



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE**  
**„CAROL DAVILA” din BUCUREȘTI**



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE**

**„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI**  
**ȘCOALA DOCTORALĂ**  
**DOMENIUL MEDICINĂ**

*Evaluarea prognosticului în peritonita acută prin dinamica  
biomarkerilor de sepsis*

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**  
**PROF. UNIV. DR. FLORIN CĂTĂLIN CÎRSTOIU**

**Student-doctorand:**  
**DUMITRAȘCU CLEMENTINA OANA**

**2024**

**Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București**

Strada Dionisie Lupu nr. 37 București, Sector 2, 020021 România, Cod fiscal: 4192910

Cont: RO57TREZ70220F330500XXXX, Banca: TREZORERIE sect. 2

+40.21 318.0719; +40.21 318.0721; +40.21 318.0722

[www.umfcd.ro](http://www.umfcd.ro)

# Cuprins

## Introducere

- I. Ipoteza de lucru și obiective generale.....pagina 3
- II. Metodologia generală a cercetării.....pagina 9
- III.1. Analiza descriptivă a lotului de pacienți.....pagina 11
- III.2. Analiza distribuției valorilor biomarkerilor  
în lichidul peritoneal și în sânge.....pagina 14
- III.3. Analiza biomarkerilor la pacienții cu  
peritonită secundară și sepsis.....pagina 17
- III.4. Analiza biomarkerilor la pacienții cu  
peritonită secundară și sepsis cu disfuncții organice severe.....pagina 19
- III.5. Rolul predictiv al presepsinei, procalcitoninei și lactatului  
în lotul studiat.....pagina 22
- IV. Concluzii.....pagina 25

## Bibliografie

## Introducere

Această lucrare a avut inițial, ca simplă intenție științifică, reliefaarea unor markeri biologici relevanți pentru clinician, ușor de folosit în practica curentă, eliberați de către organismul uman suspus injuriei septice, mai precis în cadrul sepsisului abdominal instalat la pacienții cu peritonită secundară. În acest demers, îmbinând experiența clinică cu rezultatele studiilor din literatura de specialitate, privind mecanismele patogenice intime ale sindromul septic, și totodată a interdependenței continue a acestora cu sistemul imun al organismului, am încercat formularea unor ipoteze de studiu pentru devoalarea unor „markeri” biologici specifici și semnificativi în diagnosticul precoce și stratificat al acestei patologii, în vederea aprecierii riscului de complicații severe și, implicit a oportunității anumitor intervenții terapeutice țintite.

Definit în prezent ca „o disfuncție organică amenințătoare de viață cauzată de un răspuns necontrolat al gazdei la o infecție” [1], sepsisul rămâne o patologie extrem de complexă, cu multe necunoscute, și cu implicații majore asupra sistemelor de sănătate din întreaga lume; estimările din anul 2017 arată o incidență de 48,9 cazuri anuale la nivel mondial, înregistrând o mortalitate de aproximativ 19,7% [2]. Prin aplicarea datelor medicinei bazate pe evidențe, tratamentul sepsisului și a șocului septic a fost mult ameliorat, în etape succesive, în ultimele două decade, conform ghidurilor internaționale („Surviving Sepsis Campaign”), ultimul fiind elaborat în anul 2021 [3], iar statisticile medicale internaționale au înregistrat o scădere a mortalității cu 53% în perioada 1990-2017. Cu toate acestea, o recentă meta-analiză [8] arată în mod surprinzător stagnarea mortalității datorate șocului septic din 2011 până în momentul studiului (2019). Aplicarea inițiativelor promovate de ghidurile internaționale de sepsis au dus la recunoașterea și diagnosticarea precoce a sepsisului, a factorilor de risc asociați, și la aplicarea managementului protocolizat, acțiuni ce s-au materializat în ameliorarea consistentă a supraviețuirii în ultimii 20 de ani; pe de altă parte, rezultatele pe termen lung ale îngrijirii pacienților ce au supraviețuit unui episod de sepsis tratat în serviciile de terapie intensivă, rămân foarte modeste, 1 adult din 3 decedează în decursul următorului an, și 1 din 6 pacienți prezintă comorbidități pe termen lung: imunosupresie prelungită și reinfecții frecvente (așa numitul „sindrom de inflamație persistentă, imunosupresie și catabolism”[11]), deficite cognitive dobândite importante,

limitări fizice, toate necesitând reinternări frecvente în spital [10]. Din această perspectivă, în terapie intensivă, devoalarea paradigmei sepsisului se lovește încă de bariere mari.

În ultimul deceniu, ceea ce se numește „medicina de precizie” [4], uneori denumită „medicina personalizată”, încearcă redefinirea abordării sepsisului. După decade de eforturi în rafinarea metodelor de detecție a sepsisului, și în managementul personalizat al acestuia, în acord cu răspunsul individual al fiecărui organism, acest subiect -agresiunea septică- rămâne încă o povară importantă, iar trecerea de la o abordare deterministă a fenomenului septic la o abordare complexă, de tip stocastic, se produce lent. Odată cu înțelegerea necesității integrării fiecărui mod particular de răspuns la agresiunea septică, al fiecărui organism, într-un model matematic complex, nonlinear, predictibil și într-o dinamică longitudinală, abordarea fiziopatologiei și terapiei sepsisului a intrat într-o nouă etapă. Integrând concluzii extrase din sutele de studii clinice realizate despre patogenia sepsisului în ultimele 3 decenii, în noi tipuri de studii clinice, cu baze de date foarte largi, cu distribuții și statistică non-Gaussiană, date ce urmeză a fi analizate cu ajutorul algoritmilor care învață din date (tehnică „machine learning” și inteligență artificială) [5], se va deschide calea medicinei personalizate.

Acest deziderat impune stratificarea adecvată a pacienților în cohorte, pe baza criteriilor clinice, biologice și prin biomarkeri, incluzând atât analize imunologice, markeri fenotipici, tehnici „omice” (transcriptomice, metabolomice și proteomice) specifice [21], cât și teste de laborator, microbiologice și imagistice uzuale. Această etapă, de definire a grupelor, subgrupelor de pacienți cu sepsis și de urmărire în dinamică a evoluției patologiei pentru fiecare individ, reprezintă provocarea cea mai de seamă, și depinde în exclusivitate de gândirea cercetătorului. Pasul final este cel în care fiecărui pacient îi este atribuită o intervenție terapeutică anume, în funcție de „tiparul” său individual de răspuns la agresiunea septică, intervenție ce probabil, de cele mai multe ori se va baza pe imunoterapii specifice, țintite.

## I. Ipoteza de lucru și obiective generale

Din perspectiva caracterizării sepsisului ca fiind un „răspuns imun necontrolat al unei gazde la infecție”, reiese necesitatea profilării unor tipologii imune și încadrarea pacienților în aceste endotipuri, cu rol predictiv în evoluția sepsisului și totodată, apare necesară evidențierea rolurilor biomarkerilor imunologici în diagnosticul, predictibilitatea evoluției sepsisului, dar și în utilizarea lor ulterioară, în imunoterapia țintită. Desigur, aceste demersuri sunt în fazele inițiale dar pașii inițiali importanți sunt deja făcuți, și anume recalibrarea abordării sepsisului și a șocului septic, nu ca fiind un răspuns imun aberant ce necesită imunosupresie pentru a fi adus la homeostazia normală, ci ca fiind un dezechilibru ce trebuie abordat cu ajutorul terapiilor imuno-țintite, aplicate în funcție de stratificarea pacienților în endotipuri, și bazate pe biomarkeri și mecanisme moleculare precise [4].

Cercetarea de față se bazează pe un studiu prospectiv, monocentric, ce a inclus un lot de 32 de pacienți cu sepsis sau șoc septic, internați în clinica ATI, SUUB cu diagnosticul de peritonită secundară și intervenție chirurgicală în urgență, în perioada iunie 2020 - iunie 2022. Studiul a încercat fundamentarea arhitecturii unor studii largi viitoare, stabilirea unor corelații ce rămân a fi verificate ulterior pentru abordarea acestei patologii, deci un studiu pilot în esență.

Pentru configurarea cercetării mele, am adăugat aceste perspective de abordare și elementele cunoscute despre specificul sepsisului abdominal. Sepsisul abdominal reprezintă aproximativ 20% din cazurile de sepsis [9], a doua cauză ca frecvență a sindromului septic urmând celui de cauză pulmonară. Aproximativ 74% din cazurile de sepsis abdominal dezvoltă insuficiența unui organ, iar 20% dezvoltă insuficiență multiplă de organe, arată un studiu observational recent ce cuprinde 11200 de pacienți din Statele Unite, statistici similare celor europene, iar mortalitatea se ridică la aproximativ 35% pentru pacienții cu sepsis sever; mortalitatea în peritonita secundară pare să se coreleze cu vârsta înaintată, boli pre-existente, sursă ne-apendiculară, extinderea peritonitei și întârzierea intervenției chirurgicale peste 24 de ore [12].

În cadrul spitalului nostru, în ultimii 7 ani a fost înregistrată o mortalitate de 43,09% la cazurile de peritonite secundare cu sepsis admise în secția de terapie intensivă; totalul zilelor de spitalizare a acestor pacienți a fost de 3896 de zile de spitalizare în secția ATI și 6233 zile totale de spitalizare.

Un aspect ce se iese în evidență în această patologie este heterogenitatea pacienților cu peritonită acută, datorată atât patologiilor asociate pre-existente și fondului imunogenetic diferit al pacienților, cât și tipului de agent patogen infectant, a mărimii inoculului, a organului digestiv perforat, dar și a distanței în timp de la momentul infectării până la momentul prezentării la spital. Conceptul de heterogenitate în medicina de precizie face referire, cu precădere, la variabilitatea incredibilă de reacții declanșate la nivelul fiecărui pacient, nu numai diferențele interindividuale [13]. În acest sens, am colectat diverse date clinice ale pacienților, pentru stratificarea acestora, date despre patologia asociată, am calculate scorurile de prognostic cele mai relevante (scorul APACHE II, SOFA și qSOFA), și am adăugat date microbiologice și de laborator, date despre evoluția disfuncțiilor de organe (în special disfuncția renală ce alterează sever prognosticul); pentru caracterizarea răspunsului imun în evoluția pacienților, am asociat valorile în dinamică ale unor biomarkeri pe care i-am considerat semnificativi în cascada pro și antiinflamatorie din cadrul sindromului septic, pe baza studierii mecanismelor patogenice cunoscute până în prezent și a rezultatelor studiilor precedente efectuate în acest domeniu.

Un alt concept pe care l-am avut în atenție a fost fenomenul de compartimentare a răspunsului imun, ipoteză conform căreia procesele imune diferă între compartimentele organismului uman, astfel explicând eșecurile terapiilor imunomodulatorii în sepsis până în prezent. Folosind, cel mai frecvent, compartimentul sanguin ca „fereastră” pentru a cuantifica răspunsul imun, nu luăm în considerare posibilitatea existenței unui status imun complet diferit, poate chiar la extrem, la nivel tisular; în plus, mecanismele patogenice predominante într-un compartiment pot fi irelevante pentru altul [14] [16]. Pentru a surmonta aceste inadvertențe, în studiul de față am asociat probelor sanguine recoltate de la pacienți, probe recoltate intraoperator din lichidul peritoneal.

Selecția biomarkerilor de analizat, în studiul de față a reprezentat pasul cel mai important, analizând literatura de specialitate recentă, ținând seama de disponibilitatea testelor și a metodologiei de testare, și în final încercând a nu fundamenta alegerile facute pe datele altor studii, ci mai degrabă pe mecanismele patogenice în care sunt implicați, pro și/sau anti-inflamatorii, mecanisme pe care le voi detalia pe parcursul lucrării (activarea receptorilor de recunoaștere a modelelor moleculare-PRRs, asociate injuției septică celulare-DAMPs sau asociate agentului patogen-PAMPs, reacția neuro-endocrină cu eliberare de hormoni/peptide

precursoare, activarea receptorilor de membrană cu formarea clusterelor de diferențiere-CD exprimate la nivelul celulelor cu rol în imunitate, formarea moleculelor proteice cu rol chemoatractant, și altele).

În anul 2019, un total de 5367 de studii a biomarkerilor în sepsis au identificat 258 biomarkeri dintre care 27% cu rol diagnostic, 39% cu rol prognostic și 34% cu ambele roluri; numai în 12 studii au fost folosite cohort de validare [20]. În studiul de față, am ales astfel un panel format din 5 biomarkeri cunoscuți, selectați dintre citokinele și chemokinele sintetizate de organism în răspunsul imun – interleukina-6, interleukina-8, interleukina-10, high-mobility-group box-1 și proteina-1 chemoatractantă monocitară - ale căror nivele plasmatice le-am corelat cu nivelele inițiale ale unor biomarkeri cunoscuți și dovediți a reflecta sindromul inflamator și/sau septic: lactatul seric, procalcitonina[193] și presepsina-CD14 [16][17][18][19][22].

În final am analizat cu metode diferite statistice sensibilitatea și specificitatea biomarkerilor în funcție de apartenența pacienților la o anumită tipologie stabilită pe criterii clinice manifestate la admisia pacienților și în dinamică, apariția și evoluția disfuncțiilor de organe severe.

Urmărind această ipoteză, am căutat date relevante în literatura de specialitate cu privire la implicarea citokinelor și a altor biomarkerilor în derularea cascadei septică pro și antiinflamatorii. Am ales astfel un set de biomarkeri de analizat în cadrul lotului de pacienți cu peritonită secundară, pe baza următoarelor caracteristici:

- *Lactatul seric* – este un marker inflamator intens studiat, dar nu reprezintă fenomenul septic în sine, ci este asociat hipoperfuziei tisulare, și în șocul septic este corelat cu mortalitate crescută la valori mai mari sau egale cu 2mmol/L la 90 de zile [179];

- *Procalcitonina* – concentrațiile sale plasmatice normale sunt foarte mici, de ordinul a sub 0,1 ng/ml, în timp ce valori de peste 0,5ng/ml semnifică infecție, ajungând în sepsisul sever la valori de peste 1000ng/ml. Este cunoscut ca fiind un marker precoce valoros al infecțiilor bacteriene[192], înainte de obținerea culturilor, (are un vârf al nivelurilor plasmatice în ziua 1, și scade la jumătate în ziua 2-3 postoperator, având timpul de înjumătățire in vivo de 25-30 de ore), dar este fără valoare în infecțiile localizate ce nu au reacție inflamatorie sistemică. Niveluri înalte se regăsesc în infecțiile cu bacili gram negativi,

iar cele foarte înalte sunt întâlnite în infecțiile cu coci gram pozitivi sau bacili gram negativi, cu rezistență multiplă (MDR) la antibiotice.

Ca biomarker singular, procalcitonina nu poate fi un predictor al prognosticului sepsisului, deoarece diferențele de valori plasmatică sunt ne semnificative pentru supraviețuitori, probabil fiind necesară în acest sens asocierea, corelarea cu valorile altui biomarker specific al sindromului septic. Pe de altă parte, PCT este foarte bine utilizată ca indicator al unei surse de sepsis necontrolată adecvat, și este totodată, un bun ghid în antibioterapie[177]; este superior altor biomarkeri ca predictor al complicațiilor septice severe și al mortalității la pacienții cu peritonită secundară [192].

- *Presepsina* - are o cinetică foarte rapidă, prezintă valori crescute la 2 ore, având o semivie de 4-5 ore. A fost intens studiată deoarece s-a observat o acuratețe prognostică bună pentru acest biomarker (studiul ALBIOS). Totodată, a relevat o valoare de cut-off diferențiat și semnificativ statistic, între sepsis și șocul septic (500pg/ml). Nespecific, presepsina dezvoltă valori mai ridicate la vârste înaintate și în disfuncția renală, impunând precauții de interpretare în aceste cazuri.

- *Interleukina-6* – este o citokină proinflamatorie cu cinetică plasmatică foarte rapidă, cu timp de înjumătățire de 1-3 ore, ce crește de peste 10 ori, precedând proteina C reactivă și, reprezentând împreună cu aceasta, faza primară a procesului septic. Astfel, IL-6 a fost intens studiată de peste 20 de ani, în peste 55 de studii până în 2015, ce au cercetat-o izolat sau în combinații cu alte citokine, relevând creșterea sa rapidă în dinamică, cu nivel maxim la 24 de ore și normalizare la aproximativ 3 zile. Cele mai mari concentrații plasmatică de IL-6 se înregistrează în sepsis dar rolul său, diagnostic sau prognostic, rămâne neclar, cu valori de „cutoff” ce variază foarte larg (12-2760 pg/ml). Astfel, cel puțin 15 studii concluzionează că IL-6 pare un indicator bun al mortalității datorate sepsisului, în timp ce alte 9 studii susțin că ar fi un indicator precar al severității bolii[164];

- *Interleukina-8*- (timpul de înjumătățire de 10 ore)-chemokină ce apare foarte precoce în sepsis, indusă de IL-1 și TNF, induce febră și neutropenie, și scade la administrarea de antibiotic. Nivelurile plasmatică a IL-6 și IL-8 au fost strâns corelate cu severitatea și prognosticul final la pacienții septici [166], iar unele studii susțin corelarea valorilor IL-8 cu evoluția către șocul septic[115].



- *Interleukina-10*- are timpul de înjumătățire foarte scurt (60 min), și a fost descrisă inițial, ca principala citokină anti-inflamatorie; în prezent este considerată ca fiind o citokină pleiotropică, având numeroase roluri imunomodulatoare [180]; nivelurile sale ridicate par să fie corelate cu șocul septic și cu mortalitatea la 28 de zile [166].

Un scor combinat format din concentrațiile serice IL-6, IL-8 și IL-10 a dovedit un rol predictiv într-un studiu observațional, arătând evoluția spre agravare și deces, fiind superior în predicția mortalității față de combinația CRP - PCT [167].

- *HMGB-1* – (timpul de înjumătățire între 17min și 3ore) - prezintă o cinetică mai întârziată și atinge un platou al nivelurilor în sange la 18-32 de ore, ce par a se corela cu severitatea sepsisului prin gradul disfuncțiilor de organe. În acest scop, HMGB-1 a fost investigată pentru rolul său prognostic într-un studiu randomizat multicentric, ce a arătat că nivelurile serice erau crescute la pacienții septici, dar nu se puteau corela cu mortalitatea intraspitalicească [166].

- *MCP-1* – chemokină proinflamatorie ce a fost independent și repetat asociată cu prognosticul precoce al sepsisului, proprietate ce o fac atractivă din punct de vedere al unei posibile terapii cu anticorpi neutralizanți. Totodată, valorile sale crescute pot releva progresie tumorală și/sau metastazare.

Pornind de la această ipoteză, am ales investigarea în lotul de pacienți cu peritonită secundară, a 3 biomarkeri consacrați în practica clinică pentru calitățile lor prognostice în cazurile de sepsis de orice natură (lactat, procalcitonină și presepsină), la care am adăugat cercetarea a 5 biomarkeri implicați în cascada septică (IL-6, IL-8, IL-10, HMGB-1, MCP-1), dozați concomitent în sânge și lichidul peritoneal, în trei momente diferite: la momentul T0, reprezentând momentul intervenției chirurgicale, apoi la momentul T1, la 24 de ore și T2, la 48 de ore, de la intervenția chirurgicală.

Consecventă principiilor anterior arătate și încercând să dau un plus de claritate patologiei abordate, am formulat următoarele întrebări ca obiective ale studiului:

- Există o corelare semnificativă între concentrațiile serice și/sau în lichidul peritoneal recoltat intraoperator, a biomarkerilor studiați în dinamică la pacienții cu peritonită secundară și sepsis, și care ar fi punctul de „cut-off” relevant pentru practica clinică?

- Există o corelare semnificativă între concentrațiile biomarkerilor studiați în dinamică, în sânge și/sau lichidul peritoneal recoltat intraoperator, la pacienții cu peritonită secundară și disfuncții organice severe, și care ar fi punctul de „cut-off” relevant pentru practica clinică?
- Combinarea rezultatelor obținute pentru biomarkerii studiați cu rezultatele celor consacrați sepsisului și dovediți în studiile anterioare de specialitate (lactat, procalcitonina și presepsina) ca fiind relevanți statistic, duce la stratificarea mai precoce și mai specifică a riscului de disfuncții organice severe la pacienții cu sepsis prin peritonită secundară?

Limitările studiului constau în principal în numărul mic de cazuri cercetate, în patologia asociată a bolnavilor și în final la imposibilitatea de a omogeniza tipurile de răspuns la agresiunea septică în funcție de o stratificare a pacienților în subfenotipuri și endotipuri predictive ca evoluție în dinamică. Totodată, consider că monitorizarea nivelurilor biomarkerilor studiați într-o perioadă mai îndelungată de timp, eventual până la normalizarea valorilor acestora, ar fi fost utilă în definirea „comportamentului” acestora și în conturarea unor corelații cu severitatea evoluției sepsisului.

În esență, scopul studiilor biomarkerilor în sepsis ar fi să ofere soluții pragmatice și combinații realiste de biomarkeri pentru a rafina diagnosticul precoce, a evalua riscul fiecărui pacient și, în cazul unui risc înalt, a stabili imunoterapia țintită benefică acestuia. Rigoarea selecției și validarea unor astfel de biomarkeri prognostici dar și „predictivi” în sindromul septic, ar aduce plus valoare managementului protocolizat actual al sepsisului, iar aplicabilitatea acestora în orice spital, la patul bolnavului ar reprezenta momentul de demarcație în schimbarea fundamentală a abordării sepsisului pentru generațiile viitoare.

## II. Metodologia generală a cercetării

Cercetarea de față este un studiu clinic prospectiv observațional de tip transversal, aprobat de Comisia de Etică a Spitalului Universitar de Urgență București (32485/2018), ce a inclus pacienți diagnosticați cu peritonită acută secundară, selectați într-o perioadă de 3 ani dintre pacienții clinicilor de chirurgie generală din spital.

Lotul de studiu selectat cuprinde 32 de pacienți adulți, diagnosticați cu peritonită secundară pentru care s-a intervenit chirurgical de urgență. Au fost excluși din studiu pacienții cu tratament chimioterapic recent sau biologic imunosupresor, ascită preexistentă sau dializă peritoneală, și cei cu un indice de masă corporală,  $IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$ .

La momentul operator, au fost recoltate probele biologice standard din sânge venos (hemoleucograma, coagulograma cu fibrinogen, panel de biochimie extins), hemocultura, markeri serici de inflamație (procalcitonina, presepsina și probe pentru determinările de citokine inflamatorii studiate), lactatul seric din sânge arterial (echilibru acidobazic sanguin); totodată, a fost recoltat lichid peritoneal intraoperator, pentru cultura microbiologică, și probe pentru determinările citokinelor inflamatorii studiate din lichidul intraperitoneal. Probele recoltate în vederea determinării citokinelor inflamatorii din sângele venos au fost recoltate la momentul inițial T0 (intraoperator) și apoi la 24 de ore (T1), și 48 de ore (T2). Probele din lichidul peritoneal, 4ml, au fost recoltate steril intraoperator (T0), în două criotuburi de 1,8 ml și stocate la -20 grade Celsius inițial, și apoi crioconservat la -80 grade Celsius.

Concentrația citokinelor a fost măsurată folosind metoda imunoenzimatică ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), varianta necompetitivă.

În ceea ce privește dozarea Presepsinei (sCD14-ST) aceasta a fost realizată cu aparatul PATHFAST, folosind tehnologia imunotestării enzimatică cu chemiluminiscență (CLEIA) și tehnologia Magstration, valorile fiind exprimate în pg/ml. Dozarea Procalcitoninei (PCT) a fost realizată cu același aparat, sensibilitatea PATHFAST B.R.A.H.M.S PCT fiind foarte bună, permițând măsurarea concentrațiilor sub 0,1 ng/ml.

Admiși postoperator în secția de terapie intensivă, pacienții au primit tratament conform ghidurilor și protocoalelor actuale [3], individualizat fiecărui pacient în funcție de severitatea sepsisului și a patologiei preexistente, tratamentul fiind în responsabilitatea unui medic curant ATI, care nu a coincis cu investigatorul studiului.

Au fost luate în considerare pentru aprecierea evoluției și prognosticului, următoarele:

- starea clinică la admisie conform scorului qSOFA – starea de conștiență (Glasgow Coma Score < 15), tensiunea arterială sistolică  $\leq 100$  mmHg, frecvența respiratorie  $\geq 22$  resp/min
- scorurile de severitate SOFA, APACHE II calculate în primele 24 de ore de la admisia în terapie intensivă, reținând valoarea de cea mai mare severitate
- prezența disfuncției renale la admisie în terapie intensivă (inclusiv valorile ureei și creatininei serice)

Lotul de pacienți a fost împărțit în 3 grupe conform criteriilor ghidului de consens Sepsis-3 [1]:

- pacienți cu sepsis – pacienții subplotului 1
- prezența sepsisului cu disfuncții organice multiple severe cu SOFA  $\geq 7$  și APACHE  $\geq 24$  – pacienții subplotului 2
- lipsă criterii sepsis - pacienții subplotului 3.

Obiectivele principale ale cercetării realizate s-au conturat astfel:

1. Identificarea unui profil demografic al pacienților cu sepsis abdominal prin peritonită secundară
2. Determinarea valorilor medii ale biomarkerilor selectați, în lichidul peritoneal și în sânge, pentru lotul de pacienți studiați; stabilirea predictibilității evoluției acestora folosind nivelele biomarkerilor studiați în dinamică la pacienții cu sepsis, și distinctiv pentru cei cu multiple disfuncții organice severe (SOFA  $\geq 7$ )
3. Rolul predictiv al presepsinei, procalcitoninei și lactatului în lotul studiat, posibile corelații cu markerii studiați

În prezent, există metode și sisteme de detecție a biomarkerilor prezenți în procesele inflamatorii, atât serici cât și din lichid peritoneal, dar problema esențială rămâne lipsa unei combinații specifice de biomarkeri cunoscuți, ce pot fi detectați ușor, pentru predicția cu acuratețe a instalării și severității sepsisului abdominal, o combinație de teste ce ar reduce mult costurile enorme ale consecințelor acestei patologii, și ar îmbunătăți prognosticul final al pacienților în aceste cazuri.

### III.1. Analiza descriptivă a lotului de pacienți

Lotul de pacienți selectați în vederea acestui studiu pilot a inclus patogenii diverse de peritonite secundare, repartizate în toate subloturile de pacienți, perforarea unui organ cavitat fiind de departe cea mai frecventă patologie, 19 cazuri din care 7 pacienți cu perforații la nivel gastric. Dintre cazurile de perforații intestinale, 4 cazuri de peritonită s-au datorat patologiei apendiculare și numai 1 caz a fost încadrat în lotul de pacienți fără citerii de sepsis; de asemeni încadrat în acest subgrup a fost singurul caz traumatic din lotul de pacienți, un caz de traumă a hipocondrului stâng prin accident rutier, producând ruptură de colon sigmoid.

**Tabel 6.1**

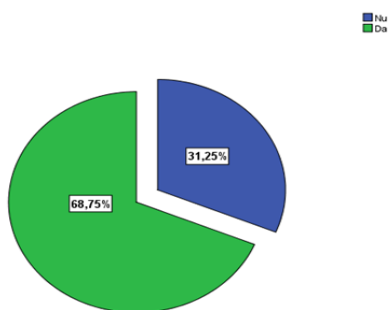
	<b>Pacienți non-septici</b>	<b>Pacienți septici</b>	<b>Pacienți cu sepsis și disf organice severe</b>
<b>Nr total</b>	10/32	7/32	15/32
<b>Vârsta, mediană (ani)</b>	40	67	70
<b>Sex M , Nr/total (%)</b>	6/32 (18%)	5/32 (15%)	8/32 (25%)
<b>Cauza peritonitei sec, Nr./total</b>			
<b>Perforație</b>	7/32	5/32	7/32
<b>Ocluzie</b>	0/32	2/32	6/32
<b>Fistulă anastomotică</b>	0/32	0/32	1/32
<b>Abces fisurat</b>	3/32	0/32	1/32
<b>Difuncție Renală, Nr./total categorie pac</b>	1/10	2/7	13/15

De remarcat cu privire la patologia asociată ar fi prezența patologiei oncologice în 12 cazuri din care 4 fără localizare digestivă.

Din punctul de vedere al numărului de pacienți în subloturilor formate, este important faptul că cel mai mare subgrup este cel al pacienților ce au dezvoltat insuficiențe multiple și severe de organe, și anume 15 pacienți, reprezentând 46,87% din lotul total.

Analizând în funcție de subloturile de pacienți, se observă o predominanță a vârstelor înaintate în grupul pacienților cu sepsis și disfuncții organice severe, mediana vârstelor fiind 67, respectiv 70 de ani.

În ceea ce privește pozitivarea culturilor din lichidul peritoneal recoltat intraoperator, datele obținute în lotul studiat arată astfel:



În figura 6.5 se poate observa că 68,75% dintre pacienții incluși în studiu au prezentat culturi pozitive în lichidul peritoneal.

Repartizarea culturilor negative a respectat selecția pacienților în funcție de manifestările septică, și anume, 6 din cazurile de pacienți non-septici au înregistrat culturi negative și numai 3 culturi au fost negative în grupul pacienților cu sepsis, dintre care 1 pacient a prezentat și disfuncție severă de organe.

**Tabel 6.2**

	Pacienți non-septici	Pacienți septici
<b>Nr culturi pozitive lichid peritoneal</b>	4/10	18/21

Pentru toți pacienții au fost calculate scorurile qSOFA, SOFA, și APACHE II, pentru caracterizarea cât mai corectă a disfuncțiilor de organe și a severității sepsisului în lotul de pacienți studiat; valorile minime și maxime în fiecare subplot au fost următoarele:

**Tabel 6.3.**

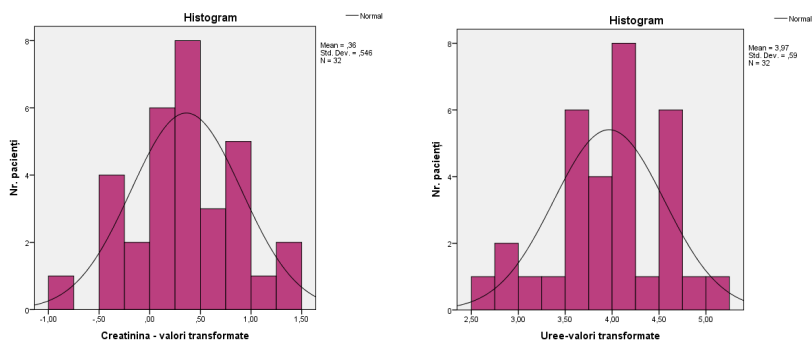
	Pacienți non-septici (N=10)	Pacienți septici (N=7)	Pacienți cu sepsis și disfuncție organe severe (N=15)
<b>qSOFA</b>	0 - 1	2 - 3	2 - 3
<b>SOFA</b>	0 - 4	2 - 6	7 - 10
<b>APACHE II</b>	5 - 11	17- 23	24 - 29

Deși scorul APACHE II este un standard în secțiile de terapie intensivă, stratificând pacienții cu scopul predicționare a ratei mortalității, are o lipsă de sensibilitate și specificitate când este vorba de pacienți cu multiple comorbidități[181].

Mortalitatea înregistrată la sub 14 zile în lotul studiat a fost de 40,6 %, iar mortalitatea totală înregistrată s-a datorat în cele mai multe cazuri patologiei asociate, survenind după o evoluție lungă (3 cazuri au înregistrat decese după 3-7 săptămâni de la momentul operator), grevată mai mult de patologia asociată și un fond de imunopresie în consecință.

Cea mai frecventă disfuncție de organ dezvoltată de către pacienții septici este **disfuncția renală**, iar evoluția acesteia pe parcursul internării depinde de stadiul initial al retenției azotate, în momentul prezentării pacientului; menționez că nici unul din pacienții lotului nu au avut ca patologie preexistentă insuficiența renală, cu sau fără necesar de hemodializă cronică.

La momentul T0, valorile ureei și creatininei în lotul studiat după normalizarea datelor (prin logaritmare, extragere a rădăcinii pătrate) erau grupate astfel:



**Fig 6.10**  
**Histogramele**  
**distribuției valorilor**  
**ureei și creatininei**  
**transformate**

Conform testului t s-au identificat următoarele variabile diferențiatore între sublotul pacienților cu sepsis și cei non-septici.

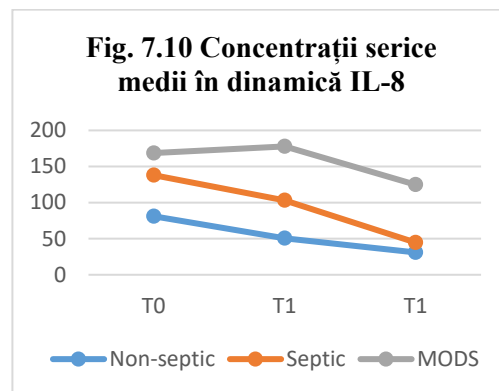
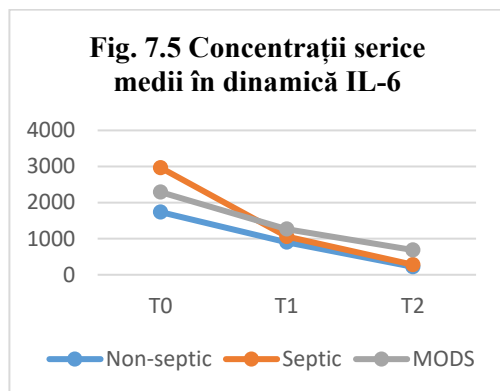
- Pentru creatinină: exista o diferență statistic semnificativă între lotul pacienților cu sepsis și a celor non-septici la nivelul valorii medii a creatininei ( $t=3,00$ ,  $p=0,005$ ). Astfel, pacienții cu sepsis au avut nivelul mediu al creatininei mai mare (0,53 vs. 0,02).
- Pentru valorile ureei: există o diferență statistic semnificativă între lotul pacienților cu sepsis și a celor fără sepsis la nivelul valorii medii a ureei ( $t=4,22$ ,  $p=0,001$ ). Astfel, pacienții cu sepsis au avut nivelul mediu al ureei mai mare (4,20 vs. 3,44).

## III.2. Analiza distribuției valorilor biomarkerilor

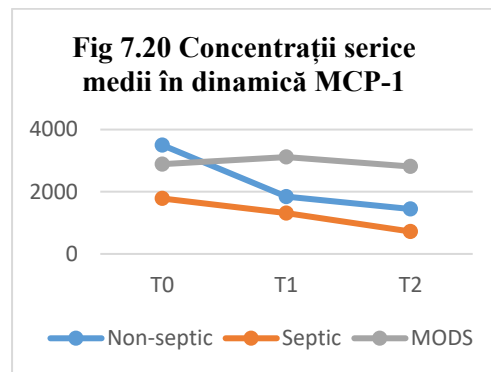
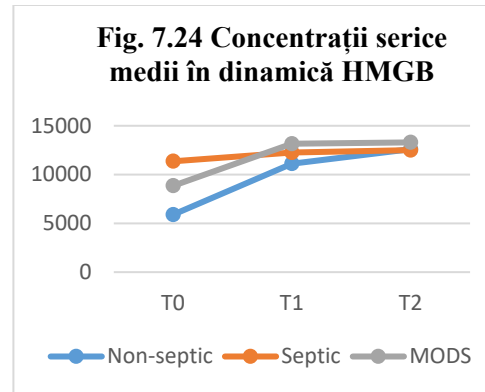
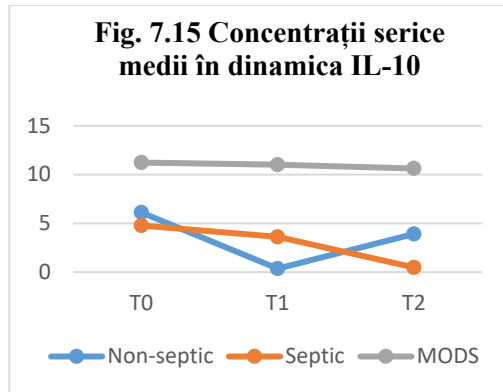
### în lichidul peritoneal și în sânge

La o simplă analiză a valorilor obținute în lotul total studiat de pacienți cu peritonită secundară, se observă:

- valorile maxime de IL-6 au fost decelate în lichidul peritoneal comparativ cu valorile din sânge, iar acestea din urmă au diminuat progresiv, de la prima determinare până la cea de la 48 de ore; ordinul de mărime al valorilor au fost de mii (pg/ml) la momentul T0, atât seric, cât și peritoneal, iar ulterior de ordinul sutelor la nivel sistemic. Există și câteva cazuri ce nu au respectat acest profil.
- valorile maxime ale IL-8 au fost găsite tot în lichidul peritoneal, valorile serice scad progresiv în dinamică dar se remarcă diferențe ca ordin de mărime față de IL-6, fiind de câteva ori mai mici la nivel sistemic.
- IL-10 a prezentat valori similare ca dinamică dar mult mai reduse în general, chiar și comparativ cu valorile IL-8, având diferențe foarte mari între nivelurile peritoneale și cele plasmatice.
- MCP-1 și HMGB-1 au avut valori asemănătoare ca ordin de mărime cu IL-6, în special la nivel peritoneal, de ordinul miilor de ng/ml, unele cazuri ajungând la valori de peste 30.000pg/ml.





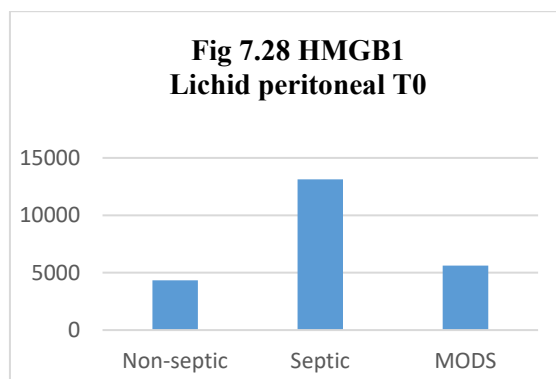
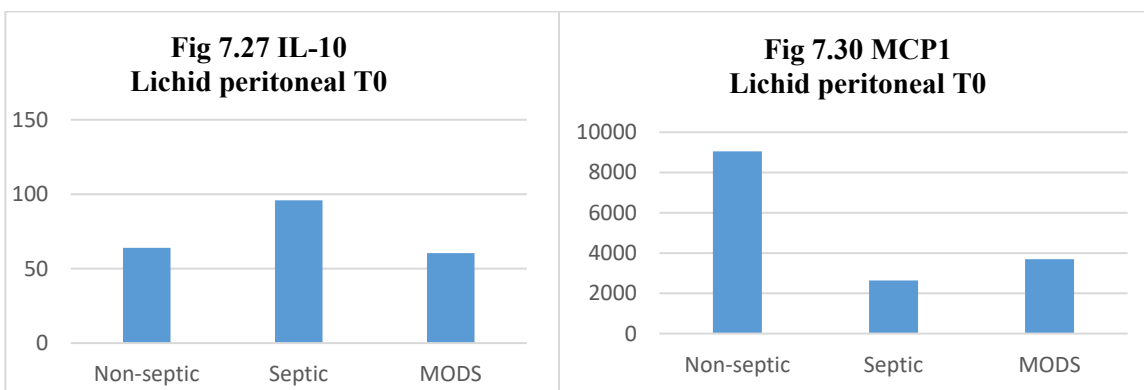
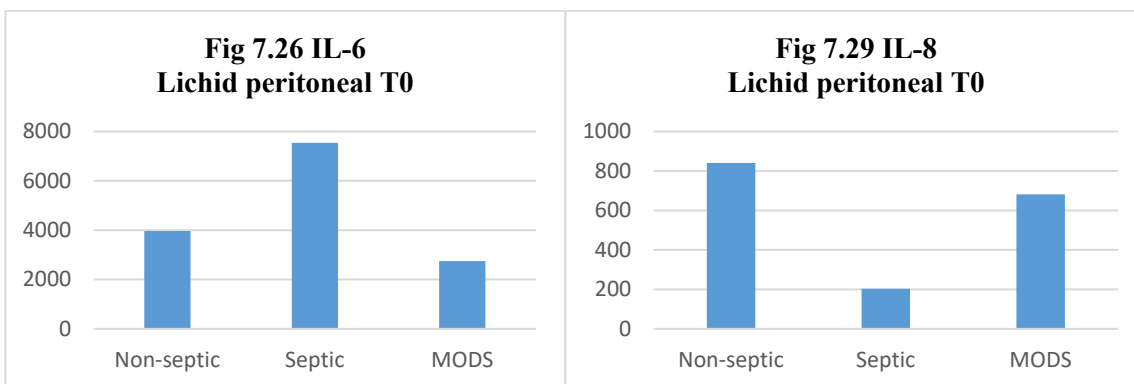


[193]

În lichidul peritoneal, sintetizând distribuția valorilor **IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1 și HMGB-1**, putem concluziona că există cantități mari de citokine descărcate la pacienții cu peritonită secundară în cavitatea peritoneală, aceasta funcționând ca un adevărat rezervor de mediatori inflamatori dar, raportarea la cele 3 subloturi de pacienți arată diferențe semnificative. Cele mai înalte niveluri de IL-6, IL-10 și HMGB-1 intraperitoneal s-au înregistrat la grupul de pacienți septici și, chiar mai interesant este faptul că, au existat concentrații mari ale acestor citokine la pacienții non-septici, cele mai reduse niveluri fiind înregistrate la pacienții cu multiple disfuncții severe de organe(**fig 7-26-7.28**). În aceeași privință, remarcăm o similitudine între valorile IL-8 și MCP-1, cu cele mai mari valori dozate în lichidul peritoneal la pacienții fără criterii de sepsis(**fig 7.29-7.30**).

În concluzie, din datele obținute în studiul de față considerăm ca nu există o corelație între evoluția disfuncției de organe și nivelurile citokinelor din lichidul intraperitoneal la pacienții cu peritonită secundară. În unele studii din literatură, concluziile au fost divergente [34, 184] arătând o corelare a nivelurilor unor citokine peritoneale cu gravitatea evoluției

sepsisului. Probabil este necesară o stratificare mai riguroasă a pacienților și creerea unor baze de date mult mai largi pentru a extrage o concluzie mai exactă.



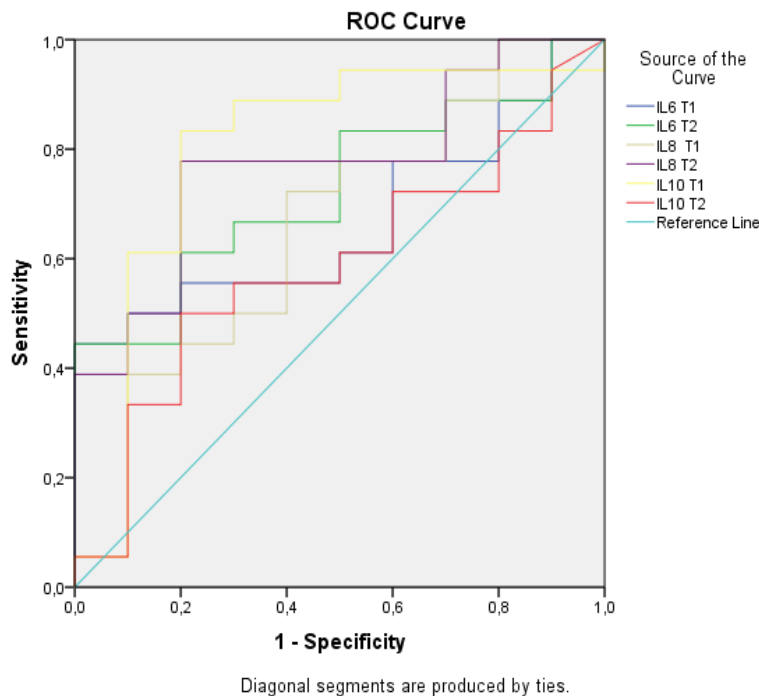
[193]

Important de menționat este folosirea prescurtării denumirii subplotului de pacienți cu difuncții organice severe (scor SOFA $\geq$ 7 și scor APACHE II $\geq$ 24) și persistente ca MODS pentru ilustrarea mai facilă în grafice a acestui grup selecționat de pacienți septici.

### III.3. Analiza biomarkerilor la pacienții cu peritonită secundară și sepsis

În vederea verificării corelațiilor între pacienții septici, definiți conform Ghidului de consens Sepsis-3[1] și nivelele citokinelor în lichidul peritoneal(LP) la momentul T0, și sistemic la momentele T0, T1, T2 s-au realizat curbele ROC (**R**eceiver **O**perating **C**haracteristics) pentru măsurarea eficienței diferitelor modele propuse.

Sintetizând ariile de sub curbe formate de valorile serice ale citokinelor cu relevanță pentru prezența sepsisului, în subplotul de pacienți cu peritonită acută secundară și sepsis, citokine recoltate din serul bolnavilor la momentele T0, T1 și T2, observăm valori semnificative numai pentru probele serice recoltate la 24 sau 48 de ore de la intervenția chirurgicală. Pentru momentul T0, momentul intervenției chirurgicale, nici una din citokinele selectate nu a prezentat sensibilitate și specificitate utilă în detectarea precoce a sepsisului intra-abdominal la pacienții lotului studiat, atât în ceea ce privește concentrațiile serice, cât și cele intra-peritoneale.



**Fig 8.9** Curbe ROC IL-6, IL-8, IL-10 serice, la T1 și T2

Test Result Variable(s)	Area	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
IL6 T1	,667	,102	,150	,467	,867
<b>IL6 T2</b>	<b>,728</b>	<b>,095</b>	<b>,049</b>	<b>,541</b>	<b>,914</b>
IL8 T1	,656	,111	,179	,437	,874
<b>IL8 T2</b>	<b>,772</b>	<b>,091</b>	<b>,019</b>	<b>,595</b>	<b>,950</b>
<b>IL10 T1</b>	<b>,800</b>	<b>,100</b>	<b>,010</b>	<b>,604</b>	<b>,996</b>
IL10 T2	,586	,112	,457	,367	,805

**Tabel 8.9 Valorile AUC pentru IL-6, IL-8, IL-10 serice, la T1 și T2**

După cum se poate observa în tabel, în cazul IL-6 la momentul T2, IL-8 la T2 și IL-10 la T1, ariile de sub curbă au valori peste 0,7 (respectiv 0,728, 0,772, 0,800), ceea ce indică faptul că modelele obținute sunt satisfăcătoare spre bune, și toate sunt semnificative din punct de vedere statistic întrucât valorile lui p sunt mai mici de 0.05.

Se pot specifica următoarele valori prag relevante pentru acești biomarkeri:

- pentru IL-6 T2 valoarea prag de 307,628pg/ml identifică 61,1% pacienți reali pozitivi cu sepsis, și 20% pacienți fals pozitivi; specificitatea crește la un cut-off de 411,930pg/ml (0% fals pozitivi) dar sensibilitatea scade la 44,4%.
- valoarea prag pentru nivelul IL-8 la momentul T2 a fost de 42,047pg/ml, identificând 72.2% pacienți real pozitivi și 20% fals pozitivi.
- IL-10 recoltată la momentul T1 are cel mai bun model al ariei de sub curbă, iar la valoarea prag de 2,652pg/ml vom identifica 83.3% cazuri real pozitive cu sepsis și 20% cazuri fals pozitive.

În cazul proteinei *MCP-1*, la nici unul din momentele determinărilor, valorile nu formează o arie de sub curbă suficient de ridicată, iar toate valorile p (asymptomatic sig.) sunt peste valoarea de 0.05, deci fără semnificație statistică a rezultatelor.

Pentru proteina *High Mobility Group Box 1* valorile atât din lichidul peritoneal, cât și cele serice au fost nerelevante statistic. La momentul T0 valorile obținute pot fi considerate un model satisfăcător, AUC = 0.636 dar p fiind 0.223, nu este semnificativ statistic.

### III.4. Analiza biomarkerilor la pacienții cu peritonită secundară și sepsis cu disfuncții organice severe

Pentru *interleukina 6*, analiza curbei ROC pentru pacienții cu disfuncții severe, multiple de organe arată un model satisfăcător/bun pentru valorile momentului T2, cu arie de sub curbă egală cu 0,701 dar cu p mai mare de 0,05, deci ne semnificativă statistic. Se remarcă la momentul T2 o valoare prag de 411.930pg/ml ce ar putea fi relevantă, identificând 54.5% din pacienții real pozitivi și 11.8% pacienți fals pozitivi.

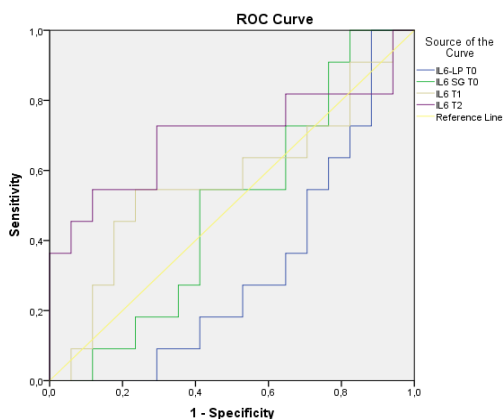


Fig 9.1 Curbe ROC IL-6

Reprezentarea valorilor *interleukinei 8* la acești pacienți a arătat rezultate semnificative statistic pentru momentul T2 ( $p=0,04$ ), aria de sub curbă 0,829 având un model bun, cu sensibilitate de 72,7% , și specificitate înaltă 88,2%, pentru o valoare prag de 59, 476pg/ml. Pentru valorile IL-8 la momentul T1, modelul este satisfăcător/bun dar nu este semnificativ statistic( $p=0,63$ ); o valoare prag în acest model s-ar situa la 155.842 și identifică 54.5% real pozitivi și 11.8% pacienți fals pozitivi.

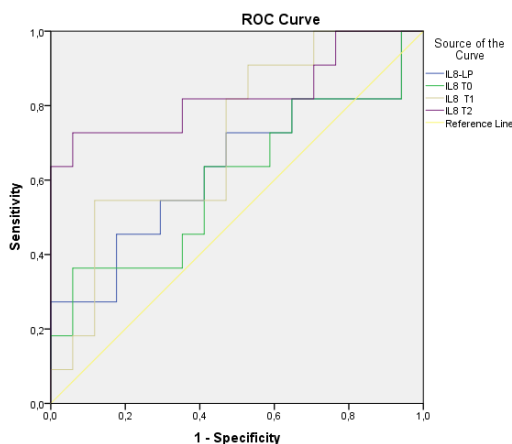
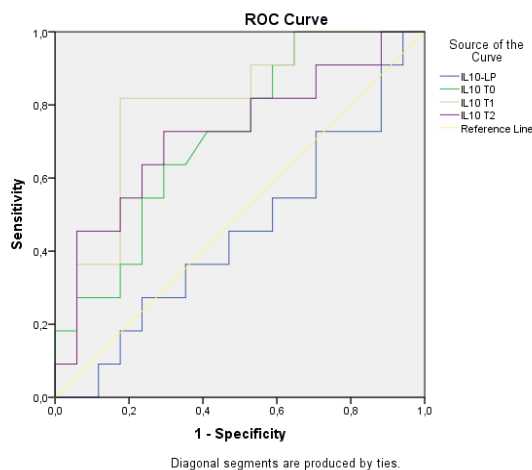


Fig 9.2 Curbe ROC IL-8

Modelul realizat de *interleukina IL-10* pentru același sublot de pacienți arată un model bun (AUC= 0,797) pentru valorile la momentul T1, semnificativ statistic ( $p=0,009$ ), cu o valoare prag de 4,81pg/ml, pentru care sensibilitatea testului este de 81,8% (cazuri real pozitivi) și specificitatea de 82,4%.



**Fig 9.3 Curbe ROC IL-10**

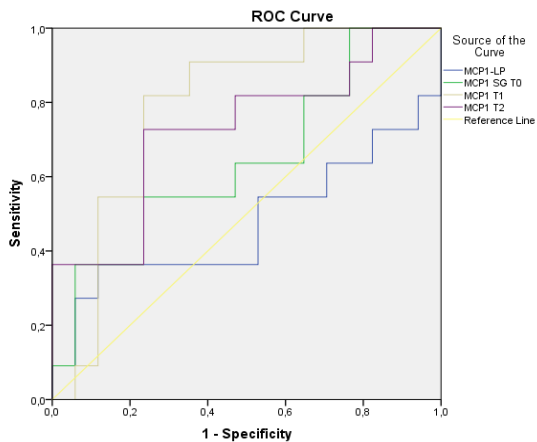
Test Result Variable(s)	Area	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
IL10-LP	,449	,113	,655	,227	,671
IL10 T0	,714	,097	,060	,523	,905
<b>IL10 T1</b>	<b>,797</b>	<b>,088</b>	<b>,009</b>	<b>,625</b>	<b>,969</b>
IL10 T2	,722	,104	,051	,519	,925

**Tabel 9.3 Valorile AUC pentru IL-10**

*Proteina chemoatractantă monocitară 1* pare a fi cea mai corelată cu evoluția gravă a pacienților cu sepsis abdominal și multiple insuficiențe de organ, realizând curbe ROC semnificative statistic și la momentul T1 de recoltare, și la momentul T2.

La momentul T1, valorile ariei de sub curbă se situează la 0,786, cu  $p=0,012$ , și înregistrează o valoare prag la 2602,03 pentru care sensibilitatea calculată este de 81,8%, iar specificitatea de 77,5%.

La momentul T2, aria de sub curbă este de 0,727, cu  $p=0,046$  semnificativ statistic, iar valoarea prag de 2270.730 identifica 72.7% pacienți real pozitivi și 23.5% fals pozitivi (specificitate 77,5%).



**Fig 9.4 Curbe ROC MCP-1**

Test Result Variable(s)	Area	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
MCP1-LP	,476	,126	,832	,230	,722
MCP1 SG T0	,642	,110	,213	,426	,858
<b>MCP1 T1</b>	<b>,786</b>	<b>,089</b>	<b>,012</b>	<b>,611</b>	<b>,961</b>
<b>MCP1 T2</b>	<b>,727</b>	<b>,103</b>	<b>,046</b>	<b>,526</b>	<b>,929</b>

**Tabel 9.4 Valorile AUC pentru MCP-1**

Ca și în cazul pacienților septici cu scoruri de gravitate mai reduse, *proteina HMGB-1* nu validează la nici un moment prognosticul sepsisului abdominal.

### III.5. Rolul predictiv al presepsinei, procalcitoninei și lactatului

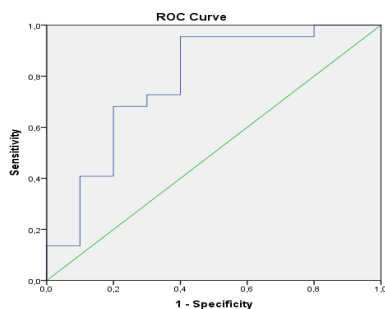
#### în lotul studiat

Cu rolul de mediatori consacrați sepsisului, intens studiați în ultimele decenii, am ales în studiul lotului de pacienți cu sepsis prin peritonită secundară, **presepsina, procalcitonina și lactatul**, dozați la admisia în terapie intensivă, profilul lor fiind relevant pentru pacientul septic critic ce necesită măsuri de terapie intensivă.

Conform testului t s-au identificat următoarele variabile diferențiatore între lotul pacienților cu sepsis și lotul non-septici:

- *Presepsină*: există o diferență statistic semnificativă între lotul pacienților non-septici și cei cu sepsis la nivelul valorii medii a presepsinei ( $t=2,90$ ,  $p=0,007$ ). Astfel, pacienții cu sepsis au avut nivelul mediu al presepsinei mai mare (754 vs. 672).
- *Procalcitonină*: Există o diferență statistic semnificativă între lotul pacienților non-septici și cei cu sepsis la nivelul valorii medii a procalcitoninei ( $t=4,32$ ,  $p=0,001$ ). Astfel, pacienții cu sepsis au avut nivelul mediu al procalcitoninei mai mare (1,99 vs. 0,62).
- *Lactat*: Există o diferență statistic semnificativă între lotul pacienților non-septici și cei cu sepsis la nivelul valorii medii a lactatului ( $t=3,47$ ,  $p=0,002$ ). Astfel, pacienții cu sepsis au avut nivelul mediu al lactatului mai mare (1,18 vs. 0,52).

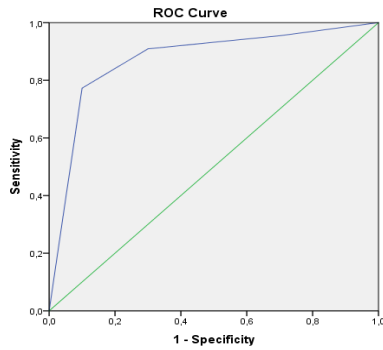
Ca ultimă etapă de verificare a unor factori predictori, realizarea *curbelor ROC pentru presepsină, procalcitonină și lactat, recoltate la momentul T0 la pacienții cu sepsis*, arată astfel:



**Fig 9.8 Curba ROC pentru presepsina la T0 - pacienții cu**

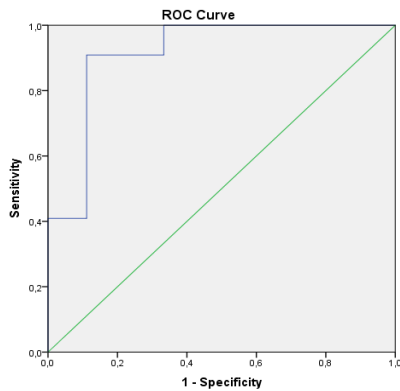


Valorile presepsinei recoltată la momentul T0 în sublotul pacienților cu sepsis prezintă aria de sub curbă (AUC) de 0.77, modelul fiind satisfactor/bun, cu o valoare prag de 0.013, statistic semnificativă[193]; valoarea de cut-off este 1438.00 pg/ml și va identifica 68.2% real pozitivi și 20% fals pozitivi în lotul studiat.



**Fig 9.9 Curba ROC pentru procalcitonină la T0 - pacienții cu sepsis**

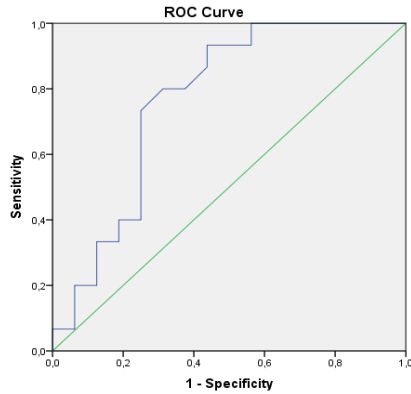
Valorile procalcitoninei recoltată la T0 în sublotul pacienților cu sepsis are aria de sub curbă de 0.873, modelul fiind bun/foarte bun; valoarea prag este 0.001 (semnificativă statistic). La o valoare de „cut-off” a procalcitoninei de 7.5ng/ml va identifica 77.3% real pozitivi și 10% fals pozitivi.



**Fig 9.10 Curba ROC pentru lactat la T0 - pacienții cu sepsis**

Valorile lactatului seric recoltat la T0 de la pacienții septici selectați conform criteriilor ghidului de consens ”Sepsis-3,, formează o arie de sub curbă de 0.914, modelul fiind foarte bun, cu valoare prag de 0.000, semnificativ statistică; valoarea de cut-off de 1,8750mmol/L identifică 90.9% real pozitivi și 11.1% fals pozitivi.

*Pentru pacienții cu disfuncții organice severe, curba ROC pentru lactatul seric la momentul T0 arată astfel;*



**Fig 9.11 Curba ROC pentru lactat la T0 - pacienții cu disfuncții organice severe**

Lactatul seric la momentul T0, pentru pacienții cu peritonită secundară care au dezvoltat disfuncții organice severe în evoluția sepsisului, prezintă o arie de sub curbă (AUC) de 0.767, modelul fiind bun, cu valoare prag de 0.011, semnificativ statistic; la un „cut-off” de 2.1650 mmol/L modelul identifică 73.3% pacienți real pozitivi și 25% fals pozitivi.

Verificările unor posibile corelațiile ale presepsinei, procalcitoninei sau lactatului cu valorile celorlalte biomarkeri studiați în dinamică, nu au avut relevanță statistică decât următoarele cazuri:

**Tabelul 9.15**

Corelație	Valoare Pearson	test p	Interpretare
Procalcitonină-> Lactat	0,46	0,02	Există o corelație moderată și statistic semnificativă (fig. 9.12)
Lactat-> IL6-T0	0,65	0,001	Există o corelație moderată și statistic semnificativă (fig. 9.13)
Lactat->IL8-T1	0,42	0,04	Există o corelație moderată și statistic semnificativă (fig. 9.14)

## IV. Concluzii

Sepsisul rămâne până în prezent un fenomen complex, a cărui rapiditate în diagnosticare și aplicarea unor manevre terapeutice specifice unui anumit prototip de caz, depinde prognosticul vital al pacientului cu această patologie. Deși strategia aplicării precoce și corecte a tratamentului direct adresat infecției, asanarea focarului și antibioterapia țintită a dus la ameliorarea prognosticului sepsisului, rezultatele sunt încă nesatisfăcătoare pentru verdictul final al acestor pacienți. Atât rafinarea metodelor microbiologice de detectare a agentului patogen, tehnicile rapide de PCR, cât și aprofundarea formulelor antibioterapiei, cu monitorizări pK/pD a agentului terapeutic, nu au produs efectele așteptate inițial, ca rezultate statistice la nivel mondial. Este evident că strategia de abordare a sepsisului trebuie schimbată pornind de la principiile fundamentale de analiză ale acestei patologii.

Trecând de la definirea sepsisului cu ajutorul manifestărilor sale, în cadrul sindromului de răspuns inflamator sistemic, la definirea conceptului de sepsis ca fiind un răspuns inflamator necontrolat adecvat la o infecție ce va conduce la instalarea disfuncțiilor de organe, lumea medicală a perceput poate mai exact și mai acurat gravitatea evoluției sepsisului neamendat, din cauza prezenței obligatorii în sepsis a disfuncției organice, uneori oculte dar prezente negreșit, disfuncții ce devoalează alterarea metabolismului mitocondrial, esența energetică a organismului. Pe de altă parte, problemele ce s-au ridicat după această nouă conceptualizare au fost legate de diagnosticarea și cuantificarea gravității anumitor cazuri.

Considerăm în această etapă, că stratificarea pacienților și a tipului de răspuns septic, devin instrumentele primordiale necesare de analizat și imaginat ca plan de lucru pentru folosirea curentă, facilă, la patul bolnavului.

Din această perspectivă, am ales în lucrarea de față numai un tip de patologie septică – peritonita secundară – încercând a suplimenta mijloacele obișnuite de diagnostic și de stabilire a prognosticului bolii, prin adăugarea profilurilor concentrațiilor unor mediatori cunoscuți ai cascadei septice, în speranța beneficiilor utilizării acestora ca biomarkeri serici și/sau peritoneali. Am ales momentul intervenției chirurgicale de urgență ca fiind cel mai facil și demarcant de utilizat pentru pacienții cu această patologie, moment ce dealtfel, în marea majoritate a cazurilor, se află la o distanță de câteva ore de la momentul admisieii în spital și reprezintă în multe cazuri apogeul semnelor clinice, paraclinice și a cascadei septice. Recoltările de biomarkeri inflamatori până la 48 de ore postoperator au urmărit în studiul de

față, evoluția procesului septic dar consider acum, după interpretarea rezultatelor, ca fiind necesară repetarea dozărilor mai frecvent sau în funcție de cinetica fiecărui mediator, până la momentul normalizării acestora; numai în acest mod se vor putea identifica profiluri relevante pentru un anumit subtip de pacient. Totodată, consider că par mai relevante cazului clinic concentrațiile sistemice ale biomarkerilor comparativ cu cele peritoneale locale, și acest fapt se bazează atât pe rezultatele acestui studiu pilot dar și pe argumentul efectelor mai importante la nivel sistemic a acestor mediatori. Nu fără importanță în acest context ar fi și problemele întâmpinate în laborator, în dozările unor probe din lichidul peritoneal contaminate cu materii deversate din intestin, cu precădere cele colonice. În ultimă instanță trebuie să precizez că numărul de teste folosite în studiu a fost limitat de posibilitățile avute.

O altă limitare a studiului derulat a constat în existența unei patologii asociate, pentru mulți pacienți cu peritonită, patologie ce alterează reacția imună inflamatorie dar este prezentă frecvent în practica clinică, deci inevitabilă și, consider pentru un studiu larg viitor, ca fiind un punct relevant, nu excluderea anumitor comorbidități, ci stratificarea cât mai adecvată a tipurilor de pacienți prin folosirea programelor informatice de tip ”machine learning”, pentru gestionarea bazelor largi de date.

Pentru a distinge evoluția nefastă a procesului septic am considerat importantă experiența studiilor anterioare și am folosit ca lot martor pacienți cu aceeași patologie de bază – peritonita acută secundară - dar fără criteriile de sepsis conforme ghidului de consens Sepsis-3. Un alt factor posibil de eroare, după cum am menționat anterior în lucrare, pot fi criteriile clinice și paraclinice de gravitate a sepsisului ce se cumulează comorbidităților preexistente, fiind greu de diferențiat și de aceea stratificarea pacienților devine pasibilă de erori. Criteriile de excludere a pacienților în studiul de față sunt tratamentul imunosupresor de orice tip, administrat în ultimele 6 luni și indexul de masă corporală  $\geq 40$  kg/mpc dar probabil ar fi util de exclus și alte patologii vechi, în special pulmonare. Menționez că nu au fost incluși în studiu pacienți cu boală cronică renală în stadiul de hemodializă.

Un studiu observațional unicentric efectuat în perioada 2017-2020, pe un lot de 1313 pacienți arată că insuficiența de organe, acută sau cronică, este asociată cu mortalitate crescută la 30 de zile la pacienții cu suspiciune de sepsis la admisia în spital; pacienții cu infecții au avut mortalitate mai scăzută, iar scorul SOFA al acestora a predicționat mortalitatea mai corect decât pentru pacienții care nu au avut infecție dovedită ulterior. Insuficiențele cronice

de organe, firesc nu se ameliorează în cursul terapiilor specifice pentru sepsis, contribuie la mortalitate mai ridicată, și de aceea trebuie interpretate cu precauție valorile scorului total SOFA pentru aprecierea efectelor terapeutice în studii intervenționale[187].

În final, tot în contextul limitărilor studiului trebuie precizat bineînțeles, numărul restrâns de pacienți incluși, dar și lipsa fenotipării pacienților, factor decisiv în răspunsul imun la agresiunea septică.

Rolul pilot al studiului de față s-a concretizat prin câteva concluzii esențiale:

1. Rolul de rezervor de biomarkeri al lichidului peritoneal, cu nivele foarte crescute ale IL-6, IL-8, IL-10, HMGB-1 and MCP-1, este evident în toate cazurile de peritonită acută secundară, dar probabil va fi anevoios de clarificat posibilitatea utilizării acestor concentrații de mediatori ca factori de stratificare sau în cadrul unui indice de prognostic, datorită specificității reduse pentru gravitatea sepsisului și a disfuncțiilor de organe. O direcție particulară de explorat ar putea fi rolul dinamicii concentrațiilor anumitor biomarkeri peritoneali în monitorizarea pacienților ce dezvoltă fistule digestive postoperatorii.

Totodată, orientându-ne în funcție de nivelurile crescute ale citokinelor în lichidul peritoneal și posibilitatea plauzibilă biologic de agravare a sepsisului prin acestea, este de explorat valoarea terapeutică a drenajului lichidul peritoneal la pacienții având concentrații intraperitoneale foarte crescute de mediatorii ai sepsisului.

2. Valorile sistemice ale biomarkerilor pro/anti- inflamatori, chemokinelor și a celor asociați injuriei tisulare scad progresiv după evenimentul operator în cazul peritonitelor secundare, și probabil ar fi utilă monitorizarea acestora, ca factori de prognostic, cel puțin pe parcursul primei săptămâni postoperator, sau chiar prelungit pentru pacienții cu infecții trenante sau status imunosupresat.

3. Valorile sistemice foarte crescute ale interleukinei-6 observate în studiu confirmă rolul proinflamator cunoscut, cel puțin în stadiile de debut ale sepsisului cu punct de plecare peritoneal; valorile maxime de IL-6 au fost decelate în lichidul peritoneal comparativ cu valorile din sânge, valori ce au diminuat progresiv de la prima determinare până la cea de la 48 de ore.

Pentru pacienții cu sepsis aria de sub curbă (AUC) obținută pentru valorile IL-6 recoltate la momentul T2, modelul obținut este satisfăcător/bun (AUC= 0,728) cu  $p= 0.049$ , semnificativ statistic. La un cut-off de 307,628pg/ml, modelul identifică 61,1% pacienți reali

cu sepsis, și 20% pacienți fals pozitivi. Pentru pacienții cu disfuncții severe organice(SOFA $\geq$ 7 și APACHE II $\geq$ 24) analiza curbei ROC arată un model satisfăcător/bun pentru valorile momentului T2, cu arie de sub curbă egală cu 0,701 dar cu p mai mare de 0,05, deci ne semnificativă statistic.

4. Determinările interleukinei-8 au arătat valori maxime tot în lichidul peritoneal, valorile serice scad progresiv în dinamică dar se remarcă diferențe ca ordin de mărime față de IL-6, fiind de câteva ori mai mici la nivel sistemic. La momentul T2, pacienții septici prezintă pentru valorile IL-8, o arie de sub curbă egală cu 0.772, cu un model satisfăcător/bun, și o valoare semnificativă statistic a lui p (0.019); valoarea de cut-off relevantă se situează la 42,047pg/ml, identificând 72.2% pacienți real pozitivi și 20% fals pozitivi. Pentru pacienții cu grad înalt de severitate a disfuncțiilor de organe, valorile IL-8 sunt semnificative statistic pentru momentul T2 (p=0,04), aria de sub curbă 0,829 având un model bun, cu sensibilitate de 72,7% , și specificitate înaltă 88,2%, pentru o valoare prag de 59, 476pg/ml.

5. Valorile obținute în dinamică pentru interleukina-10 arată valori similare ca dinamică dar mult mai reduse în general, chiar și comparativ cu valorile IL-8, având diferențe foarte mari între nivelurile peritoneale și cele plasmatiche. La pacienții septici se observă că valorile IL-10 la momentul T1 formează un model bun, cu o valoare ridicată a ariei de sub curbă, 0.800 și p egal cu 0,010, având semnificație statistică. Selectând un cut-off de 2,652pg/ml vom identifica 83.3% cazuri real pozitive cu sepsis și 20% cazuri fals pozitive (specificitate 80%). În cazul pacienților cu disfuncții severe de organ, valorile IL-10 arată un model bun (AUC= 0,797) pentru valorile la momentul T1, semnificativ statistic (p=0,009), cu o valoare prag de 4,81pg/ml, pentru care sensibilitatea testului este de 81,8% (cazuri real pozitive) și specificitatea de 82,4%.

6. Valorile concentrațiilor MCP-1, ca și cele ale HMGB-1 au avut valori asemănătoare ca ordin de mărime cu IL-6, în special la nivel peritoneal, de ordinul miilor de pg/ml, unele cazuri ajungând la valori de peste 30.000pg/ml.

Concentrațiile MCP-1 par a fi cele mai concordante cu evoluția gravă a pacienților cu sepsis abdominal și multiple disfuncții severe de organ, realizând curbe ROC semnificative statistic și la momentul T1 de recoltare, și la momentul T2. La momentul T1, valorile ariei de sub curbă se situează la 0,786, cu p=0,012, și înregistrează o valoare prag la 2602,03pg/ml, pentru care sensibilitatea calculată este de 81,8%, iar specificitatea de 77,5%. La momentul

T2, aria de sub curbă este de 0,727, cu  $p=0,046$  semnificativ statistic, iar valoarea prag de 2270.730pg/ml identifică 72.7% pacienți real pozitivi și 23.5% fals pozitivi (specificitate 77,5%).

7. Concentrațiile HMGB-1 înregistrate la pacienții cu peritonită secundară au fost crescute considerabil, corelându-se după unele studii cu gradul injuriei tisulare și șocul; se remarcă totodată faptul că, este singura citokină ce a înregistrat o dinamică ascendentă a mediei. În studiul de față însă, valorile atât din lichidul peritoneal, cât și cele serice au fost nerelevante statistic.

În concluzie, din datele obținute în studiul de față considerăm ca nu există o corelație între evoluția disfuncției de organe și nivelurile citokinelor din lichidul intraperitoneal la pacienții cu peritonită secundară. În unele studii din literatură, concluziile au fost divergente [34, 184] arătând o corelare a nivelurilor unor citokine peritoneale cu gravitatea evoluției sepsisului. Probabil este necesară o stratificare mai riguroasă a pacienților și creerea unor baze de date mult mai largi, prelucrate prin metode de analiză de tip „machine learning”, pentru a extrage o concluzie mai exactă.

8. Rolul biomarkerilor consacrați ai sepsisului – presepsina și procalcitonina – se confirmă în studiul de față astfel:

-Valorile presepsinei recoltată la momentul T0 în subplotul pacienților cu sepsis prezintă aria de sub curbă (AUC) de 0.77, modelul fiind satisfăcător/bun, cu o valoare prag de 0.013, statistic semnificativă; valoarea de cut-off este 1438.00 pg/ml și va identifica 68.2% real pozitivi și 20% fals pozitivi în lotul studiat.

- Valorile procalcitoninei recoltată la T0 în subplotul pacienților cu sepsis are aria de sub curbă de 0.873, modelul fiind bun/foarte bun; valoarea prag este 0.001 (semnificativă statistic). La o valoare de „cut-off” a procalcitoninei de 7.5ng/ml va identifica 77.3% real pozitivi și 10% fals pozitivi.

9. În ceea ce privește valorile lactatului seric rezultatele obținute sunt concordante cu cele ale literaturii de specialitate, și anume:

- Valorile lactatului seric recoltat la T0 de la pacienții septici selectați conform criteriilor ghidului de consens ”Sepsis-3,, formează o arie de sub curbă de 0.914, modelul fiind foarte

bun, semnificativ statistic; valoarea de cut-off de 1,8750mmol/L identifică 90.9% real pozitivi și 11.1% fals pozitivi.

- Lactatul seric la momentul T0, pentru pacienții cu peritonită secundară care au dezvoltat disfuncții organice severe în evoluția sepsisului, prezintă o arie de sub curbă (AUC) de 0.767, modelul fiind bun, cu valoare prag de 0.011, semnificativ statistic; la un „cut-off” de 2,1650 mmol/L modelul identifică 73.3% pacienți real pozitivi și 25% fals pozitivi.

În ceea ce privește disfuncția multiplă de organe, în ultima decadă au fost realizați pași importanți în detectarea și înțelegerea mecanismelor intime patofiziologice ale acestui sindrom, indiferent de cauza sa declanșatoare, septică sau de altă natură, dar tratamente de bază, eficiente sistematic, și un sistem de prognosticare care să confere siguranța alegerii unei terapii adecvate clinicianului, nu au fost încă dezvoltate [190]. Evoluția complexă a sindromului de disfuncție organică multiplă, modul de declanșare, ca și cel de autoperpetuare în diferite circumstanțe fiziopatologice sunt încă în atenția cercetării în domeniu și necesită clarificări; probabil, calea comună de progresie a disfuncțiilor, pentru multiple patologii și tipuri de pacienți, va fi dezvăluită odată cu noi descoperiri genetice, moleculare ce vor identifica fundamentul biologic, ca și biomarkerii comuni ce declanșează, potențază și imprimă deznodământul sindromului de disfuncție organică multiplă. În tabloul sepsisului, lipsa coordonării sistemului imun, endocrin și nervos central evoluează inexorabil către starea de șoc septic, entitate cu mortalitate crescută dar a carei distincție față de starea septică propriu-zisă este încă cercetată; certitudinea rămâne însă, în ceea ce privește alterările metabolice, celulare, bioenergetice ce apar în final și duc la multiple moduri de moarte celulară, dar intimitatea proceselor fiziopatologice desfășurate succesiv în toate țesuturile și organele, până în acest moment, rămâne să fie clarificată.



## Bibliografie

1. Singer, M.; Deutschman, C.S.; Seymour, C.W.; Shankar-Hari, M.; Annane, D.; Bauer, M.; Bellomo, R.; Bernard, G.R.; Chiche, J.-D.; Coopersmith, C.M.; et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016, 315, 801–810
2. Rudd, K. E. et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* 395, 200–211 (2020)
3. Evans, L. et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med.* 47, 1181–1247 (2021).
4. Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis, Anna C. Aschenbrenner, Michael Bauer , Christoph Bock , Thierry Calandra, Irit Gat-Viks, Evdoxia Kyriazopoulou, Mihaela Lupse, Guillaume Monneret, Peter Pickkers, Joachim L. Schultze, Tom van der Poll, Frank L. van de Veerdonk, Alexander P. J. Vlaar, Sebastian Weis, W. Joost Wiersinga & Mihai G. Netea-The pathophysiology of sepsis and precision-medicine-based immunotherapy- *Nature Immunology* | Volume 25 | January 2024 | 19–28
5. Succi S, Coveney PV. Big data: the end of the scientific method? *Philos Trans R Soc A Math Phys Eng Sci.* 2019;377:20180145.
6. Massimo Sartelli, Matteo Bassetti, Ignacio Martin-Loeches - Abdominal Sepsis A Multidisciplinary Approach - ISBN 978-3-319-59704-1 - Springer International Publishing AG 2018
13. Natalja L. Stanski, Hector R. Wong - Prognostic and predictive enrichment in sepsis - *Nature Reviews, Nephrology*, January 2020, volume 16
14. Andrew Conway Morris, Jennifer Rynne, Manu Shankar-Har - Compartmentalisation of immune responses in critical illness: does it matter? - *Intensive Care Medicine* · September 2022 DOI: 10.1007/s00134-022-06871-2
15. Cavailon JM, Annane D (2006) Compartmentalization of the inflammatory response in sepsis and SIRS. *J Endotox Res* 12(3):151–170
16. Konrad Reinhart, Michael Bauer, Niels C. Riedemann, Christiane S. Hartog - New Approaches to Sepsis: Molecular Diagnostics and Biomarkers - *Clinical Microbiology Reviews*, Volume 25 Number 4 p. 609 – 634, October 2012

17. Maya Cohen, MD and Debasree Banerjee - MD Biomarkers in Sepsis: A Current Review of New Technologies - Journal of Intensive Care Medicine, DOI: 10.1177/08850666231194535, (2023)
18. Tatiana Barichello, Jaqueline S. Generoso , Mervyn Singer and Felipe Dal-Pizzo - Biomarkers for sepsis: more than just fever and leukocytosis—a narrative review - Critical Care 26:14 [https://doi.org/10.1186/s13054-021-03862-5\(2022\)](https://doi.org/10.1186/s13054-021-03862-5(2022))
19. Andrew Teggert , Harish Datta and Zulfiquir Ali- Biomarkers for Point-of-Care Diagnosis of Sepsis - Micromachines 2020, 11, 286; doi:10.3390/mi11030286
20. Charalampos Pierrakos, Dimitrios Velissaris, Max Bisdorff , John C. Marshall and Jean-Louis Vincent - Biomarkers of sepsis: time for a reappraisal - . Critical Care (2020) 24:287
21. Sara Cajander, Matthijs Kox, Brendon P Scicluna et al. - Profiling the dysregulated immune response in sepsis: overcoming challenges to achieve the goal of precision medicine-thelancet.com/respiratory-[https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(23\)00330-2\(2023\)](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(23)00330-2(2023))
22. Cesar Henriquez-Camacho and Juan Losa- Review Article Biomarkers for Sepsis - Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International (Volume 2014), Article ID 547818 Jie Zhao, Teng Zhang, Zhe Deng, Xia Han, Tao Ma, Keliang Xie - Evaluation of Biomarkers from Peritoneal Fluid as Predictors of Severity for Abdominal Sepsis Patients Following Emergency Laparotomy- Journal of Inflammation Research 2023:16 809–826
34. Jie Zhao, Teng Zhang, Zhe Deng, Xia Han, Tao Ma, Keliang Xie- Evaluation of Biomarkers from Peritoneal Fluid as Predictors of Severity for Abdominal Sepsis Patients Following Emergency Laparotomy - Journal of Inflammation Research 2023:16 809–826
115. C E Hack, M Hart, R J van Schijndel, A J Eerenberg, J H Nuijens, L G Thijs, and L A Aarden-Interleukin-8 in Sepsis: Relation to Shock and Inflammatory Mediators Infect Immun. 1992 Jul; 60(7): 2835–2842.doi: 10.1128/iai.60.7.2835-2842.1992
163. Jean-Louis Vincent , Tom van der Poll and John C. Marshall The End of “One Size Fits All” Sepsis Therapies: Toward an Individualized Approach - Biomedicines 2022, 10, 2260. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10092260>

- 164.** Zhengwen Xiao, Crystal Wilson, Helen Lee Robertson, Derek J. Roberts, Chad G. Ball, Craig N. Jenne and Andrew W. Kirkpatrick -Inflammatory mediators in intra-abdominal sepsis or injury – a scoping review - *Critical Care* (2015) 19:373 DOI 10.1186/s13054-015-1093-4
- 166.** Konrad Reinhart, a Michael Bauer, a,b Niels C. Riedemann, a and Christiane S. Hartog New Approaches to Sepsis: Molecular Diagnostics and Biomarkers - October 2012 Volume 25 Number 4 *Clinical Microbiology Reviews* p. 609 – 634
- 167.** Andaluz-Ojeda D, et al. 2012. A combined score of pro- and anti-inflammatory interleukins improves mortality prediction in severe sepsis. *Cytokine* 57:332–336.
- 177.** Wirz Y, Meier MA, Bouadma L, Luyt CE, Wolff M, Chastre J, et al. Effect of procalcitonin-guided antibiotic treatment on clinical outcomes in intensive care unit patients with infection and sepsis patients: a patient-level metaanalysis of randomized trials. *Crit Care*. 2018;22:191
- 179.** Elina Varis 1, Ville Pettilä, Meri Poukkanen, Stephan M Jakob, Sari Karlsson, Anders Perner, Jukka Takala, Erika Wilkman; FINNAKI Study Group-Evolution of Blood Lactate and 90-Day Mortality in Septic Shock. A Post Hoc Analysis of the FINNAKI Study-Shock- 2017 May;47(5):574-581. doi: 10.1097/SHK.0000000000000772.
- 180.** Valentina Carlini, Douglas M. Noonan, Eslam Abdalalem, Delia Goletti, Clementina Sansone, Luana Calabrone and Adriana Albini 5 - The multifaceted nature of IL-10: regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, COVID-19 and post-COVID conditions-Front. Immunol., Sec. Cancer Immunity and Immunotherapy Volume 14, 2023<https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1161067>
- 181.** Joshua David Farkas- The complete blood count to diagnose septic shock -*J Thorac Dis*. 2020 Feb; 12(Suppl 1): S16–S21.doi: 10.21037/jtd.2019.12.63
- 184.** Kjell J, Britt R, Lennart T, et al. Intraperitoneal cytokine response after major surgery: higher postoperative intraperitoneal versus systemic cytokine levels suggest the gastrointestinal tract as the major source of the postoperative inflammatory reaction. *Am J Surg*. 2004;187(3):372–377. doi:10.1016/j.amjsurg.2003.12.019
- 185.** Julian M. Williams, jaimi H Greenslade, Juliet V McKenzie et al – SIRS, QSOFA and organ dysfunction- *CHEST JOURNAL* feb 03/2017 – DOI: <https://doi>

org/10.1016/j.chest.2016.10.057

- 186.** Daniel E Leisman, Clifford S. Deutschman – What is sepsis? What is septic shock? What are mods and persistent critical illness? - Evidence-Based Practice of Critical Care -3<sup>rd</sup> Ed 2020, pg 215-220
- 187.** Erik E. Christensen, MD<sup>1,2</sup> Christian H. Prebensen, MD, PhD<sup>1,2</sup> Anders B. Martinsen, MD et al - Mortality and Sequential Organ Failure Assessment Score in Patients With Suspected Sepsis: The Impact of Acute and Preexisting Organ Failures and Infection Likelihood - *www.ccejournal.org*- February 2023 • Volume 5 • Number 2 (DOI: 10.1097/CCE.0000000000000865)
- 188.** David Andaluz , Ricard Ferrer - SIRS, qSOFA, and organ failure for assessing sepsis at the emergency department - *Journal of Thoracic Disease* 2017;9(6):1459-1462
- 189.** Guo-Dong Sun, Yang Zhang, Shan-Shan Mo, Ming-Yan Zhao-Multiple Organ Dysfunction Syndrome Caused by Sepsis: Risk Factor Analysis - *International Journal of General Medicine* 2021;14 7159–7164
- 190.** Nicholas M. Gourd, and Nikitas Nikitas - Review Multiple Organ Dysfunction Syndrome-*Journal of Intensive Care Medicine* 1-12 – 2019- DOI: 10.1177/0885066619871452 journals.
- 191.** Christian Koch , Fabian Edinger , Tobias Fischer , Florian Brenck et al.- Comparison of qSOFA score, SOFA score, and SIRS criteria for the prediction of infection and mortality among surgical intermediate and intensive care patients-Koch et al. *World Journal of Emergency Surgery* (2020) 15:63
- 192.** Clementina Dumitrașcu, Angelica Bratu, Cristina Spiratos, Bogdan Crețu, Cătălin Cîrstoiu - A Literature Review Prognostic Value of Serum Biomarkers in Secondary Peritonitis-Vol. CXXVI • No. 2/2023 • May • *Romanian Journal of Military Medicine*-  
<https://doi.org/10.55453/rjmm.2023.126.2.4>
- 193.** Dumitrascu C O, Gherghe M, Costache M, et al. (July 11, 2023) The Role of Serum and Peritoneal Biomarkers in Predicting Sepsis and Septic Multiorgan Failure in Patients With Secondary Peritonitis-*Cureus* 15(7): e41724.DOI 10.7759/cureus.41724  
<https://acrobat.adobe.com/id/urn:aaid:sc:EU:22088121-bcb8-479a-8748-cd84e07350db>