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....	6
3. ISPITANICI I METODE .....	7
3.1. Ustroj sudije .....	7
3.2. Ispitanici .....	7
3.3. Metode .....	7
3.4. Statističke metode .....	7
3.5. Dijagnostičke metode .....	8
4. REZULTATI .....	10
5. RASPRAVA .....	21
6. ZAKLJUČCI .....	25
7. SAŽETAK .....	26
8. SUMMARY .....	27
9. LITERATURA .....	28
10. ŽIVOTOPIS .....	30

## **Popis Kratica**

AM – aritmetička sredina (engl. *Aritmetic Mean*)

Ag – antigen

At – antitijelo

AUC – površina ispod krivulje (engl. *Area Under the Curve*)

CD14 – klaster diferencijacije 14 (engl. *Cluster of Differentiation 14*)

CI – interval pouzdanosti (engl. *Confidence Interval*)

CircCPRO – cirkulirajući kalprotektin (engl. *Circulating Calprotectin*)

CLIA – kemiluminiscentna imunokemijska metoda (engl. *Chemiluminescence Immunoassay*)

CRP – C-reaktivni protein (engl. *C-Reactive Protein*)

IL-6 – interleukin 6 (engl. *Interleukin 6*)

IQR – interkvartilni raspon (eng. *Interquartile Range*)

Lkc – leukociti

MAPK – put protein kinaze aktivirane mitogenom (engl. *Mitogen-Activated Protein Kinase*)

NF- $\kappa$ B – nuklearni faktor kapa B (engl. *Nuclear Factor kappa B*)

OR – omjer izgleda (engl. *Odds Ratio*)

PI3 – fosfatidilinozitol 3-kinaza (engl. *Phosphoinositide 3-kinase*)

PCT – prokalcitonin (engl. *Procalcitonin*)

qSOFA – brza procjena sekvencijalnog zatajenja organa (engl. *quick Sequential Organ Failure Assessment*)

RAGE – receptor za krajnje produkte napredne glikacije (engl. *Receptor for Advanced Glycation Endproducts*)

RLU – relativna svjetlosna jedinica (engl. *Relative Light Unit*)

ROC – krivulja osjetljivosti (engl. *Receiver Operating Characteristic*)

RR – relativni rizik (engl. *Relative Risk*)

sCD14 – topljivi fragment CD14 (engl. *Soluble CD14*)

sCD14-ST – presepsin (engl. *Soluble CD14 subtype presepsin*)

SD – standardna devijacija (engl. *Standard Deviation*)

SIRS – sindrom sistemskog upalnog odgovora (engl. *Systemic Inflammatory Response Syndrome*)

SOFA – procjena sekvencijalnog zatajenja organa (engl. *Sequential Organ Failure Assessment*)

S100A8 – protein S100A8 (kalgranulin A)

S100A9 – protein S100A9 (kalgranulin B)

TLR4 – receptor sličan toll-u 4 (engl. *Toll Like Receptor 4*)

## 1. UVOD

### 1. UVOD

#### 1.1. Sepsa

Sepsa je generalizirana upalna reakcija koja nastaje kao posljedica prodora bakterija, gljivica ili njihovih toksina u krvotok i posljedičnog općeg upalnog odgovora koji se razvija kao oslobađanje citokina (1).

Sepsa nastaje kao rezultat interakcije mikroorganizama sa svojim čimbenicima virulencije i obrambenog sustava organizma domaćina (1). Simptomi sepse u početku mogu biti neprepoznati jer nisu specifični. Najčešći simptomi i oni koji se prvi uočavaju su visoka tjelesna temperatura i groznica (2). Kako se upala širi, javljaju se i drugi simptomi poput ubrzanog rada srca, ubrzanog i plitkog disanja, pojačanog znojenja, vrtoglavice, opće slabosti i jake mučnine, te bolova u mišićima uz hladnu kožu (2).

Sepsa se može pojaviti u svim dobnim skupinama, međutim, incidencija je najveća kod novorođenčadi i starijih osoba (1). Također pojavnost sepse je učestalija kod muškaraca u odnosu na žene. Sepsa je među najčešćim uzrocima smrtnog ishoda. Prema odluci Svjetske zdravstvene organizacije, 2017. godine sepsa je uvrštena na listu globalnih zdravstvenih prioriteta (2). Smrtnost ovisi o kliničkoj slici i razvoju komplikacija septičnog šoka praćenog multiorganskim zatajenjem, hipotermijom, diseminiranom intravaskularnom koagulacijom, te cirkulacijskim šokom.

S obzirom na ulazno mjesto razlikujemo primarnu sepsu, kod koje je ulazno mjesto nepoznato, te sekundarnu kod koje je dokazano infektivno žarište iz kojeg je došlo do prodora bakterije u krv. Sepsu je moguće podijeliti i s obzirom na mjesto aktiviranja, na izvanbolničke i bolničke sepse. Enterobakterije su uzročnici oko trećine sepse aktiviranih izvan bolnica, a među njima daleko najveći broj uzrokuje *Escherichia coli* (1). Sepsa uzrokovana *E. coli* najčešće je sekundarna, a u najvećem postotku nastaje kao posljedica infekcije mokraćnih puteva. Iako kod izvanbolničkih sepsi počinje rasti udio gram-pozitivnih sepse, kod bolničkih sepsi gram-negativne bakterije, poput *Pseudomonas aeruginosa* uzročnici su 50 – 70 % slučajeva sepse.

Patogeneza sepse je složena i posljedica je djelovanja bakterijskih produkata i oslobađanja medijatora upale. Za razvoj sepse, moraju biti zadovoljena dva osnovna preduvjeta: virulentnost uzročnika i oslabljena otpornost domaćina (1).



## 1. UVOD

Nastanak i razvoj sepse sprječavaju urođeni mehanizmi zaštite organizma poput kože i sluznice respiratornog i gastrointestinalnog trakta. Međutim, takva zaštita je narušena kod bolesnika s opeklinama, ranama, kod bolesnika koji primaju citostatike, te također kod bolesnika nakon kirurških zahvata. Nakon ulaska u organizam uzročnik infekcije može ostati lokaliziran ili može izazvati sustavnu upalnu reakciju djelovanjem toksina, enzima, te dijelova strukture, osobito stanične stijenke (1). Ako stečeni i urođeni mehanizam zaštite od infekcije ne lokalizira upalu, dolazi do stvaranja septičnih žarišta u raznim organima. U središtu zbivanja je stvaranje i oslobađanje proupalnih medijatora (citokina, interleukina i kemokina). Glavna oštećenja nastaju na malim krvnim žilama, jer proupalni citokini potiču stvaranje dušikova oksida koji dovodi do vazodilatacije malih krvnih žila (1). Posljedica toga je pad vaskularne rezistencije i hipotenzija. Uslijed pada tlaka raste srčana frekvencija, a zbog dilatacije srca rastu udarni i minutni volumen (1). Tu fazu nazivamo hiperdinamička faza sepse. Ukoliko sustavi kompenzacije ne suzbiju ovo stanje, u kasnijem tijeku razvoja sepse supresija kontraktilnosti miokarda može postati izražena, te uzrokovati značajno smanjenje srčanog minutnog volumena i periferne vazokonstrukcije (1). Ovu drugu fazu, nazivamo hipodinamička faza sepse. Ona je povezana s većom smrtnošću.

U slučaju sumnje na razvoj sepse neophodna je temeljita klinička, radiološka i laboratorijska obrada oboljelog bolesnika. Važno je postaviti dijagnozu u što kraćem vremenskom roku, jer se pravovremenim liječenjem smanjuje mogućnost razvoja komplikacija sepse i smrtnog ishoda.

### 1.2. Definicija trećeg konsenzusa za sepsu i septični šok (Sepsis-3)

Prema sepsis-3 konsenzusu sepsa je definirana kao po život opasna disfunkcija organa uzrokovana nereguliranim odgovorom domaćina na infekciju (3). Disfunkcija organa predstavlja se praćenjem skora sekvencijske procjene zatajenja organa (SOFA, engl. *Sequential Organ Failure Assessment*). Procjena SOFA skora za 2 i više bodova povezana je s većom smrtnošću. Praćenje SOFA skora je najprikladnije za bolesnike smještene u jedinicama intenzivnog liječenja, a za one bolesnike koji se nalaze izvan bolnice ili u otvorenim bolničkim odjelima primjenjuje se brzi SOFA sustav bodovanja (qSOFA, engl. *quick Sequential Organ Failure Assessment*) (3). Za definiciju sepse pomoću qSOFA trebaju biti prisutna najmanje dva klinička kriterija od iduća tri, a to su: brzina disanja  $> 22$  udisaja u minuti, promjena mentalnog statusa ili sistolički tlak  $\leq 100$  mmHg (3).

## 1. UVOD

Septični šok je definiran kao podskup sepse u kojem se produbljuju cirkulacijski, stanični i metabolički poremećaji povezani s većim rizikom od smrtnosti (3).

Bolesnici koji razviju stanje septičnog šoka trebaju vazopresore za održavanje srednjeg arterijskog tlaka od 65 mmHg ili više. Na razvoj septičnog šoka moguće je posumnjati i u slučaju koncentracije serumskog laktata većom od 2 mmol/L u odsutnosti hipovolemije (3). Ova navedena kombinacija pokazala je povezanost s rizikom od smrtnog ishoda većim od 40 %.

### 1.3. Biljezi sepse

Za dijagnozu sepse, terapiju, ali i predviđanje razvoja važni su biljezi sepse. Mnogi su potencijalni biljezi sepse, u laboratorijskoj obradi infekcija i sepse najčešće se određuju upalni biljezi prokalcitonin (PCT, engl. *Procalcitonin*) i C-reaktivni protein (CRP, engl. *C-Reactive Protein*). Osim PCT-a i CRP-a, proučavaju se i interleukin 6 (IL-6, engl. *Interleukin 6*) i presepsin. Postoji veliki broj biljega sepse, ali i dalje nije u potpunosti poznata njihova uloga u sepsi. Kako bi se njihova uloga razjasnila provode se brojna istraživanja u kojima se biljezi uspoređuju i određuju se njihove razlike kako bi se zaključilo koji je najspecifičniji za sepsu.

Koncentracija biljega upale CRP-a i PCT-a povišena je tijekom sepse (4). Međutim, ova dva biljega imaju ograničene mogućnosti u razlikovanju sepse od ostalih upalnih stanja, kao i u ranom predviđanju neželjenih ishoda sepse (4). Postoje istraživanja koja su pokazala da je određivanje koncentracije PCT-a korisnije u isključivanju sepse, nego u dijagnozi (4). Također, dokazano je da je proučavanje vremenskog tijeka koncentracije ova dva biljega korisno za procjenu odgovora pacijenta na terapiju (4).

CRP je protein koji se sintetizira kao odgovor na infekciju i upalu. CRP je pozitivni reaktant akutne upale, a njegovu sintezu u jetri potiče IL-6. Kao biljeg koristi se najviše za ukazivanje na prisutnost upale ili infekcije kod djece, dok je kod odraslih njegova niska specifičnost primarni nedostatak kao biljega sepse (5).

PCT je prohormon kalcitonina. Oslobađa se iz parenhimskih stanica brojnih organa uključujući jetru, bubrege, adipocite i mišićne stanice kao odgovor na bakterijske toksine. U odgovoru na infekciju prokalcitonin u serumu poraste unutar 2 – 4 sata i do 5000 puta (5).

PCT je specifičniji i osjetljiviji biljeg sepse u odnosu na CRP, ali njegove povišene koncentracije nisu definitivni dokaz sepse, budući da može biti povišen i u drugim stanjima poput lokalnih infekcija kao što je infekcija zuba, ali i kod teških trauma i operacija.

## 1. UVOD

Biološki poluživot PCT-a je 22 do 26 sati. Istraživanjima je dokazano kako je najkorisnija primjena PCT-a uporaba njegovih sekvencijalnih razina kako bi se utvrdilo može li se antibakterijska terapija prekinuti (5).

Presepsin je obećavajući biljeg za dijagnozu i praćenje sepse. Klaster diferencijacije 14 (CD14, engl. *Cluster of Differentiation 14*) je glikoprotein eksprimiran na površini membrane monocita i makrofaga, gdje služi kao receptor za lipopolisaharide i proteine. CD14 ima ulogu molekule za prepoznavanje u urođenom imunološkom odgovoru na mikroorganizme. Tijekom upale, aktivirane serumske proteaze stvaraju topljive fragmente CD14 (sCD14, engl. *Soluble CD14*). Podtip sCD14, sCD14-ST (engl. *Soluble CD14 Subtype*) naziva se presepsin. Presepsin je normalno prisutan u vrlo niskoj koncentraciji u serumu zdravih osoba (6). Njegova koncentracija povećava se kao odgovor na bakterijsku infekciju. U jednom istraživanju koje je uključivalo 106 pacijenata sa sumnjom na sepsu ili septični šok i 83 pacijenta sa sindromom sistemskog upalnog odgovora (SIRS, engl. *Systemic Inflammatory Response Syndrome*) bez infekcije, u septičnih pacijenata opažena je povećana koncentracija presepsina u usporedbi s kontrolnom skupinom ispitanika (5). Istraživanje je pokazalo kako je presepsin koristan biljeg za ranu dijagnozu sepse i procjenu prognoze u septičnih bolesnika (5). Neke studije pokazale su kako funkcija bubrega može utjecati na koncentraciju presepsina. Presepsin se filtrira u bubrezima i koncentracija u krvi ovisi o bubrežnoj funkciji. Kod septičnih bolesnika bez akutne bubrežne insuficijencije koncentracija presepsina je značajno povišena i u takvoj situaciji presepsin je pouzdan biljeg sepse, ali kod oboljelih od akutne bubrežne insuficijencije ne može biti pouzdan biljeg sepse (7).

IL-6 je proupalni citokin i jedan od ključnih sudionika u posredovanju upalne reakcije. Služi kao važan posrednik akutne faze odgovora na upalu u sepsi (8). Nedavna studija je pokazala kako je IL-6 dijagnostički biljeg infekcije, kao i prognostički biljeg u bolesnika s disfunkcijom organa (8). Daljnja istraživanja pokazala su kako IL-6 ne može u potpunosti služiti kao biljeg u razlikovanju sepse od SIRS-a u odraslih (8).

### 1.4. Kalprotektin

Kalprotektin je heterodimerni protein koji veže kalcij i čini 60 % topljivih proteina citosola neutrofilnih granulocita koji ga oslobađaju nakon aktivacije. Građen je od dvije podjedinice, kalgranulina A (protein S100A8) i kalgranulina B (protein S100A9) (6). Kalprotektin se oslobađa iz aktiviranih stanica nakon vezanja receptora na površini stanice poput receptora za krajnje produkte napredne glikacije (RAGE, engl. *Receptor for Advanced Glycation*

## 1. UVOD

*Endproducts*) i receptora sličanog toll-u 4 (TLR4, engl. *Toll Like Receptor 4*) (6). Sudjeluje u upalnim procesima putem signalnih puteva poput puta protein kinaze aktivirane mitogenom (MAPK, engl. *Mitogen-Activated Protein Kinase*), puta nukleranog faktora kappa B (NF- $\kappa$ B engl. *Nuclear Factor kappa B*) i puta fosfatidilinzitol 3-kinaze (PI3K, engl. *Phosphoinositide 3-kinase*) (6).

Kalprotektin također sudjeluje i u raznim staničnim procesima, poput staničnog ciklusa, proliferacije, diferencijacije i preživljavanja stanica, a budući da je kalcij vezujući protein uključen je i u regulaciju homeostaze kalcija.

Fekalni kalprotektin je utvrđeni biljeg neutrofilima posredovane upale crijevne sluznice jer je u korelaciji s brojem infiltrirajućih neutrofila i težinom crijevne upale (9). Također se koristi i kao biljeg u serumu kod nekih upalnih bolesti kao što su juvenilni reumatoidni artritis i sistemski eritematozni lupus.

Budući da je jedan od glavnih izvora lučenja proteina S100A8 i S100A9 upala uzrokovana infekcijom, utvrđeno je da je koncentracije kalprotektina u serumu povišena tijekom bakterijskih infekcija (9). Oba S100 proteina sudjeluju u urođenoj imunosti i posreduju regulaciju neutrofila i oslobađanje citokina, što su mehanizmi bitni u upalnim odgovorima i imunološkoj obrani (10).

S obzirom na njegovu ulogu u bakterijskim infekcijama i rano oslobađanje, kalprotektin bi mogao imati važnu ulogu u praćenju i liječenju pacijenata oboljelih od sepse, kao i postati prognostički biljeg u kritično bolesnih pacijenata.

## 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

### 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Glavni cilj:

Cilj ovog istraživanja je ispitati prognostičku ulogu cirkulirajućeg kalprotektina u ranoj prognozi smrtnog ishoda sepse.

Specifični ciljevi:

1. Ispitati razlike u koncentraciji cirkulirajućeg kalprotektina ispitanika koji su preživjeli u odnosu na ispitanike koji su preminuli.
2. Usporediti dobivene koncentracije cirkulirajućeg kalprotektina sa standardnim pokazateljima sepse.
3. Ispitati dijagnostičku ulogu cirkulirajućeg kalprotektina u ranoj fazi sepse.

### 3. ISPITANICI I METODE

#### 3. ISPITANICI I METODE

##### 3.1. Ustroj sudije

Studija je ustrojena kao istraživanje parova.

##### 3.2. Ispitanici

U istraživanje je uključeno 108 ispitanika starijih od 50 godina, 78 ispitanika s potvrđenom dijagnozom sepse čiji su uzorci zaprimljeni i obrađeni u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek, te 30 zdravih ispitanika koji čine kontrolnu skupinu.

Za praćeni ishod odabran je smrtni ishod, te se pratila i ocjenjivala uloga cirkulirajućeg kalprotektina u ranoj prognozi smrtnog ishoda.

Ispitanici su uključeni u istraživanje tek po potvrdi dijagnoze sepse, te se u uzorcima koji su zaprimljeni po prijemu ispitanika u bolnicu odredila koncentracija cirkulirajućeg kalprotektina, a vrijednosti standardnih upalnih pokazatelja (krvna slika, CRP, PCT i IL-6) preuzete su iz laboratorijskog informatičkog sustava.

Trideset uzoraka plazmi zdravih ispitanika koje čine kontrolnu skupinu uzeto je uz dobrovoljni pristanak na uzorkovanje krvi, te su ispitanici potpisali pisani pristanak. Uzorci su uzeti samo za istraživanje, te je ispitanicima objašnjeno u koju svrhu im se vadi krv. Iz tih uzoraka određene su koncentracije cirkulirajućeg kalprotektina.

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Osijek Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku na 2. sjednici održanoj dana 12. studenog 2021. godine.

##### 3.3. Metode

Podatci za istraživanje (spol, laboratorijski nalazi, ishod bolesti) prikupljeni su iz povijesti bolesti.

##### 3.4. Statističke metode

Rezultati su se obradili statističkim testom MedCalc (MedCalc Software, Ostend, Belgium), te su prikazani u tablicama i grafikonima.

Numerički podatci prikazani su medijanom i interkvartilnim rasponom budući da se analizom varijabli Shapiro-Wilkov testom pokazala neparametrijska raspodjela podataka.

### 3. ISPITANICI I METODE

Usporedba raspodjele muškaraca i žena u skupinama testirala se hi-kvadrat testom.

Razlike između dvije nezavisne skupine numeričkih podataka testirane su neparametrijskim Mann-Whitney U testom, dok su razlike između tri nezavisne skupine numeričkih podataka testirane neparametrijskim Kruskal-Wallis testom. Povezanost numeričkih varijabli testirana je Spearmanovim testom korelacije.

Logističkom regresijskom analizom ispitane su pojedine predikcijske varijable (cirkulirajući kalprotektin (CircCPRO, engl. *Circulating Calprotectin*), CRP, PCT, IL-6 i leukociti) za ishod bolesti.

Krivuljom osjetljivosti (ROC, engl. *Receiver Operating Characteristic*) određena je specifičnost i osjetljivost CircCPRO-a u prognozi smrtnog ishoda sepse, te također dijagnostička specifičnost i osjetljivost CircCPRO-a u ranom prepoznavanju sepse.

Računanjem relativnog rizika (RR, engl. *Relative Risk*) analiziralo se je li CircCPRO faktor rizika smrtnog ishoda.

Sve P vrijednosti su dvostrane, a razina značajnosti postavljena je na  $P < 0,05$ .

#### 3.5. Dijagnostičke metode

Za mjerenje koncentracije cirkulirajućeg kalprotektina koristila se kemiluminiscentna imunokemijska metoda (CLIA, engl. *Chemiluminescence Immunoassay*) na BIO-FLASH analizatoru.

Metoda se temelji na interakciji antigena (Ag) i antitijela (At). Zbog iznimne specifičnosti reakcije između antigena i antitijela, imunokemijske metode karakterizira osjetljivost, reproducibilnost i jednostavnost.

CLIA je sendvič-metoda s kemiluminiscencijskom detekcijskom metodom.

Paramagnetske kuglice obložene su protutijelima koja su specifična za kalprotektin. Kuglice se nalaze u uvjetima koji čuvaju protutijelo u reaktivnom stanju.

U prvom koraku uzorak plazme pacijenta razrijeđuje se u omjeru 1 : 10. Alikvot razrijeđenog uzorka bolesnika, kuglice sa specifičnim protutijelima i pufer pomješaju se u drugoj kiveti i inkubiraju na 37 °C. Kuglice se zatim magnetiziraju i ispiru nekoliko puta. Sekundarno protutijelo specifično za kalprotektin konjugirano s izoluminolom dodaje se u kivetu. Reakcijska smjesa se inkubira na 37 °C, nakon čega slijedi drugi korak ispiranja.

### 3. ISPITANICI I METODE

Izoluminol konjugat proizvodi luminiscentnu reakciju kada se u kivetu dodaju "Trigger" reagensi. BIO-FLASH optički sustav mjeri svjetlo proizvedeno ovom reakcijom i izražava ga u relativnim svjetlosnim jedinicama (RLU, engl. *Relative Light Unit*). Vrijednosti RLU su proporcionalne količini vezanog konjugata izoluminola, što je proporcionalno količini kalprotektina vezanog na površini kuglica.

Za analizu cirkulirajućeg kalprotektina na BIO-FLASH analizatoru koristi se unaprijed definirana krivulja koja je specifična za lot, a koja se učitava u instrument pomoću barkoda. Nakon što se izvrši kalibracija instrumenta, kreira se radna krivulja pomoću koje se izračunavaju koncentracije kalprotektina u  $\mu\text{g/ml}$  za svaki uzorak ispitanika.



## 4. REZULTATI

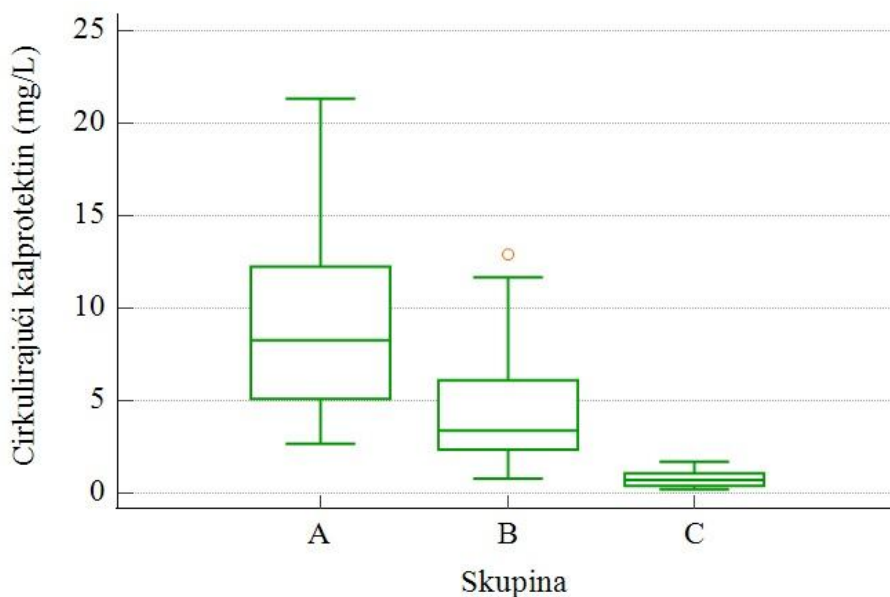
### 4. REZULTATI

Ispitanici s potvrđenom dijagnozom sepse podjeljeni su u dvije skupine – 39 preminulih i 39 preživjelih, kontrolnu skupinu činilo je 30 zdravih ispitanika. (Tablica 1.).

Tablica 1. Ispitanici podijeljeni po spolu i po skupinama; skupina A su preminuli ispitanici, skupina B su preživjeli ispitanici i skupina C je kontrolna skupina ispitanika.

	A	B	C	Ukupno
M	13 (46,4 %)	15 (53,6 %)	16 (53,3 %)	44 (40,7 %)
Ž	26 (52 %)	24 (48 %)	14 (46,7 %)	64 (59,3 %)
Ukupno	39	39	30	108

Koncentracije cirkulirajućeg kalprotektina između tri nezavisne skupine (A – preminuli ispitanici, B – preživjeli ispitanici i C – kontrolna skupina ispitanika) pokazale su statistički značajnu razliku ( $P < 0,001$ ). Medijan koncentracije cirkulirajućeg kalprotektina skupine A iznosi 8,27 mg/L, skupine B 3,38 mg/L, a skupine C 0,71 mg/L; interkvartilni raspon (IQR, eng. *Interquartile Range*) za skupinu A iznosi 5,095 mg/L – 12,248 mg/L, za skupinu B 2,365 mg/L – 6,105 mg/L, a za skupinu C 0,4 mg/L – 1,065 mg/L) (Slika 1.).

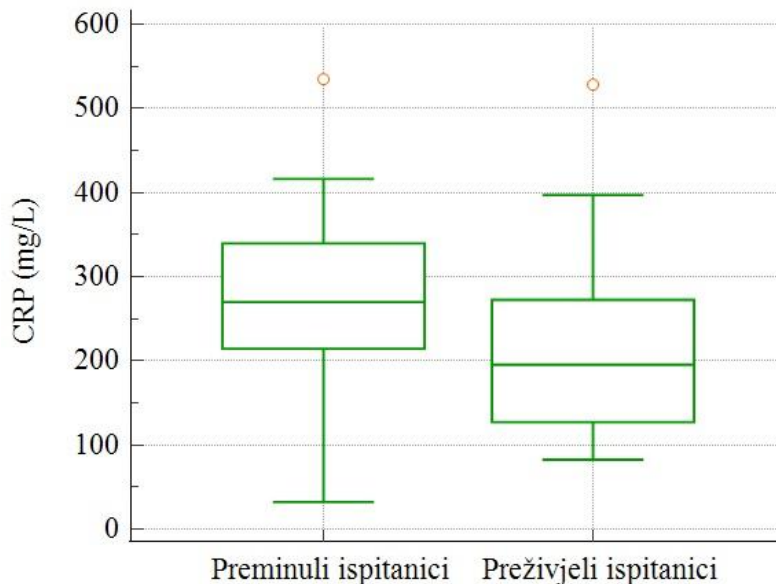


Slika 1. Prikaz koncentracije cirkulirajućeg kalprotektina između preminulih ispitanika, preživjelih ispitanika i kontrolne skupine ispitanika. Središnja linija u grafičkom prikazu

#### 4. REZULTATI

označuje medijan, četverokut označuje interkvartilni raspon, vodoravne linije ispod i iznad četverokuta označavaju minimalnu i maksimalnu vrijednost bez stršećih i ekstremnih vrijednosti. Kružić označava stršeću vrijednost.

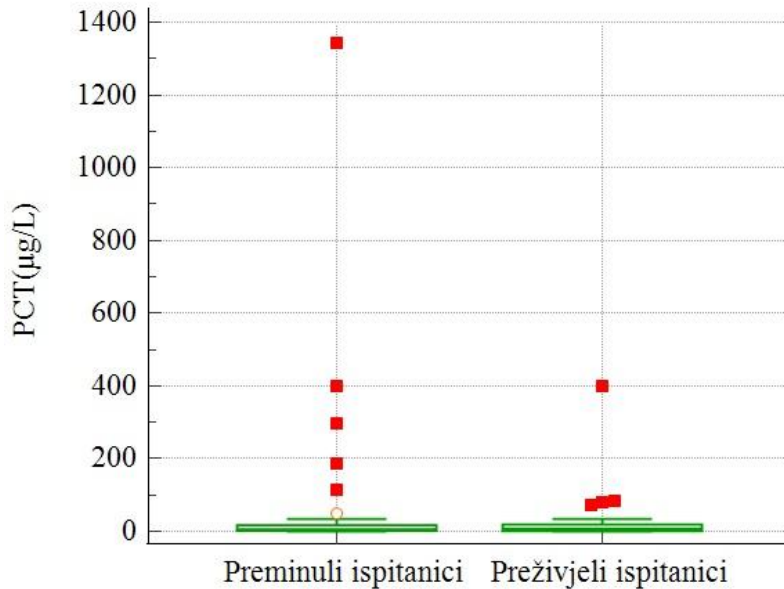
Koncentracije upalnog biljega CRP-a bile su značajno veće kod preminulih ispitanika u odnosu na preživjele ispitanike ( $P = 0,007$ ). Medijan koncentracije CRP-a kod preminulih ispitanika iznosi 269,8 mg/L, a kod preživjelih ispitanika 195,4 mg/L; IQR za preminule ispitanike iznosi 214,5 mg/L – 339,55 mg/L, a za preživjele ispitanike iznosi 127,3 mg/L – 272,5 mg/L) (Slika 2.).



Slika 2. Prikaz koncentracija C-reaktivnog proteina (CRP) u skupinama preminulih i preživjelih ispitanika oboljelih od sepse. Središnja linija u grafičkom prikazu označuje medijan, četverokut označuje interkvartilni raspon, vodoravne linije ispod i iznad četverokuta označavaju minimalnu i maksimalnu vrijednost bez stršećih i ekstremnih vrijednosti, kružići označavaju stršeće vrijednosti CRP-a čija je referentna vrijednost  $< 5$  mg/L.

#### 4. REZULTATI

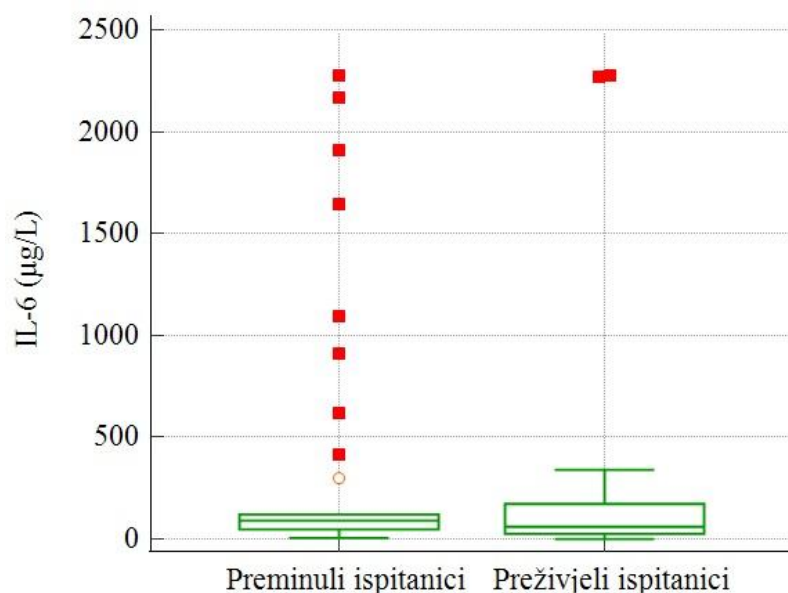
Koncentracije PCT-a nisu pokazale statistički značajnu razliku između skupine preminulih ispitanika i skupine preživjelih ispitanika oboljelih od sepse ( $P = 0,8299$ ). Medijan koncentracije PCT-a za skupinu preminulih ispitanika iznosi  $5,34 \mu\text{g/L}$ , a za skupinu preživjelih ispitanika iznosi  $7,9 \mu\text{g/L}$ ; IQR za preminule ispitanike iznosi  $2,033 \mu\text{g/L} - 16,968 \mu\text{g/L}$ , a za preživjele ispitanike iznosi  $1,545 \mu\text{g/L} - 19,338 \mu\text{g/L}$  (Slika 3).



Slika 3. Koncentracije prokalcitonina (PCT) u skupinama preminulih i preživjelih ispitanika oboljelih od sepse. Kružić i crveni kvadrati označavaju stršeće i ekstremne vrijednosti PCT-a čija je referentna vrijednost  $< 0,1 \mu\text{g/L}$ .

#### 4. REZULTATI

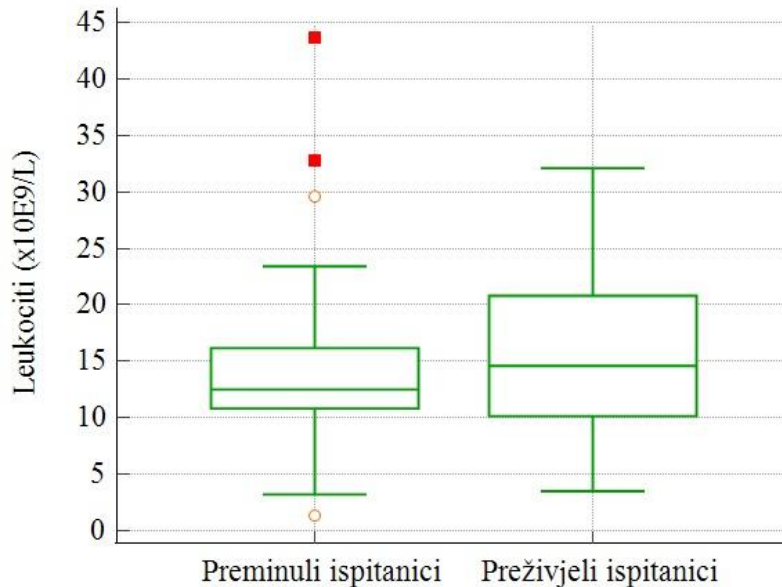
Koncentracije IL-6 nisu pokazale statistički značajnu razliku između skupine preminulih ispitanika i skupine preživjelih ispitanika oboljelih od sepse ( $P = 0,2247$ ). Medijan koncentracije IL-6 za skupinu preminulih ispitanika iznosi  $90 \mu\text{g/L}$ , a za skupinu preživjelih ispitanika iznosi  $60,2 \mu\text{g/L}$ ; IQR za skupinu preminulih ispitanika iznosi  $47,95 \mu\text{g/L} - 120,05 \mu\text{g/L}$ , a za skupinu preživjelih ispitanika  $25,9 \mu\text{g/L} - 172,63 \mu\text{g/L}$  (Slika 4.).



Slika 4. Koncentracije interleukina 6 (IL-6) u skupinama preminulih i preživjelih ispitanika. Kružić i crveni kvadrati označavaju stršeće i ekstremne vrijednosti IL-6 čija je referentna vrijednost  $< 0,0018 \mu\text{g/L}$ .

#### 4. REZULTATI

Koncentracije leukocita nisu pokazale statistički značajnu razliku između skupine preminulih i skupine preživjelih ispitanika ( $P = 0,5521$ ). Medijan koncentracije leukocita za skupinu preminulih ispitanika iznosi  $12,5 \times 10^9/L$ , a za skupinu preživjelih ispitanika  $14,6 \times 10^9/L$ ; IQR za skupinu preminulih ispitanika iznosi  $10,825 \times 10^9/L - 16,175 \times 10^9/L$ , a za skupinu preživjelih ispitanika  $10,15 \times 10^9/L - 20,8 \times 10^9/L$  (Slika 5.).



Slika 5. Koncentracije leukocita u skupinama preminulih i preživjelih ispitanika. Središnja linija u grafičkom prikazu označuje medijan, četverokut označuje interkvartilni raspon, vodoravne linije ispod i iznad četverokuta označavaju minimalnu i maksimalnu vrijednost bez stršećih i ekstremnih vrijednosti, kružići i crveni kvadrati označavaju stršeće i ekstremne vrijednosti leukocita čija je referentna vrijednost  $3,4 - 9,7 \times 10^9/L$ .

#### 4. REZULTATI

Testovi korelacije pokazali su kako statistički najznačajniju pozitivnu linearnu korelaciju pokazuju CircCPRO i PCT ( $\rho = 0,349$ ; 95 % interval pouzdanosti (CI, engl. *Confidence Interval*) = 0,138 do 0,531;  $P = 0,0017$ ), a slabu pozitivnu linearnu korelaciju pokazuju CircCPRO i CRP ( $\rho = 0,250$ ; 95 % CI = 0,0289 do 0,448;  $P = 0,0274$ ) (Tablica 2.).

Tablica 2. Rezultati Spearmanovog testa korelacije između cirkulirajućeg kalprotektina i četiri standardna pokazatelja sepse. Prikazani su koeficijent korelacije  $\rho$ , 95 % interval pouzdanosti i statističke značajnosti izražene kao P vrijednosti.

Promatrani parametri	$\rho$ <sup>¶</sup>	95 % CI**	P
CircCPRO* i CRP <sup>†</sup>	0,250	0,0289 do 0,448	0,0274
CircCPRO* i PCT <sup>‡</sup>	0,349	0,138 do 0,531	0,0017
CircCPRO* i IL-6 <sup>§</sup>	0,198	- 0,0253 do 0,403	0,0817
CircCPRO* i Lkc <sup>  </sup>	0,266	0,0461 do 0,461	0,0186

\* Cirkulirajući kalprotektin (engl. *Circulating Calprotectin*)

<sup>†</sup> C-reaktivni protein (engl. *C-reactive protein*)

<sup>‡</sup> Prokalcitonin (engl. *Procalcitonin*)

<sup>§</sup> Interleukin 6 (engl. *Interleukine 6*)

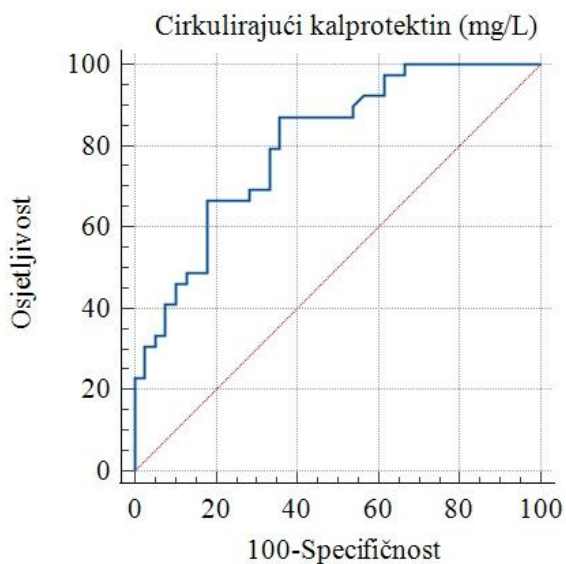
<sup>||</sup> Leukociti

<sup>¶</sup> Spearmanov koeficijent korelacije

\*\* Interval pouzdanosti (engl. *Confidence Interval*)

#### 4. REZULTATI

Analizom krivulje osjetljivosti (ROC, engl. *Receiver Operating Characteristic*) cirkulirajućeg kalprotektina u razlikovanju ispitanika koji su preminuli u odnosu na ispitanike koji su preživjeli, dobivena je granična vrijednost  $> 4,05$  mg/L, uz osjetljivost 87,2 % i specifičnost 64,1 % (Slika 6.).



Slika 6. Krivulja osjetljivosti cirkulirajućeg kalprotektina u razlikovanju preminulih i preživjelih ispitanika. Površina ispod krivulje (AUC, engl. *Area Under the Curve*) iznosi 0,804 ( $P < 0,001$ ). Svaka točka na krivulji osjetljivosti predstavlja par osjetljivosti i specifičnosti koji odgovara određenom pragu odlučivanja.

#### 4. REZULTATI

Logističkom regresijom prikazan je prognostički potencijal za predviđanje smrtnog ishoda sepse korištenih varijabli. Model je u cijelosti statistički značajan ( $\chi^2 = 29,47$  ;  $P < 0,001$ ) i u cjelini objašnjava između 31,46 % (po Cox & Snell) i 41,95 % (po Nagelkerke) varijance lošeg ishoda i točno klasificira 78,21 % slučajeva. Vrijednosti omjera izgleda (OR, engl. *Odds Ratios*) prikazane su u tablici (Tablica 3.).

Tablica 3. OR vrijednosti pokazuju omjer izgleda pojedinih varijabli u logističkoj regresiji. Uz OR vrijednost prikazan je i 95 % interval pouzdanosti.

Varijabla	OR¶	95 % CI**
CircCPRO*	1,3957	1,1576 do 1,6829
CRP†	1,0038	0,9986 do 1,0090
IL-6‡	0,9999	0,9988 do 1,0010
Lkc§	0,9328	0,8581 do 1,0141
PCT	1,0010	0,9971 do 1,0049

\* Cirkulirajući kalprotektin (engl. *Circulating Calprotectin*)

† C-reaktivni protein (engl. *C-reactive protein*)

‡ Interleukin 6 (engl. *Interleukine 6*)

§ Leukociti

|| Prokalcitonin (engl. *Procalcitonin*)

¶ Omjera izgleda (engl. *Odds Ratios*)

\*\* Interval pouzdanosti (engl. *Confidence Interval*)



#### 4. REZULTATI

Cirkulirajući kalprotektin se istaknuo kao statistički najznačajniji prognostički biljeg u procjeni smrtnog ishoda sepse s P vrijednosti 0,005 (Tablica 4.).

Tablica 4. Logistička regresija svih varijabli korištenih u istraživanju za predviđanje ishoda u ispitanika s potvrđenom dijagnozom sepse. Prikaz dobivenih regresijskih koeficijenata, standardnih greški, te statističke značajnosti izražene s P vrijednosti za svaku varijablu.

Varijabla	Regresijski koeficijent	Standardna greška	P
CircCPRO*	0,33343	0,095449	0,0005
CRP†	0,0037814	0,0026358	0,1514
IL-6‡	- 0,00010396	0,00058222	0,8583
Lkc§	- 0,069545	0,042615	0,1027
PCT	0,00098465	0,0019915	0,6210

\* Cirkulirajući kalprotektin (engl. *Circulating Calprotectin*)

† C-reaktivni protein (engl. *C-reactive protein*)

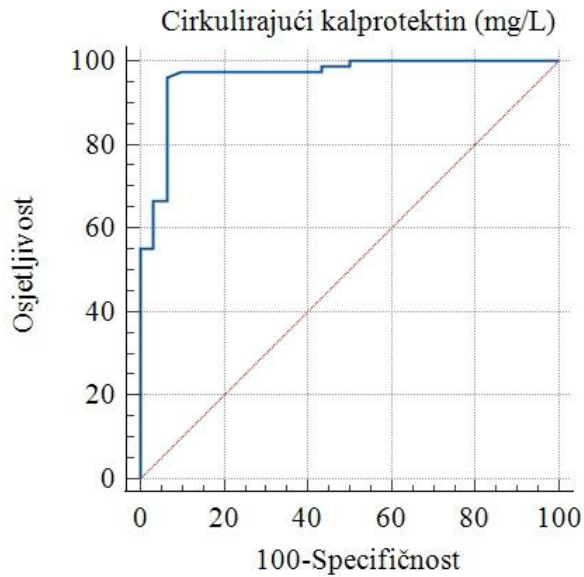
‡ Interleukin 6 (engl. *Interleukine 6*)

§ Leukociti

|| Prokalcitonin (engl. *Procalcitonin*)

#### 4. REZULTATI

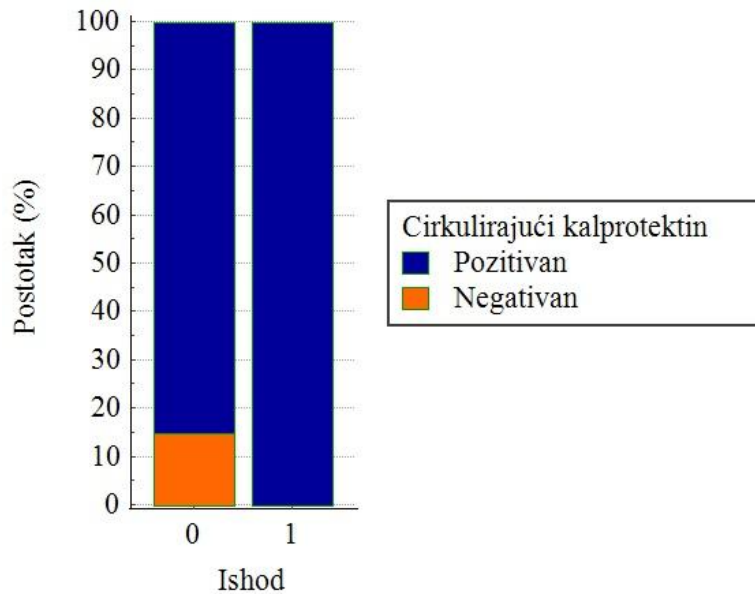
Dijagnostička točnost cirkulirajućeg kalprotektina ispitana je ROC analizom cirkulirajućeg kalprotektina u razlikovanju ispitanika koji su oboljeli od sepse od kontrolne skupine zdravih ispitanika, te je dobivena granična vrijednost 1,7 mg/L, uz osjetljivost 96,15 % i specifičnost 93,33 % (Slika 7.).



Slika 7. Krivulja osjetljivosti cirkulirajućeg kalprotektina u razlikovanju ispitanika s potvrđenom dijagnozom sepse i kontrolne skupine zdravih ispitanika. Površina ispod krivulje iznosi 0,963 ( $P < 0,001$ ). Svaka točka na krivulji osjetljivosti predstavlja par osjetljivosti i specifičnosti koji odgovara određenom pragu odlučivanja.

#### 4. REZULTATI

Računanjem relativnog rizika (RR, eng. *Relative Risk*) ustanovljeno je kako postoji povećan rizik od smrtnog ishoda kod ispitanika koji imaju povišene koncentracije cirkulirajućeg kalprotektina u odnosu na one koji nemaju (RR = 1,177; P = 0,014; 95 % CI = 1,03 do 1,34) (Slika 8.)



Slika 8. Prikaz ishoda za ispitanike koji su imali pozitivan kalprotektin u plazmi i za one koji su imali negativan kalprotektin u plazmi. 1 označava smrtni ishod, dok 0 označava ishod preživljenja.

## 5. RASPRAVA

### 5. RASPRAVA

Prema rezultatima ovog istraživanja cirkulirajući kalprotektin se pokazao kao obećavajući prognostički biljeg. Koncentracije cirkulirajućeg kalprotektina značajno su veće kod ispitanika sa smrtnim ishodom u odnosu na ispitanike s ishodom preživljenja.

Analizom cirkulirajućeg kalprotektina u razlikovanju ispitanika sa smrtnim ishodom i ispitanika s ishodom preživljenja, cirkulirajući kalprotektin je pokazao visoku osjetljivost i specifičnost što znači kako bi se mogao koristiti kao biljeg u praćenju smrtnog ishoda sepse.

Cirkulirajući kalprotektin je pokazao bolju prediktivnu vrijednost od ostalih parametara korištenih u ovom istraživanju (CRP, PCT, IL-6 i leukociti).

Istraživanjem je ustanovljeno da postoji povećan rizik od smrtnog ishoda kod ispitanika kojima je cirkulirajući kalprotektin iznad referentne vrijednosti u odnosu na ispitanike kojima je cirkulirajući kalprotektin unutar referentnog intervala.

Istraživanje je pokazalo dijagnostičku točnost cirkulirajućeg kalprotektina za razlikovanje ispitanika s potvrđenom dijagnozom sepse od kontrolne skupine zdravih ispitanika, što znači kako bi se mogao koristiti kao biljeg u dijagnozi sepse.

Do istog zaključka su došli Simm i sur. u istraživanju cirkulirajućeg kalprotektina kao biljega sepse. Podijelili su ispitanike u tri skupine, ispitanici s dijagnozom sepse, ispitanici s postoperativnim upalama i ispitanici bez upale (11). Medijan koncentracije cirkulirajućeg kalprotektina kod pacijenata oboljelih od sepse iznosio je 4,3 µg/ml, kod pacijenata s postoperativnim upalama 2,8 µg/ml, a kod pacijenata bez upale 0,7 µg/ml (11). Zaključili su kako je cirkulirajući kalprotektin osjetljiv pokazatelj sepse, kao i dobar prediktor smrtnog ishoda kod ispitanika oboljelih od sepse. Simm. i sur. su dobili rezultate koji su slični rezultatima ovog istraživanja, koncentracija cirkulirajućeg kalprotektina bila je povišena kod skupine ispitanika oboljelih od sepse, dok je kod onih bez upale bila je unutar referentne vrijednosti. Također, svojim istraživanjem ustanovili su visoku dijagnostičku točnost cirkulirajućeg kalprotektina.

Prema rezultatima ovog istraživanja statistički značajnu korelaciju pokazuju cirkulirajući kalprotektin i prokalcitonin. Povišenjem koncentracije cirkulirajućeg kalprotektina dolazi do

## 5. RASPRAVA

porasta koncentracija prokalcitonina. Slabu korelaciju pokazuju i cirkulirajući kalprotektin i C-reaktivni protein.

U istraživanju koje su proveli Larsson i sur. uspoređene su koncentracije cirkulirajućeg kalprotektina i PCT-a kod ispitanika s dijagnozom sepse, te razlike u koncentraciji ta dva biomarkera između preminulih i preživjelih ispitanika. Istraživanjem su dokazali značajno veće koncentracije cirkulirajućeg kalprotektina kod ispitanika oboljelih od sepse u odnosu na koncentracije PCT-a (12). Također su zaključili kako je cirkulirajući kalprotektin bolji prediktor smrtnog ishoda od prokalcitonina. Ispitanici u njihovom istraživanju bili su teško bolesni i imali su sistemski upalni odgovor što je bio izazov za testirane biljege i može biti razlog zašto je PCT pokazao slabiji učinak (12). Unatoč težini bolesti u ispitivanoj populaciji cirkulirajući kalprotektin je pokazao visoku osjetljivost za dijagnozu sepse (12). Larsson i sur. su u svom istraživanju zaključili kako je cirkulirajući kalprotektin koristan biljeg sepse, ali i smrtnog ishoda sepse što je zaključak i ovog istraživanja.

Prema rezultatima ovog istraživanja koncentracije CRP-a su značajno veće kod ispitanika koji su preminuli u odnosu na ispitanike koji su preživjeli. Međutim daljnjim istraživanjem nije dobivena statistički značajna prediktivna vrijednost u svrhu procjene smrtnog ishoda sepse.

U istraživanju koje su proveli Pradhan i sur. sudjelovalo je 64 ispitanika, a kao graničnu vrijednost CRP-a za dijagnozu sepse odredili su 50 mg/L. Koncentracija CRP-a bila je iznad 50 mg/L kod 80 % ispitanika, kod preostalih 20 % ispitanika samo su tri ispitanika imala koncentraciju CRP-a unutar referentnog intervala, svi ostali su imali povišene koncentracije CRP-a (13). Zaključili su kako CRP zbog svoje visoke osjetljivosti može detektirati one pacijente koji su u većem riziku od smrtnog ishoda, međutim, istaknuli su kako su potrebna daljnja istraživanja na većem broju ispitanika kako bi se odredila točna granična vrijednost (13). Postavljanje granične koncentracije CRP-a je vjerovatno razlog zbog kojeg su u svom istraživanju Pradhan i sur. došli do zaključka kako CRP ipak može biti i biljeg smrtnog ishoda. Ono što se može zaključiti i iz njihovog i iz ovog istraživanja je kako preminuli ispitanici imaju značajno veće koncentracije CRP-a u odnosu na ispitanike s ishodom preživljenja.

Prema rezultatima ovog istraživanja, PCT, IL-6 i leukociti nisu pokazali statistički značajnu razliku između ispitanika koji su preminuli u odnosu na ispitanike koji su preživjeli. Ni daljnjom analizom nije dobivena statistički značajna prediktivna vrijednost ova tri biljega upale u svrhu procjene smrtnog ishoda sepse.

## 5. RASPRAVA

Muller i sur. su proveli istraživanje koje je uključivalo ispitanike sa SIRS-om, ispitanike s potvrđenom dijagnozom sepse i ispitanke koji su doživjeli septični šok.

Uspoređivali su koncentracije PCT-a, CRP-a, IL-6 i laktata i uz osjetljivost od 89 % i specifičnost 94 % zaključili su kako je PCT najvjerodostojniji biljeg za dijagnozu sepse (13). Muller i sur. zaključili su kako su koncentracije PCT-a povišene kod ispitanika oboljelih od sepse, te su potvrdili dijagnostičku vrijednost PCT-a kao biljega sepse. I u ovom istraživanju ispitanici oboljeli od sepse imaju povišene koncentracije PCT-a. Prediktivna vrijednost upalnog biljega PCT-a nije pokazala statističku značajnost u procjeni smrtnog ishoda sepse.

Young i sur. su ispitivali PCT kao rani biljeg septičnog šoka u bolesnika s akutnim pijelonefritisom (14). U istraživanju je sudjelovalo 49 ispitanika koji su podijeljeni u dvije skupine, ovisno o dijagnozi septičnog šoka (14). Uz osjetljivost od 86,7 % i specifičnost 85,3 %, zaključili su da veći rizik od septičnog šoka imaju ispitanici s povišenom koncentracijom PCT-a. (14). Budući da je septični šok komplikacija sepse, u istraživanju koje su proveli Young i sur. testirala se i prediktivna vrijednost PCT-a u procjeni težine kliničke slike sepse. Razlika između njihovog i ovog istraživanja su skupine pacijenata, ali i ishod koji se pratio, oni su kao ishod odredili nastanak septičnog šoka, dok se u ovom istraživanju pratila i određivala prognostička uloga PCT-a u prognozi smrtnog ishoda sepse.

Istraživanje koje su proveli Song i sur. uključivalo je skupinu ispitanika s dijagnozom sepse, skupinu ispitanika sa septičnim šokom i kontrolnu skupinu zdravih pacijenata. Ispitivali su kliničku vrijednost koncentracije IL-6 kod navedenih skupina. Rezultati istraživanja pokazali su kako serumske koncentracije IL-6 mogu razlikovati pacijente oboljele od sepse od kontrolne skupine uz osjetljivost 80,4 % i specifičnost od 88,9 %, a dobivena granična vrijednost iznosi 52,60 pg/mL (8). Rezultati su također pokazali kako koncentracije IL-6 mogu razlikovati pacijente oboljele od sepse od pacijenata kod kojih je došlo do septičnog šoka, dobivena je granična vrijednost 348,92 pg/mL, osjetljivost 76,1 % i specifičnost 78,4 % (6). Smrtnost je bila veća kod pacijenata kojima je IL-6 bio iznad 348,92 pg/mL (8). Song i sur. su došli do nešto drukčijih rezultata od rezultata ovog istraživanja. Ono što je isto su povišene koncentracije IL-6 kod ispitanika oboljelih od sepse, međutim, oni su odredili i prediktivnu vrijednost u nastanku septičnog šoka, te također zaključili kako je smrtnost bila veća kod pacijenata kojima je IL-6 bio iznad 348,92 pg/mL. Prema rezultatima ovog istraživanja IL-6 nije pokazao statistički značajnu prediktivnu vrijednost u procjeni smrtnog ishoda sepse.

## 5. RASPRAVA

Budući da je sepsa jedan od globalnih zdravstvenih prioriteta provode se brojna istraživanja kojima se ispituje dijagnostički i prognostički potencijal određenih laboratorijskih biljega. Prognostički biljezi s visokom osjetljivošću i specifičnošću u procjeni ishoda sepse omogućili bi pravovremeno prepoznavanje pacijenata kod kojih potencijalno može doći do komplikacija i smrti. Otkrivanjem takvih biljega omogućuje se liječenje pacijenata prije nego razviju teže simptome, te se time sprječavaju komplikacije bolesti i smrt.

## 6. ZAKLJUČCI

### 6. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Koncentracije cirkulirajućeg kalprotektina značajno su veće kod ispitanika oboljelih od sepse sa smrtnim ishodom u odnosu na ispitanike oboljele od sepse s ishodom preživljenja.
2. Od laboratorijskih biljega korištenih u istraživanju (CircCPRO, CRP, PCT, IL-6 i leukociti), cirkulirajući kalprotektin pokazao je bolji prognostički potencijal u odnosu na ostale ispitivane biljege i može služiti kao prognostički biljeg u procjeni smrtnog ishoda sepse.
3. Cirkulirajući kalprotektin pokazao je dijagnostičku točnost u razlikovanju ispitanika s potvrđenom dijagnozom sepse od kontrolne skupine zdravih osoba, te može služiti kao dijagnostički biljeg sepse.



## 7. SAŽETAK

### 7. SAŽETAK

**CILJ ISTRAŽIVANJA:** Ispitati prognostičku ulogu cirkulirajućeg kalprotektina u ranoj prognozi smrtnog ishoda sepse.

**USTROJ STUDIJE:** Studija je ustrojena kao istraživanje parova.

**ISPITANICI I METODE:** Istraživanje je uključivalo 108 ispitanika podijeljenih u 3 skupine. Ispitanici s potvrđenom dijagnozom sepse podijeljeni su u dvije skupine – 39 preminulih i 39 preživjelih ispitanika, kontrolnu skupinu činilo je 30 zdravih ispitanika. Ispitanicima se određivala koncentracija cirkulirajućeg kalprotektina, ostali upalni pokazatelji preuzeti su iz povijesti bolesti.

Statističkim testovima se ispitala razlika u koncentraciji cirkulirajućeg kalprotektina između tri navedene skupine ispitanika. Ispitivale su se razlike u koncentraciji ispitivanih parametara (CRP, PCT, CircCPRO, IL-6 i leukociti) između preminulih i preživjelih ispitanika. Odredila se korelacija između cirkulirajućeg kalprotektina i ostalih ispitivanih biljega upale. Ispitale su se potencijalne prediktivne varijable (CRP, PCT, CircCPRO, IL-6 i leukociti) za smrtni ishod sepse. Utvrdila se osjetljivost i specifičnost cirkulirajućeg kalprotektina u razlikovanju ispitanika s potvrđenom dijagnozom sepse u odnosu na kontrolnu skupinu zdravih ispitanika, te osjetljivost i specifičnost cirkulirajućeg kalprotektina u razlikovanju ispitanika koji su preminuli u odnosu na ispitanike koji su preživjeli.

Dijagnostička metoda korištena u istraživanju je kemiluminiscentna imunokemijska metoda.

**REZULTATI:** Kalprotektin se pokazao kao značajan prediktivni biljeg u procjeni smrtnog ishoda sepse, uz osjetljivost od 87,2 % i specifičnost od 64,1 %. Kalprotektin je pokazao i značajnu dijagnostičku točnost uz osjetljivost od 96,15 % i specifičnost od 93,33 %.

**ZAKLJUČAK:** Cirkulirajući kalprotektin ima značajan prognostički potencijal i može služiti kao biljeg u procjeni smrtnog ishoda sepse. Također je pokazao i značajnu dijagnostičku točnost u razlikovanju ispitanika s potvrđenom dijagnozom sepse i zdravih ispitanika.

**KLJUČNE RIJEČI:** biljeg; kalprotektin; sepsa

## 8. SUMMARY

### 8. SUMMARY

#### PROGNOSTIC ROLE OF CIRCULATING CALPROTECTIN IN PREDICTING SEPSIS

**OBJECTIVES:** To evaluate the prognostic value of circulating calprotectin in the early prognosis of sepsis death.

**STUDY DESIGN:** The study is design as case control study.

**PARTICIPANTS AND METHODS:** The study included 108 participants divided into 3 groups. Participants with a confirmed diagnosis of sepsis were divided into two groups - 39 deceased and 39 survivors, the control group consisted of 30 healthy participants. Calprotectin concentration was determined from patients plasma, other inflammatory indicators were taken from the history of disease.

Statistical tests examined the difference in calprotectin concentration between the 3 study groups, and also differences between groups of participants with fatal outcome and with survival outcome for the examined parameters (CRP, PCT, CircCPRO, IL-6 and leukocytes). The correlation test determined correlation between circulating calprotectin and other examined markers of inflammation. Research examined potential predictive variables (CRP, PCT, CircCPRO, IL-6, and leukocytes) for sepsis outcome. Research determined sensitivity and specificity of circulating calprotectin in differentiating participants with a confirmed diagnosis of sepsis in relation to the control group of healthy individuals, and the sensitivity and specificity of circulating calprotectin in differentiating participants who died in relation to surviving participants.

The diagnostic method used in the study is chemiluminescent immunassay.

**RESULTS:** Calprotectin has been shown to be a significant predictive marker in the assessment of sepsis outcomes, with a sensitivity of 87,2 % and a specificity of 64,1%. Calprotectin also showed diagnostic accuracy with a sensitivity of 96,15 % and a specificity of 93,33%.

**CONCLUSION:** Circulating calprotectin has significant prognostic potential and can be used as a biomarker in assessing the fatal outcome of sepsis. It also showed diagnostic accuracy in distinguishing participants with a confirmed diagnosis of sepsis and healthy participants.

**KEY WORDS:** biomarker; calprotectin; sepsis

## 9. LITERATURA

### 9. LITERATURA

1. Baršić B, Krajnović V. Sepsa-patogenza, klinička slika i liječenje. *Medix*. 2005;58:39-42.
2. Grundler Bencarić A. Sepsa: Što je uzrokuje, koji su simptomi i tko joj je podložan. *Adiva plus*. 2018;245:5-6.
3. Singer M, Deutschman CS, Warren Seymour C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, i sur. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *Jama*. 2016;315(8):801-810.
4. Pierrakos C, Velissaris D, Bisdorff M, Marshall JC, Vincent JL. Biomarkers of sepsis: time for a reappraisal. *Crit Care*. 2020;24(1):287.
5. Henriquez-Camacho C, Losa J. Biomarkers for sepsis. *Biomed Res Int*. 2014;2014:26-31.
6. Kim MH, Choi JH. An update on sepsis biomarkers. *Infect Chemother*. 2020;52(1):1-18.
7. Gluvić Z, Mitrović B, Kulić A, Strugar A, Libek V. Presepsin u akutnim i kroničnim poremećajima bubrežne funkcije. *Materia Medica*. 2017;33:1571-1573.
8. Song J, Won Park D, Moon S, Cho HJ, Hak Park J, Seok H, i sur. Diagnostic and prognostic value of interleukin-6, pentraxin 3, and procalcitonin levels among sepsis and septic shock patients: a prospective controlled study according to the Sepsis-3 definitions. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):968.
9. Wirtz TH, Buendgens L, Weiskirchen R, Loosen SH, Haehnsen N, Puengel T, i sur. Association of Serum Calprotectin Concentrations with Mortality in Critically ill and Septic Patients. *Diagnostics*. 2020;10(11):990.
10. Ehrchen JM, Sunderkötter C, Foell D, Vogl T, Roth J. The endogenous Toll-like receptor 4 agonist S100A8/S100A9 (calprotectin) as innate amplifier of infection, autoimmunity and cancer. *J Leukoc Biol*. 2009;86(3):557-66.
11. Simm M, Söderberg E, Larsson A, Castegren M, Nilsen T, Eriksson M, i sur. Performance of plasma calprotectin as a biomarker of early sepsis: a pilot study. *Biomark Med*. 2016;10(8):811-8.
12. Larsson A, Tydén J, Johansson J, Lipcsey M, Bergquist M, Kultima K. Calprotectin is superior to procalcitonin as a sepsis marker and predictor of 30-day mortality in intensive care patients. *Scand J Clin Lab Invest*. 2020;80(2):156-161.
13. Pradhan S, Ghimire A, Bhattarai B, Khanal B, Pokharel K, Lamsal M, i sur. The role of C-reactive protein as a diagnostic predictor of sepsis in a multidisciplinary Intensive Care Unit of a tertiary care center in Nepal. *Indian J Crit Care Med*. 2016;20(7):417-20.

## 9. LITERATURA

14. Vijayan AL, Maya V, Ravindran S, Saikant R, Lakshmi S, Kartik R, i sur. Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy. *J Intensive Care*. 2017;5:51.

## 10. ŽIVOTOPIS

### 10. ŽIVOTOPIS

#### OPĆI PODATCI:

Mihaela Glibanović, studentica 3.godine Preddiplomskog sveučilišnog studija Medicinsko laboratorijske dijagnostike

Datum i mjesto rođenja: 3.srpnja 1992., Osijek

Adresa: Mostarska 9, 31000 Osijek

E-mail: mihaela.g.37@gmail.com

#### OBRAZOVANJE:

1999. – 2007. Osnovna škola Ljudevita Gaja u Osijeku

2007. – 2011. Matematička gimnazija u Osijeku

2018. – 2021. Medicinski fakultet Osijek, Preddiplomski i sveučilišni studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika

#### OSTALE AKTIVNOSTI:

2000. – 2012. članica ŽOK Osijek

2012. vozačka dozvola B kategorije