

BIOMARKERI ÎN DIAGNOSTICUL PRECOCE AL SEPSISULUI

Irina Ristescu^{1,2,3}, Ioana Grigoraș^{1,2}

1) Doctorand al Universității de Medicină și Farmacie “Gr.T.Popa”, Iași

2) Disciplina de Anestezie și Terapie Intensivă, Facultatea de Medicină,
Universitatea de Medicină și Farmacie “Gr.T. Popa” Iași, Romania

3) Spitalul Clinic de Urgență “Sf. Spiridon”, Iași, Romania

BIOMARKERS IN EARLY DIAGNOSIS OF SEPSIS (Abstract): *Purpose of review.* Sepsis is a complex pathology with a high morbidity and mortality rate. Many studies demonstrate that early diagnosis is crucial to survival. Sepsis is a difficult to diagnose disorder due to lack of specificity and sensibility of signs and symptoms and limitations of current microbial detection techniques. We review in this article the advantages and disadvantages of mainly used biomarkers for the diagnosis of systemic infections. *Recent findings.* In the last decades a large number of serum biomarkers have been proposed for clinical application with the main purpose of distinguishing between systemic inflammation and systemic infection. Their clinical usefulness and limitations are under reviewed. *Summary.* Along with clinical evaluation, sepsis biomarkers may improve the diagnostic evaluation of patients with systemic infections. Taking into account the actual diagnostic usefulness of each single biomarker, future research is needed to explore the benefit of multiple biomarkers panel.

KEYWORDS: SEPSIS, BIOMARKERS, INFECTION, DIAGNOSIS

RUNNING HEAD: Biomarkers in early diagnosis of sepsis
Biomarkeri în diagnosticul precoce al sepsisului

HOW TO CITE: Ristescu I, Grigoras I. [Biomarkers in early diagnosis of sepsis]. Jurnalul de chirurgie (Iași). 2012; 8(2):131-140

INTRODUCERE

Infecțiile severe și sepsisul se întâlnesc cu o incidență mare și în continuă creștere la nivel mondial datorită fenomenului de îmbătrânire a populației. În ciuda progreselor înregistrate în ultimul deceniu, mortalitatea pacienților cu sepsis rămâne mare (30-50%), cel mai frecvent datorită întârzierii în stabilirea diagnosticului și a aplicării principiilor terapeutice.

Sepsisul este definit ca o patologie potențial fatală care apare atunci când răspunsul organismului la o agresiune infecțioasă este caracterizat de o activare necontrolată a sistemului imunitar. Aceasta determină modificarea expresiei și activității mediatorilor endogeni ai inflamației, coagulării și a metabolismului intermediar care conduc în final la

disfuncția și lezarea organelor și țesuturilor proprii.

Sepsisul este considerat sever atunci când este însoțit de alterarea clinică și biologică a funcției unui organ. Asocierea fenomenelor de sepsis cu o perfuzie tisulară deficitară definește șocul septic [1].

Sepsisul sever și șocul septic reprezintă în prezent principalele cauze de mortalitate și morbiditate la pacienții internați în secțiile de terapie intensivă [2].

În ultimul deceniu au fost publicate numeroase studii clinice și epidemiologice de analiză a pacienților septici din diferite zone geografice. Rezultatele acestor studii au arătat pe de o parte că sepsisul este asociat cu o înaltă morbiditate și mortalitate, cu reducerea calității vieții și creșterea costurilor privind îngrijirea

Received date: 12.01.2012

Accepted date: 04.04.2012

Correspondence to: Dr. Irina Ristescu. Address: University Emergency Hospital “Sf. Spiridon”, Anaesthesia and Intensive Care Department, Iași, Romania,
Bd. Independenței nr.1, 700111
Tel: +40744762900
e-mail: iristescu@yahoo.com.

medicală dar au evidențiat și existența unei heterogenități importante atât în etiologia - localizarea infecției sau tipul de germen implicat cât și în manifestările clinice asociate sepsisului. Studiul SOAP (*Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients*) care a inclus 3147 pacienți din 198 secții de terapie intensivă din Europa, a arătat că pacienții care prezintă aceeași localizare a infecției și date microbiologice comparabile au o morbiditate și un prognostic diferit în funcție de zona geografică [3]. Heterogenitatea pacienților cu sepsis se manifestă și la nivel molecular unde, spre deosebire de alte patologii în care s-a reușit identificarea și caracterizarea unor biomarkeri diagnostici – infarctul miocardic acut, insuficiența cardiacă acută, boala Alzheimer - încercarea de a găsi molecule specifice etiologiei infecțioase sau specifice răspunsului imun maladaptativ al gazdei reprezintă încă o provocare.

CE ESTE UN BIOMARKER ?

Termenul de biomarker, utilizat pentru prima dată în anul 1989, este definit în prezent ca “o caracteristică măsurată obiectiv și evaluată ca un indicator a unui proces biologic normal, patologic sau a unui răspuns farmacologic la o intervenție terapeutică” [4] sau mai simplu ca “o măsură cuantificabilă a homeostaziei biologice care definește normalul creând astfel un cadru de referință pentru predicția sau detectarea anormalului” [5].

CLASIFICARE BIOMARKERI

În funcție de domeniul în care sunt aplicați, markerii biologici pot oferi informații utile despre:

- Screeningul bolii – identificarea pacienților cu risc crescut și boală subclinică
- Diagnosticul bolii – stabilirea unui diagnostic pentru aplicarea precoce a deciziilor terapeutice
- Stratificarea riscului – identificarea unor subgrupe de pacienți cu un anumit diagnostic care în urma

aplicării terapiei pot avea un beneficiu/risc mai mare

- Monitorizarea bolii – măsurarea răspunsului la o intervenție/terapie pentru a putea titra doza sau durata tratamentului
- Prognosticul bolii – monitorizarea mai sensibilă a eficienței terapiei, prezicerea cursului bolii inclusiv a recurențelor

BIOMARKERI DIAGNOSTICI

Markerii diagnostici sunt utili în stabilirea diferenței între pacienții care prezintă sau nu o anumită patologie, realizând o clasificare a acestora. În practica clinică această distincție este rar stabilită cu ajutorul unui singur element.

Utilitatea clinică a unui biomarker este evaluată prin cuantificarea acurateții diagnostice. Aceasta este o măsură a sensibilității – capacitatea de a detecta o boală la pacienții la care boala există în mod real, a specificității – capacitatea de a exclude o boală la pacienții la care boala nu există, a predicției pozitive – doar pacienții care prezintă cu adevărat boala sunt detectați ca bolnavi, și a predicției negative – doar subiecții sănătoși care nu prezintă boala sunt identificați ca sănătoși (Tabel I). Raportul între numărul de pacienți la care boala este prezentă (sensibilitate) și numărul de pacienți la care aceasta este absentă (1-specificitate) definește raportul de probabilitate. Acest indicator evaluează mai fidel puterea discriminativă a unui test diagnostic [6]. Un raport de probabilitate egal cu 1 indică faptul că testul are o performanță egală unei șanse aleatorii.

Acuratețea testului crește cu creșterea (testul indică prezența bolii) sau scăderea (testul indică absența bolii) raportului de probabilitate. Valori diferite ale acestui raport pot fi exprimate grafic obținându-se o curbă ROC (*Receiver Operating Characteristic curve*). Aria de sub curba ROC (AUROC) este utilizată pentru a determina cea mai bună valoare diagnostică cut off.

Tabel I. Componentele acurateții diagnostice ale unui biomarker

	Definiție
Sensibilitate	Adevărat pozitiv/adevărat pozitiv+fals negativ
Specificitate	Adevărat negativ/adevărat negativ+fals pozitiv
Valoare predictivă pozitivă	Adevărat pozitiv/adevărat pozitiv+fals negativ
Valoare predictivă negativă	Adevărat negativ/adevărat negativ+fals negativ
Raport de probabilitate pozitiv	Sensibilitate/1-Specificitate
Raport de probabilitate negativ	1 - Sensibilitate/Specificitate

La o valoare cut off la care AUROC este egală cu 1 biomarkerul ideal are sensibilitate, specificitate, predicție pozitivă și predicție negativă de 100% [7].

Pentru a putea fi folosiți în practica clinică biomarkerii necesită validare și calificare.

Validarea biomarkerilor necesită parcurgerea mai multor etape [8]:

1. Verificarea faptului că metoda măsoară real o anumită specie moleculară sau activitatea biologică a unei molecule
2. Determinarea biomarkerului diferențiază pacienții care au boala de cei care nu o au și/sau stratifică pacienții care au boala pe baza riscului prognostic
3. Măsurarea biomarkerului conduce la stabilirea unei decizii clinice/terapeutice care îmbunătățește evoluția pacientului.

BIOMARKERI ÎN SEPSIS

Biomarkerul ideal pentru pacienții critici din terapie intensivă ar trebui să îndeplinească următoarele criterii [9]:

- Să aibă un rol bine statuat în patogenia bolii – plauzibilitate biologică
- Să prezinte sensibilitate și specificitate mare
- Să fie asociat cu un parametru clinic evolutiv cum ar fi mortalitatea
- Să aducă informații prognostice
- Metodă de determinare sigură, ușoară și reproductibilă la pacienții critici

BIOMARKERI DIAGNOSTICI ÎN SEPSIS

Diagnosticul pacienților cu sepsis reprezintă în prezent o provocare pentru practica clinică. Datele clinice și de laborator propuse pentru diagnosticul acestor pacienți sunt în mare parte nespecifice. Aceste date caracterizează predominant sindromul de răspuns inflamator sistemic care de altfel este întâlnit la majoritatea pacienților critici din terapie intensivă.

Identificarea germenilor patogeni prin tehnicile microbiologice standard este un procedeu lent și în anumite situații cu sensibilitate redusă (microorganismele cu creștere lentă sau prezente în concentrații reduse). Frotiurile colorate Gram pot furniza rapid date despre prezența sau absența microorganismelor. Pentru identificarea speciei agentului patogen implicat și pentru testarea sensibilității la antibiotice este nevoie însă de creșterea în cultură, izolarea și expunerea la discurile impregnate cu antibiotic. În prezent, diagnosticul microbiologic complet este formulat, de rutină, la peste 48 ore de la debutul clinic al infecției. Tehnici alternative de diagnostic microbiologic bazate pe spectroscopie sau PCR (*Polymerase Chain Reaction*) sunt în curs de dezvoltare. Aceste metode sunt mai rapide și mai sensibile, pot identifica multiple specii bacteriene prin izolarea ADN-ului bacterian prezent și în cantități reduse dar utilitatea clinică trebuie dovedită având în vedere că nu pot face diferența între patogenii viabili și cei nonviabili [8].

În aceste condiții utilizarea biomarkerilor la pacienții septici poate fi utilă pentru stabilirea diagnosticului pozitiv prin diferențierea SIRS/sepsis dar și pentru stabilirea diagnosticului precoce având în vedere importanța pentru supraviețuire a instituirii precoce a antibioterapiei [10].

O sinteză a literaturii de specialitate publicată în anul 2010 de Pierrakos și colab. [11] a identificat existența a 178 biomarkeri diferiți descriși și analizați în peste 3000 studii. În cea mai mare parte acestea au fost studii clinice, datorită dificultății de a reproduce în condiții de laborator complexitatea răspunsului inflamator declanșat de infecție la subiecții umani. Marea majoritate a biomarkerilor investigați au fost prognostici și doar un număr de 34 biomarkeri au fost evaluați ținând ca markeri de diagnostic în sepsis - 11 biomarkeri care pot diferenția SIRS de sepsis și 16 biomarkeri de diagnostic precoce în sepsis (Tabel II). O sensibilitate și o specificitate de peste 90% a fost raportată doar pentru cinci dintre aceștia.

În prezent, din multitudinea de markeri propuși pentru evaluarea pacienților septici, cel mai complet evaluate sunt proteinele de fază acută.

Proteina C reactivă (PCR) este o proteină de fază acută al cărui nivel plasmatic crește de peste 1000 ori la pacienții cu inflamație și infecție. La pacienții septici această creștere este însă tardivă, la 12-24 ore de la debutul episodului septic. Pentru rolul său diagnostic, literatura de specialitate raportează o sensibilitate variabilă între 30-97.2% și o specificitate de 75-100% [12]. Cu toate acestea, monitorizarea PCR este în prezent larg utilizată de clinicieni datorită accesibilității. Creșterea nivelului seric se corelează cu apariția disfuncției organice multiple, iar analiza valorilor în dinamică poate fi utilă în evaluarea

eficienței terapeutice la pacienții cu sepsis [13].

Procalcitonina (PCT) este un precursor al hormonului calcitonină sintetizat de celulele C tiroidiene care prezintă, în condiții fiziologice normale, valori serice reduse (<0.1 ng/ml). Aceste valori cresc semnificativ în infecțiile bacteriene, prin stimularea sintezei extratiroidiene, având un debut la 4 ore și un peak plasmatic între 8-24 ore de la începutul episodului septic. Creșterea procalcitoninei a fost raportată însă și la pacienții cu disfuncție renală, traumă, pancreatită acută, chirurgie majoră și chirurgie cardiacă [11].

Procalcitonina a fost studiată extensiv în ultimii ani. Utilitatea sa ca marker diagnostic la pacienții critici cu sepsis a fost recent evaluată de două meta-analize a studiilor publicate pînă în prezent [14,15]. Acestea arată că specificitatea și sensibilitatea sunt reduse (sub 90%) indiferent de valoarea cut off, dar acuratețea diagnostică și AUROC sunt mai mari comparativ cu PCR. Bazat pe aceste rezultate se poate afirma că PCT este superioară PCR în diagnosticul sepsisului dar nu suficient pentru a constitui un instrument unic de diagnostic. *American College of Critical Care Medicine (ACCCM)* și *Infectious Diseases Society of America (IDSA)* recomandă, în ghidul de evaluare a cauzelor de febră nou instalată la pacientul critic, utilizarea PCT ca instrument diagnostic adjuvant pentru diferențierea infecției de inflamație, recomandare de grad 2 (justificat de evidențele științifice existente și recomandat puternic de experți în terapie intensivă) [16]. Creșterea nivelului plasmatic ale PCT se corelează cu creșterea severității sepsisului și apariției disfuncției de organ indicând utilizarea PCT ca marker prognostic [17].

Tabel II. Biomarkeri evaluați în diagnosticul sepsisului - adaptat după Pierrakos et al. [11]

Biomarker în sepsis	Studiu clinic	Tip de măsurare	Utilitate clinică
aPTT	C	C	Valoare predictivă negativă înaltă
CD11b	B	S	Valori crescute la nou născuți cu sepsis față de cei cu posibilă infecție
<u>CD 25</u>	<u>A</u>	<u>S</u>	<u>Distincție SIRS/sepsis</u>
CD64	C	S	Distincție infecție bacteriană/virală
<u>Complement (C3, C4, C5a)</u>	<u>B</u>	<u>S</u>	<u>Distincție SIRS/sepsis</u>
Complex EA	C	S	Diagnostic sepsis, crește precoce față de PCR
ELAM-1	C	C	Crește la pacienții cu sepsis posttraumatic vs fără sepsis
<u>Endocan</u>	<u>B</u>	<u>S</u>	<u>Distincție SIRS/sepsis</u>
<u>E selectina</u>	<u>B</u>	<u>S</u>	<u>Distincție SIRS/sepsis</u>
PDF	B	S	Valoare predictivă negativă înaltă
Gas6	B	S	Valori mai mari la pacienții cu sepsis sever față de cei cu disfuncție organică dar fără sepsis
<u>G-CSF</u>	<u>C</u>	<u>S</u>	<u>Distincție SIRS/sepsis</u>
Gesolin	B	C	Crește la pacienții cu sepsis vs fără sepsis
Antagonist receptor IL-1	C	S	Diagnostic precoce înaintea simptomelor la nou-născut
IL-8	C	S	Crește la neutropenici cu sepsis vs neutropenici febrili fără sepsis
IL - 10	A	S	Crește în șocul septic vs șoc cardiogen
IL-12	C	S	Diagnostic de sepsis la pacienți pediatrici
IL-18	B	S	Diferența sepsis Gram pozitiv/Gram negativ
IP-10	C	S	Diagnostic precoce la nou-născut
Laminină	A	S	Diferența sepsis cu Candida vs sepsis bacterian
LBP	C	S	Diferența sepsis Gram pozitiv/Gram negativ
<u>Leptină</u>	<u>B</u>	<u>S</u>	<u>Distincție SIRS/sepsis</u>
<u>MCP-1</u>	<u>C</u>	<u>S</u>	<u>Distincție SIRS/sepsis la pacienții neutropenici pediatrici</u>
NO, nitrat, nitrit	B	S	Crește în șocul septic vs șoc cardiogen
<u>Osteopontin</u>	<u>B</u>	<u>S</u>	<u>Distincție SIRS/sepsis</u>
PAI-1	B	S	Crește la pacienții cu sepsis și CID vs sepsis fără CID
Pentraxin	C	S	Distincție șoc septic vs SIRS
Peptidoglican	B	C	Crește la pacienți în postoperator cu infecție vs noninfecție
<u>pFN</u>	<u>B</u>	<u>S</u>	<u>Distincție SIRS/sepsis</u>
PLA2-II	B	S	Distincție infecție bacteriemică vs nonbacteriemică
Serum lysozyme	B	S	Distincție sepsis vs rețet de organ la pacienții transplantați
<u>ST2</u>	<u>A</u>	<u>S</u>	<u>Distincție SIRS/sepsis</u>
Proteine surfactant (A,B,C,D)	B	S	Diagnostic precoce ARDS la pacienții septici
<u>TREM-1</u>	<u>C</u>	<u>S</u>	<u>Distincție SIRS/sepsis</u>
Troponină	B	S	Diagnosticul disfuncției miocardice la pacienții cu sepsis

A – studiu clinic cu sub 20 pacienți, B – studiu clinic cu 20-50 pacienți, C – studiu clinic cu peste 50 pacienți
 S – o singură valoare, c- valori în dinamică

Trialuri randomizate controlate au arătat beneficiul utilizării algoritmilor bazate pe valorile PCT în ghidarea inițierii sau discontinuării terapiei antibiotice în cazul pacienților cu infecții de tract respirator superior și inferior, infecții postoperatorii și sepsis sever [18].

Rolul PCT în stabilirea duratei optime a antibioterapiei la pacienții septici din terapie intensivă a fost statuat de un trial prospectiv randomizat multicentric care a inclus 621 pacienți cu infecție bacteriană suspectată. Ghidarea antibioterapiei în funcție de nivelul PCT a fost asociată cu scăderea cu 23% a expunerii la antibiotic fără ca aceasta să modifice mortalitatea [19].

Sistemul complement este activat la pacienții cu sepsis, mediat parțial de PCR. În urma interacțiunii sistemului complement cu microorganismele sunt generate cantități crescute de C3a și compuși finali ai cascadei. Creșterea nivelului plasmatic de C3a a fost identificat ca marker de diferențiere între sepsis și alte cauze noninfecțioase de SIRS [20].

Presepsina (sCD14-ST) – CD 14 este prezentă în macrofage, monocite și granulocite, dar și în membranele acestor celule fiind responsabilă de transmiterea intracelulară a semnalului declanșat de prezența endotoxinelor. Frația sa solubilă, numită subtipul CD14 solubil sau presepsină, are nivele plasmatic crescute în infecții, fiind considerată de unii autori ca specific exprimată în sepsis [21]. În prezent sunt așteptate rezultatele unor trialuri multicentrice aflate în curs de desfășurare pentru validarea acestei ipoteze.

Citokine - activarea excesivă și prelungită a macrofagelor și leucocitelor determină sinteza și eliberarea crescută de citokine pro și antiinflamatorii incluzând interleukinile (IL) – 1, 8, 10, 12, 18. Acest răspuns este precoce și precede cu câteva ore eliberarea proteinelor de fază acută (PCR) și leucocitoza, sugerând importanța identificării lor ca marker de diagnostic precoce în SIRS și sepsis postoperator

[22]. Dezavantajul este însă legat de timpul de înjumătățire scurt ceea ce poate determina rezultate fals negative. Singura citokină cu sensibilitate și specificitate peste 90% pentru diagnosticul sepsisului este în prezent IL-12 dar rezultatele publicate sunt obținute doar în populația neonatală [23].

Leptina - Descoperirea în anul 1994 a leptinei, prototipul de hormon secretat de adipocite sau citokină (adipokină), a revoluționat înțelegerea reglării hormonale a homeostaziei energetice și a schimbat esențial percepția țesutului adipos de la un organ de depozit la un organ endocrin activ care secretă o serie de peptide bioactive (adipokine) precum și molecule inflamatorii și antiinflamatorii [24,25]. Produsul genei Ob (obese), leptina este o proteină nonglicozilată de 16kDa, care menține prin intermediul receptorilor specifici de la nivel hipotalamic, prin mecanism de feedback, balanța energetică și greutatea corporală.

Cercetările din ultimii 10 ani au identificat și alte proprietăți ale acestei proteine care o includ, în afara rolului principal metabolic, în clasa reactanților de fază acută [26,27]. Efectele leptinei asupra reglării homeostaziei imune sunt explicate de similitudinile structurale și funcționale - tip de receptor și mecanism de transducție postreceptor - cu familia de citokine cu lanț lung helicoidal din care fac parte IL-6 și citokinele înrudite IL-6, IL-11, IL-12, IL-13, oncostatin M și factorul de stimulare a coloniilor granulocitare [28].

Leptina acționează prin legarea de receptori specifici OBR, fiecare moleculă de leptină se fixează pe un receptor, dar pentru transmiterea semnalului este necesară formarea unui complex tetrameric compus din doi receptori și două molecule de leptină.

Receptorii sunt exprimați atât la nivel hipotalamic cât și în țesuturile periferice, pe celulele hematopoietice și la nivelul diferitelor populații celulare ale sistemului imun [29,30].

În cursul reacțiilor inflamatorii infecțioase sau non-infecțioase sinteza de leptină este stimulată de o combinație de citokine proinflamatorii incluzând TNF α și IL -1 β . Leptina mediază efectul anorectic al acestor citokine în cursul inflamației, are acțiune sinergică cu antigenele bacteriene activând macrofagele, crește capacitatea lor fagocitară și stimulează secreția de factori pro și antiinflamatori din macrofage [31].

Leptina serică pare să aibă o corelație pozitivă cu procentul de masă grasă atât la subiecții normali cât și la pacienții cu sepsis [32]. În perioada postoperatorie imediată leptina pare să crească după unii autori având roluri în vindecarea plăgii chirurgicale, prevenirea suprainfecției postoperatorii, activarea hematopoezei [22]. La pacienții septici, leptina plasmatică înregistrează valori crescute, stabilindu-se o corelație pozitivă între nivelele serice și supraviețuire [33].

Leptina a fost recent investigată ca marker de diagnostic precoce în sepsis raportându-se o sensibilitate de 91.2% și o specificitate de 85% pentru un nivel cut off de 38 μ g/l care ar diferenția sepsisul de SIRS [34].

LIMITARI ȘI SURSE DE EROARE

Valorile biomarkerilor trebuie întotdeauna interpretate în context clinic și microbiologic. Având în vedere că atât pentru diagnostic cât și pentru prognostic este importantă dinamica biomarkerilor, determinările acestora trebuie să fie seriate, în special la pacienții cu persistența fenomenelor de sepsis sau atunci când se decide întreruperea antibioterapiei.

Rezultatele studiilor actuale de cercetare a biomarkerilor în sepsis sunt deseori discordante. Există multiple surse de variabilitate care provin cel mai frecvent din lipsa de standardizare a metodologiei studiului cum ar fi:

- Variabilitatea loturilor de pacienți: medicali/chirurgicali, postoperator /septici/critici nonSIRS

- Variabilitatea momentului de recoltare a probelor
- Variabilitatea metodelor de determinare a markerilor
 - Tehnica de determinare – imunologică sau biologică
 - Reactivii utilizați – standarde de referință diferite
 - Tipul de probă utilizată – celulară (membrană, citoplasmă, nucleu), sistemică (sânge integral, plasmă, leucocite)
 - Prezența receptorilor solubili sau a formelor legate de proteine
- Variabilitatea tipurilor de studii: experimentale/clinice

O altă problemă cu care se confruntă identificarea biomarkerilor diagnostici este faptul că un nou biomarker trebuie comparat cu o metodă clasică de diagnostic (gold standard). Pentru sepsis, care nu este un proces patologic definit per se și care asociază factori de răspuns ai gazdei și factori infecțioși, nu există până în prezent un standard diagnostic comparabil. În aceste condiții definirea sepsisului trebuie făcută nu pe baza unor criterii clinice arbitrare ci pe baza deciziilor terapeutice care se impun [35].

Limitările oricărui biomarker includ rezultatele fals pozitive și fals negative.

DIRECȚII VIITOARE DE CERCETARE

Cercetările viitoare necesită studii multicentrice, standardizarea metodologiei și utilizarea unei metode de identificare unice a biomarkerilor. Este necesară trecerea de la studiile clinice observaționale la stabilirea unor valori specifice cutoff pentru biomarkerii descriși și inițierea unor trialuri clinice controlate care să permită intergrarea lor ulterioară în practica clinică.

Până în prezent nu a fost identificat un biomarker ideal și credem că, având în vedere complexitatea răspunsului inflamator din sepsis, combinațiile de biomarkeri ar putea reprezenta un instrument de screening superior dozărilor individuale.

Cercetările ultimelor decenii sunt marcate de progresele realizate în capacitatea de detecție și măsurare a genelor, proteinelor și metaboliților implicați în patologiile pacienților critici (tehnologia -omică). Până în prezent acestea au avut impact redus asupra terapiei dar acumularea rapidă de date ne permite să anticipăm progrese în următorii ani [36].

Studii efectuate în anul 2001 pe culturi de celule umane au arătat că în locul unui singur biomarker (ex. IL-6), o serie de markeri moleculari pot fi folosiți pentru investiga răspunsul celular la stimuli inflamatori. Autorii au arătat, folosind tehnici microarray, că leucocitele umane au un profil diferit a ARN de transport ca răspuns la diferiți agenți patogeni. Răspunsul este specific atât patologiei infecțioase, cât și fiecărui germen în parte [37-39].

Pornind de la ipoteza că modificările ARN-ului din leucocitele circulante pot fi utilizate pentru a determina cantitativ răspunsul inflamator sistemic cercetătorii au dezvoltat în prezent o nouă strategie de monitorizare imunologică denumită imunocartografie [40]. Analiza profilului expresiei genelor din leucocitele circulante poate exprima dinamica răspunsului inflamator sistemic generat de stimuli infecțioși sau noninfecțioși. Considerată prin analogie o adevărată electrocardiogramă a sistemului imun, această cartografiere dinamică a fost denumită riboleucogramă [41].

Aceste tehnici au demonstrat in vitro că pot stabili diagnosticul pozitiv în sepsisul abdominal și respirator, că pot diferenția între etiologia Gram pozitiv/Gram negativ a pneumoniei de ventilator și că, la pacienții septici, se poate monitoriza evoluția expresiei genomice la nivel leucocitar pentru a determina cantitativ revenirea la starea de sănătate a sistemului imun [42]. Sunt necesare trialuri clinice prospective pentru validarea utilității acestei metode de diagnostic a ARN leucocitar.

În viitor evaluarea inițială a pacienților septici va fi bazată pe anamneză, examen clinic și paraclinic dar validată de biomarkeri care vor confirma diagnosticul și vor stratifica pacienții în clase de risc. După stabilirea diagnosticului markeri farmacogenomici vor împărți pacienții în grupe terapeutice astfel încât terapia aplicată să fie specifică, asigurând un beneficiu maxim și efecte adverse minime.

BIBLIOGRAFIE

1. Bone RC, Balk RA, Cerra FB et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* 1992; 101: 1644-1655
2. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR: Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001, 29: 1303-1310.
3. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL et al: Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study. *Crit Care Med* 2006; 34(2): 344-353.
4. Biomarkers Definitions Working Group: Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 89-95.
5. Dalton WS, Friend SH: Cancer biomarkers—An invitation to the table. *Science* 2006; 312: 1165-1168.
6. Jaeschke R, Guyatt GH, Sackett DL: User's guides to the medical literature: III. How to use an article about a diagnostic test. B. What are the results and will they help me in caring for my patients? The Evidence-Based Medicine Working Group. *JAMA* 1994; 71: 703-707.
7. Hanley J, McNeil B: The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology* 1982; 143: 29-36
8. Marshall JC, Reinhart K, for the International Sepsis Forum: Biomarkers of sepsis. *Crit Care Med* 2009; 37:2290-2298.
9. Bucher HC, Guyatt GH, Cook DJ, et al. Users' guides to the medical literature. *J Am Med Assoc* 1999; 282: 771-778.
10. Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al: Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*. 2006; 34:1589-1596.

11. Pierrakos C, Vincent JL. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care* 2010; 14: R15.
12. Chan T, Gu F: Early Diagnosis of Sepsis Using Serum Biomarkers. *Expert Rev Mol Diagn.* 2011;11(5): 487-496.
13. Schmit X, Vincent JL: The time course of blood C-reactive protein concentrations in relation to the response to initial antimicrobial therapy in patients with sepsis. *Infection* 2008, 36: 213-219.
14. Uzzan B, Cohen R, Nicholas P et al. Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2006; 34: 1996–2003.
15. Tang BMP, Eslick GD, Craig JC et al. Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 210–7.
16. O'Grady NP, Barie PS, Bartlett JG, et al.: Guidelines for evaluation of new fever in critically ill adult patients: 2008 update from the American College of Critical Care Medicine and the Infectious Diseases Society of America. *Crit Care Med* 2008; 36: 1330–1349
17. Kibe S, Adams K, Barlow G. Diagnostic and prognostic biomarkers of sepsis in critical care. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66 Suppl 2: ii33–ii40.
18. Schuetz P, Albrich W, Mueller B. Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decisions: past, present and future. *BMC Medicine* 2011, 9: 107.
19. Bouadma L, Luyt CE, Tubach F, et al. PRORATA trial group: Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2010, 375: 463-474.
20. Stove S, Welte T, Wagner TO, et al: Circulating complement proteins in patients with sepsis or systemic inflammatory response syndrome. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996; 3: 175-183.
21. Shozushima T, Suzuki Y, Masuda T, Takahashi G, Endo S. Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis in systemic inflammatory response syndrome *Crit Care* 2011; 15(Suppl 1): P414.
22. Chachkhiani I, Gurlich R, Maruna P, et al: The postoperative stress response and its reflection in cytokines network and leptin plasma levels. *Physiol Res* 2005, 54: 279-285.
23. Sherwin C, Broadbent R, Young S, et al: Utility of interleukin-12 and interleukin-10 in comparison with other cytokines and acute-phase reactants in the diagnosis of neonatal sepsis. *Am J Perinatol* 2008; 25: 629-636.
24. Maffei M., Fei H., Lee G. H. et al. Increased expression in adipocytes of ob RNA in mice with lesions of the hypothalamus and with mutations at the db locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1995; 18: 6957-6960.
25. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372(6505): 425–432.
26. Frühbeck G. Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochemical Journal*, 2006; 393 (1): 7–20.
27. Lam Q, Lu L. Role of leptin in immunity *Cell & Molec Immunology* 2007; 4(1): 1–13.
28. Madej, T., Boguski, M. S., Bryant, S. H. Threading analysis suggests that the obese gene product may be a helical cytokine. *FEBS Lett.* 1995; 2: 13-18.
29. Sanchez-Margalet V, Martin-Romero C, Santos-Alvarez J. et al. Role of leptin as an immunomodulator of blood mononuclear cells: mechanisms of action. *Clin Exp Immunol* 2003; 133: 11-19.
30. Zhao Y, Sun R, You L, Gao C, Tian Z. Expression of leptin receptors and response to leptin stimulation of human natural killer cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 300: 247-252.
31. Janik JE, Curti BD, Considine RV, et al. Interleukin 1 α increases serum leptin concentrations in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3084-3086.
32. Carlson GL, Saeed M, Little RA, Irving M: Serum leptin concentrations and their relation to metabolic abnormalities in human sepsis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1999; 276: 658-662.
33. Arnalich F, Lopez J, Codoceo R, et al: Relationship of plasma leptin to plasma cytokines and human survival in sepsis and septic shock. *JID* 1999; 180: 908-911.
34. Yousef AAE, Amr YM, Suliman GA: The diagnostic value of serum leptin monitoring and its correlation with tumor necrosis factor- α in critically ill patients: a prospective observational study. *Crit Care* 2010, 14: R33.
35. Marshall JC, Reinhart K, for the International Sepsis Forum: Biomarkers of sepsis. *Crit Care Med* 2009; 37: 2290 – 2298.

36. Proudfoot AG, McAuley DF, Hinda M, Griffiths MJD. Translational research: what does it mean, what has it delivered and what might it deliver? *Curr Opin Crit Care* 2011; 17: 495–503.
37. Huang Q, Liu D, Majewski P, et al: The plasticity of dendritic cell responses to pathogens and their components. *Science* 2001; 294: 870–875.
38. Nau GJ, Richmond JF, Schlesinger A, et al: Human macrophage activation programs induced by bacterial pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 1503–1508.
39. Feezor RJ, Oberholzer C, Baker HV, et al: Molecular characterization of the acute inflammatory response to infections with gram-negative versus gram-positive bacteria. *Infect Immun* 2003; 71: 5803–5813.
40. Cobb JP, O’Keefe GE: Injury research in the genomic era. *Lancet* 2004; 363: 2076–2083.
41. McDunn JE, Husain KD, Polpitiya AD, et al: Plasticity of the systemic inflammatory response to acute infection during critical illness: Development of the riboleukogram. *PLoS ONE* 2008; 3: 564.
42. Polpitiya AD, McDunn JE, Burykin A, Cobb JP et al: Using systems biology to simplify complex disease: Immune cartography *Crit Care Med* 2009; 37(1): 16–21.