

Vizelet és szérum para-, meta- és orto-tirozin szintjének vizsgálata égett és szeptikus betegekben

**Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar
Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet**

Igazgató: Prof. Dr. Bogár Lajos



Témavezetők:

Dr. Csontos Csaba, egyetemi docens

Prof. Dr. Wittmann István, egyetemi tanár

Készítette:

Kovács Patrícia

VI. évfolyam

Pécs, 2014

Tartalomjegyzék

I. BEVEZETÉS.....	5
1. SIRS.....	6
1.1. Definíció	6
1.2. Patofiziológia.....	6
1.2.1. CD receptorok szerepe	6
1.2.2. ROS szerepe a SIRS kialakulásában.....	7
1.2.3. Tirozin származékok, mint az oxidatív stressz markerei	8
2. SEPSZIS	10
2.1. Definíció	10
2.2. Patofiziológia.....	10
3. ÉGÉS.....	12
3.1. Definíció	12
3.2. Patofiziológia.....	13
4. POLYTRAUMA	15
4.1. Definíció	15
4.2. Patofiziológia.....	15
4.2.1. Két találat elmélet	15
4.2.2. SIRS és CARS kialakulása	16
II. CÉLKITŰZÉSEK	17
III. ANYAG ÉS MÓDSZER	18
1. MÉRÉSI MÓDSZEREK:	18
1.1. LAR	18
1.2. Tirozin meghatározás	18
1.3. Egyéb laborparaméterek meghatározása	19
1.4. Mintavétel.....	19
2. BETEGEK	19
2.1. Az egyes csoportok bevételi kritériumai	19
2.2. Kizárási kritériumok	20
3. STATISZTIKAI ANALÍZIS	20
IV. EREDMÉNYEK.....	21
1. DEMOGRÁFIAI ÉS FELVÉTELKORI KLINIKAI ADATOK	21
2. SZÉRUM PARA-TIROZIN SZINTEK	22
3. SZÉRUM META-TIROZIN SZINTEK	23
4. SZÉRUM ORTO-TIROZIN SZINTEK	24
5. SZÉRUM KREATININ SZINTEK.....	25
6. SZÉRUM FENILALANIN (PHE) SZINTEK	26
7. VIZELET PARA-TIROZIN/KREATININ, PARA _{FE} SZINTEK.....	27
8. VIZELET META-TIROZIN/KREATININ, META _{FE} SZINTEK.....	29
9. VIZELET ORTO-TIROZIN/KREATININ, ORTO _{FE} SZINTEK	31
10. VIZELET META-TIROZIN/KREATININ ARÁNY ÉS META _{FE} PREDIKTÍV ÉRTÉKE.....	33
11. A LEUKOCYTA ANTISZEDIMENTÁCIÓS RÁTA (LAR) VIZSGÁLATA.....	35
V. MEGBESZÉLÉS	36
VI. KÖVETKEZTETÉS.....	39
IRODALOMJEGYZÉK	40
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	40

Rövidítések

ABSI	Abbreviated Burn Severity Index
APACHEII	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
AUC	Area Under Curve
C3	Complement 3
C9	Complement 9
CAD	Coronary Artery Diseases
CARS	Compensatory Anti-inflammation Response Syndrome
CI	Confidence Interval
CO	Cardiac Output
CRP	C-Reactive Protein
CVP	Central Venous Pressure
EBA	European Burn Association
FE	Frakcionált Excretio
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IL	Interleukinok
iNOS	indukálható nitrogén monoxid szintáz
IQR	Interquartilis Range
ISS	Injury Severity Score
LAR	Leukocytá Antiszedimentációs Ráta
LBP	Lipopoliszacharid Binding Protein
LPS	Lipopoliszacharid

LT	Leukotriének
MAP	Mean Arterial Pressure
MMF	Macrophage Migratory Factor
MODS	Multiple-Organ Dysfunction Syndrome
MOF	Multi-Organ Failure
NAF	Neutrophil Activating Factor
PCT	Procalcitonin
PG	Prostaglandinok
ROS	Reactive Oxygen Species
SAPS II	new Simplified Acute Physiology Score
ScVO2	kevert vénás oxigénszaturáció
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
SPSS	Statistical Package of S
TBSA	Total Burnt body Surface
TLR4	Toll-Like Receptor 4
TNF	Tumor Nekrózis Faktor
TXA	Tromboxánok

I. Bevezetés

Napjaink gyakorló orvostudományának egyik legnagyobb kihívása a sepszis, illetve sepszes sokk ellátása. Ennek egyik oka feltételezhetően abból a tényből ered, hogy a sepszis, mint kórállapot egy önmagában rendkívül összetett folyamatot képvisel, többféle etiológiával és kimenetellel rendelkezik, és ebből kifolyólag az ellátásában sem követhető egyetlen olyan „séma” mely minden esetben megbízható. Másrészt az esetek azon részében, mikor a sepszes sokk időben és adekvátan ellátásra kerül, akkor sem érhető el jelenleg 40% feletti túlélési arány. Ezen megállapításokat figyelembe véve egy sepszis specifikus, gyorsan vizsgálható labormarker nagymértékben segítheti a sepszis hatékony ellátását. A SIRS, mint közös patofiziológia polytrauma, égés, és sepszis esetében is igazolható. Annak eldöntése azonban, hogy a tüneteket mutató beteg laborértékeinek változását maga a SIRS vagy már egy esetleges fertőzés okozza rendkívül nehéz.

Jelen dolgozat célja, hogy:

- betekintést nyújtson a SIRS mint kórállapot és a sepszis kapcsolatába
- ismertesse a SIRS kialakulásához vezető betegségeket, és azok patofiziológiáját
- bemutassa a sepszis patofiziológiáját
- felvázolja az infektív és a nem infektív SIRS következtében kialakuló aminosav anyagcsere változásokat
- ismertesse kutatásunk eredményeit és az eredményeken alapuló hipotéziseket

Az aminosav anyagcsere változások kutatása különböző betegségek kapcsán egyetemünk egyedülálló témái közé tartozik. A szakirodalomban jelenleg kevés adat áll rendelkezésre e témakör tanulmányozásához. Prospektív tanulmányunkban összehasonlítottuk a non infektív SIRS (polytrauma, égés) következtében kialakuló oxidált aminosavak (para-meta-és orto-tirozin) szérumban és vizeletben szintjeit, az infektív (sepszis) SIRS során mért szintekkel. Eredményeink azt mutatták, hogy a sepszes betegek esetében kialakuló vesekárosodás helyreállítását a vese által termelt para-tirozin megbízhatóan jelzi, valamint a sepszes betegek esetében szignifikánsan magasabb meta-tirozin/kreatinin arány és frakcionált meta-tirozin szintek mérhetők. Ezen meta-tirozin értékek hasonló prediktív értékkel rendelkeznek a konvencionális PCT-vel összehasonlítva. Eddigi eredményeink alapján rendkívül hasznosnak tűnik az oxidatív stressz hatására kialakuló aminosavak vizsgálata.

1. SIRS

1.1. Definíció

Szisztémás Gyulladásos Válaszreakció (SIRS) számos infektív és nem infektív kórállapot hatására kialakulhat. (1) Az 1992 –es ACCP/ SCCM (American College of Chest Physicians/ Society of Critical Care Medicine) Consensus Conference alapján (2), SIRS-ről akkor beszélünk, ha az alább felsorolt kritériumokból kettő teljesül:

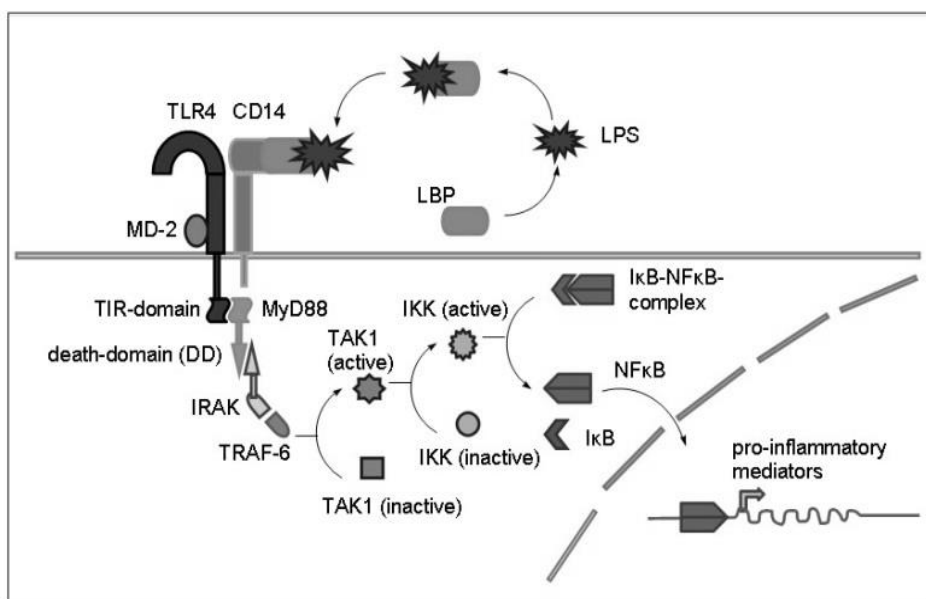
1. Testhőmérséklet 38°C felett vagy 36°C alatt
2. Szívfrekvencia 90/min felett
3. Légzésszám 20/min vagy PaCO_2 32 Hgmm alatt
4. Fehérvérszám 12,000 / μl felett vagy 4,000/ μl alatt

1.2. Patofiziológia

Az infektív és nem infektív SIRS közös jellemzője, hogy az immunrendszer mozgósítása révén gyulladásos kaszkádrendszereket aktiválnak, létrehozva a fent felsorolt tüneteket.

1.2.1. CD receptorok szerepe

Különböző hatások (égés, polytrauma, infekció) során CD14 receptoron keresztüli immunprezentáció jön létre. (3) Az immunkomplexek ún. TLR-hoz kötődnek, aminek eredményeként proinflammatorikus citokin felszabadulás ($\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-6 stb.) jön létre, valamint fokozódik TXA, PG, LT, elasztáz, ROS és iNOS termelődése. (4)



1. ábra. A CD14 receptoron keresztüli immunprezentáció és proinflammatorikus citokinfelszabadulás folyamata (38)

1.2.2. ROS szerepe a SIRS kialakulásában

Egyre több kutatási eredmény utal arra, hogy a szövetsérülés okozta oxidatív stressz kulcsfontosságú szerepet játszik a SIRS kialakulásában. (5) (6) Egyrészt a sérülés hatására felszaporodó leukocyták myeloperoxidáz aktivitása következtében endothel károsodás alakul ki, mely növeli a ROS képződést, másrészt a károsodott endothelium maga is targetté válik a fehérvérsejtek számára, circulus vitiosus indítva. Különböző adhéziós molekulák expresszálódnak, lehetővé téve a leukocyták kapcsolódását, és per diapedesim az interstitiumba jutását, kialakítva az ún. capillary leak szindrómát. (7) Előfordulhat, hogy olyan nagy mennyiségű ROS szabadul fel, hogy az ér pályában tovább sodródva más szövetek károsodását okozza, megteremtve ezzel a többszervi elégtelenség kialakulásának lehetőségét. A ROS ilyen nagymértékű képződését nevezzük oxidatív stressznek. Az inflammatorikus citokin felszabadulása a NADPH oxidáz aktivitást is fokozza a vesében, mely szintén ROS felszabaduláshoz vezet. Mindezek következményeként (vazomotor tónusváltozás, capillary leak, leukocytá és trombocyták aktiváció, procoaguláns faktorok felszabadulása) kialakul a mikrocirkuláció zavara, mely a szövetek oxigénadósságának fokozódásához és progrediáló károsodásához vezet. (8) A felszabaduló szabadgyökök súlyos károsodást okoznak a sejtekben és mitokondriumokban. Ezen károsodások érintik a különböző lipidek, proteinek, aminosavak és nukleinsavak anyagcseréjét. (9) A gyulladás és a szöveti hypoxia feltehetőleg központi szerepet játszik a ROS termelés fokozódásában,

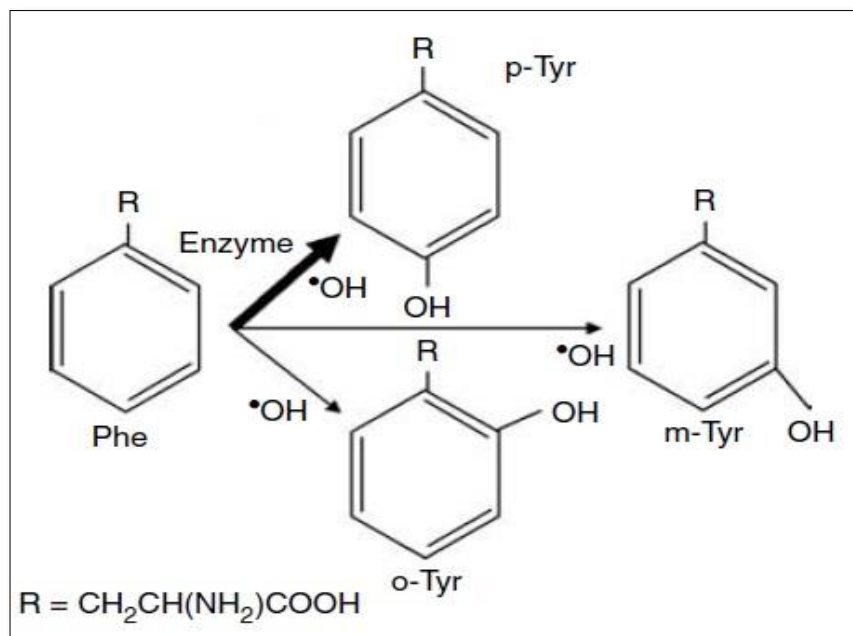
sepsisben, és ezen ROS-k direkt károsító hatást mérhetnek a veseparenchymára, fokozva ezzel a microvasculáris és funkcionális dysregulációt. (10)

Mivel a szabadgyökök féléletideje rendkívül rövid, ezért általában különböző „végtermékeket” használunk kimutatásukra. Több kutatás vizsgálta a myeloperoxidáz oxidatív stresszt követő szintváltozásait, (11) valamint a malondialdehid szint és myeloperoxidáz aktivitás emelkedését a sepsis korai fázisában (12).

1.2.3. Tirozin származékok, mint az oxidatív stressz markerei

Reaktív nitrogén- és hydroxyl szabadgyökök hatására a vesében L-fenilalaninból (Phe) para-meta-és orto-tirozin képződik, melyek szintje szérumból és vizeletből egyaránt stabilan mérhető. (13)

Para-tirozin a vesében fiziológiásan is termelődik a Phe-hidroxiláz által katalizáltan (melyet a különböző szervek protein szintézisre használnak), orto- és meta-tirozin azonban csak oxidatív stressz hatására. (2. ábra) Fontos annak a ténynek az ismerete, hogy a fiziológiás képződés mértéke többszörösen meghaladja az oxidatív stressz indukálta képződést. (14)



2. ábra. Hidroxil szabadgyök hatására kialakuló para-meta- és orto-tirozin szerkezeti képlete. (15)

Kutatásokat végeztek az orto- és para-tirozinszint változásokról diabeteses és krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegekben. Alacsony szérumban para-tirozin szint volt mérhető krónikus veseelégtelen betegek esetén, míg magasabb vizelet értékek voltak megfigyelhetők diabeteses és krónikus vesebetegekben. (15) Egy másik kutatás eredménye azt mutatta, hogy a vizelet albumin/kreatinin arány jól korrelált a vizelet orto-tirozin/kreatinin aránnyal ischaemiás stroke-ot elszenvedett betegek esetében. (16) Magasabb meta-tirozin és orto-tirozin szint volt mérhető cataractás lencsék esetében is. (17)

Ezen adatok alapján a különböző szérumban és vizelet tirozin izoformák lehetséges markerei lehetnek az oxidatív stressz okozta szövetkárosodásnak. (18)

2. SZEPSZIS

2.1. Definíció

Szepszisről (infektív SIRS-ről) abban az esetben beszélünk, ha a SIRS kritériumain kívül infekció vagy annak gyanúja is fennáll. Súlyos szepszisről beszélünk, amennyiben a fentiekhez szervi diszfunkció társul. E beosztás alapján septicus sokkról abban az esetben van szó, ha megfelelő folyadékterápia (20ml/kg krisztalloid oldat adása) ellenére sem haladja meg a szisztolés vérnyomás a 90 Hgmm-t. E megfogalmazás éles ellentétben áll a sokkállapot jelenleg használt definíciójával, miszerint sokkállapot a perifériás keringés elégtelensége, mely a szövetek oxigén keresletének és kínálatának aránytalanságát okozza. Ez azonban nem köthető egy meghatározott vérnyomás értékhez. Érdeemes megemlíteni, hogy a mai klinikumban is használt szepszis kritériumok 1992-ben egy Las Vegas-i hotelszobában születtek meg közös megegyezés és nem evidenciák alapján. E konferencia célja elsődlegesen az volt, hogy e tüneteket mutató betegeket tudományosan is vizsgálható csoportba helyezze. Ezen megállapítást figyelembe véve a szepszist önmagában nem tekinthetjük egy meghatározott betegségnek, annál inkább egy kórállapotnak, melynek kritériumai, értékei mai tudásunk szerint objektíven nem alátámaszthatók, magyarázhatók. A szepszis diagnózisához jelenleg az ACCP/ SCCM Consensus Conference 2001-es módosított kritériumait használjuk, ami viszont időigényes. (2)

2.2. Patofiziológia

Szeptikémia esetében a szövetsérülés oka exogén vagy endogén infektív ágens, legtöbbször bacteraemia, mely megfelelő mikrobiológiai tenyésztéssel az esetek csak egy részében igazolható. A kórállapot hátterében fungaemia, parasitaemia, viraemia és egyéb ritka kórokozó is állhat.

Ha az infekció hátterében G- kórokozó áll (E.Coli, Pseudomonas, Klebsiella, Proteus), a bakteriális LPS a máj által termelt LBP-hez kapcsolódva komplexet képez (lsd. 1. ábra). A septicus sokk összes celluláris és haemodinamikai hatása reprodukálható LPS-adásával. (19) Ezután a komplex kapcsolódik a makrofágokon, monocytákon és neutrofil granulocytákon lévő CD14 receptorhoz (3), míg G+ mikrobák esetében a sejttel önmagában képes a CD14 receptorhoz kötődni. Ez proinflammatorikus citokinek felszabadulásához vezet (TNF, IL-1 majd IL-6, IL-8) (4). Már 10 pg/ml dózis esetén

receptoraktiváció alakul ki, mely intracelluláris szignálokat indukál TLR4/TLR2-n keresztül. Közepesen súlyos fertőzések esetén a LPS szint magasabb, így bizonyos citokinindukált másodlagos faktorok kerülnek előtérbe, mint a NO, trombocytaaktiváló faktor, arachidonsav anyagcsere aktiváció illetve a ROS felszaporodás, melyek szintén szerepet játszanak a folyamatok erősítésében, az állapot súlyosbításában. A nagymértékű citokinfelszabadulás következményei:

- szisztémás vasodilatatio
- csökkent miocardialis kontraktilitás
- kiterjedt endothelkárosodás és szisztémás leukocyta-aktiválás, adhézióval
- alvadási rendszer aktivációja, mely végül DIC-hez vezethet

Továbbiakban a folyamat azonos módon játszódik le, mint a SIRS patofiziológiájánál leírtakban. (lsd. 1.2.2.)

3. ÉGÉS

3.1. Definíció

Égésnek nevezzük a szervezet termikus behatás következtében létrejövő traumáját, mely érintheti a kültakarót, légutakat, szájüreget, nyelőcsövet. 15 % feletti testfelszín sérülés az egész szervezet megbetegedését okozza, életveszélyes kórképet eredményezve.

3.1.1. Az égés súlyosságának és kiterjedésének megítélése

Az égés súlyosságát befolyásolja az égés mélysége, és kiterjedése. Az égés mélysége függ az expozíció időtartamától és a hőmérséklettől. Egyéb, de nem elhanyagolható befolyásoló tényezőként említhető a beteg életkora, társbetegségei, az égés lokalizációja, és az ellátás színvonala.

A EBA (European Burn Association) 2002-ben megjelent osztályozása alapján (20) az égés mélysége szerint megkülönböztetünk:

- 1) felszínes égést (korábban I.fokú), ahol a sérülés az epidermisre lokalizálódik, kifejezett fájdalommal, kistokus oedemával és hyperaemiával jár, vesiculaképződés nélkül.
- 2) részleges mélységű égést (II. fokú), mely az epidermisen kívül az dermist is érinti, azt két csoportra osztva, miszerint:
 - a) felületes részleges mélységű égés esetén a sérülés a dermis papilláris rétegét nem haladja meg (II/1). Ilyenkor az epidermis necrotizál, szalmasárga bennéki vesiculák jelennek meg (transsudatum), a sérülés fájdalmas, ödémás, de érzőképesége megtartott marad.
 - b) mély részleges mélységű égés esetén a sérülés a dermis valamennyi rétegét érinti (II/2), az epidermis necrotizál, a vesiculák (bullák) alapja azonban foltosan vagy egyneműen halvány, vagy szederjes vörös, a bullák bennéke véres, a bőr fehér száraz, jelezvén a keringés hiányát a sérült szövetekben. A sérülés fájdalmas, ödémás, de érzőképesége megtartott marad.
- 3) teljes mélységű (III. fokú) égés a bőr teljes vastagságára és az alatta fekvő anatómiai struktúrákra is kiterjed, elhal mind az epidermis, mind a dermis rétege, sérül a subcutis, illetve ennél súlyosabb esetben (régén IV. fokú) a bőr alatt lévő izomrétegek, akár a csont is. Ebben az esetben a sérülés fájdalommentes,

ugyanis sérül a beidegzés, a bőr lehet fehér, sárga, barna, vagy akár teljesen fekete színű, karbonizálódott.

3.1.2. Az égésbetegség

Az égés kiterjedését az érintett testfelszín (TBSA) %-ában adjuk meg, melyet különböző sémák alapján határozhatunk meg (Wallace, Lund-Browder). A beteg életkora és a TBSA alapján számolható az ún. Baux index, mely a várható prognózist jósolja meg.

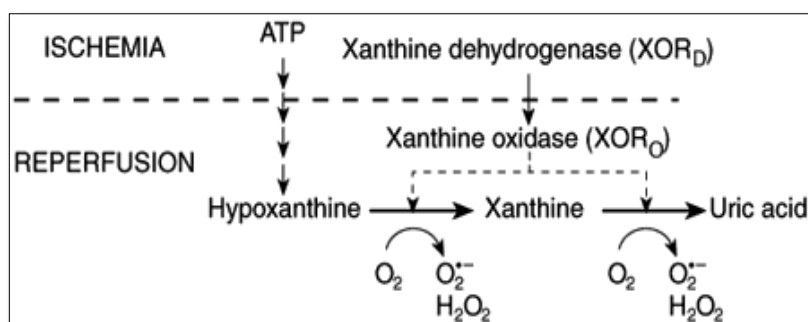
TBSA % + a beteg kora (év)

Baux-pont:	Kimenetel:
75 alatt	Jó prognózis
75-100	A kimenetel kétes
100 felett	Rossz prognózis

15% feletti TBSA esetén az egész szervezetet érintő égésbetegség alakul ki, mely egyik legszembetűnőbb következménye az oedemaképződés, majd a nagyfokú SIRS kialakulása.

3.2. Patofiziológia

Az égés során károsodott sejtekből különböző vazoaktív mediátorok szabadulnak fel, melyek szerepet játszanak a kapilláris és interstitium károsodásban. Ennek oka elsősorban a sejtek hypoxiája következtében kialakuló membránpermeabilitás fokozódás, TXA/PG arány eltolódás és sejtduzzadás, valamint a xantin dehidrogenáz átalakulása xantin oxidázzá, és ez által a ROS termelésének fokozódásán keresztül kialakuló reperfüziós károsodás.(3. ábra)



3. ábra. A xantin oxidáz szerepe az ischaemia reperfüziós károsodásban (39)

Ezen mediátorok hatására órákon belül neutrophil granulocyták jelennek meg, és a belőlük felszabaduló lizoszomális enzimek, citokinek, szabadgyökök további sejtkárosodáshoz vezetnek. Ezzel egyidőben az interstitiumban lévő kollagén, hyaluronsav és egyéb molekulák kémiai és mechanikai kötése felbomlanak, és így már nem tudják megakadályozni a mátrixállomány duzzadását. Ozmotikusan aktív molekulák jönnek létre, mely szintén oedema kialakulásához vezet. A kapilláris permeabilitás, valamint az extracelluláris mátrix ozmotikus nyomásfokozódása következtében albumin lép ki az interstitiumba, ami súlyos hypovolémiához, hypovolaemiás sokkhoz vezet. Ezen patomechanizmust figyelembe véve, az égett beteg minél hamarabbi folyadék-resuscitációjához az első 12 órában kolloidok nem ajánlottak, t.i. a nagymértékű kapilláris permeabilitás miatt azok szintén az interstitiumba jutnának. Az egyre fokozódó oedema rontja a szövetek vérellátását, circulus vitiosus kialakítva, valamint az intraabdominális nyomásfokozódás következtében compartment-szindróma alakulhat ki, mely szintén szövetkárosodáshoz vezet. Az első 12-24 órában az ún. apályfázis („ebb”) alakul ki, melyre jellemző a hypometabolizmus, hypotermia, csökkent O₂ fogyasztás, és hypovolémiás keringés. Ezt követően a képződő szabadgyökök és citokinek hatására alakul ki az ún. dagályfázis („flow”) melyre a hypermetabolizmus, hypertermia, fokozott O₂ igény, hyperdinámiás keringés jellemző. Nő a catecholaminok, a cortisol, a glukagon, renin-angiotenzin, LDH és aldosteron termelése. Ezek következménye a nátrium és vízretenció és a kálium kiválasztása a veséken át. A szervezet az energiát glikogén lebontásából anaerob glikolízis útján pótolja. Az állandó magas catecholamin szint fokozza a glukoneogenezist és a fehérjebontást is, aminek következményei: fehérje katabolizmus, glükóz intolerancia, jelentős testsúlyvesztés.

A sepszis diagnózisához égett betegek esetén a hagyományos sepszis kritériumok nem használhatók, ezért az American Burn Association ajánlása alapján a módosított kritériumokat alkalmazzuk. (21)

4. POLYTRAUMA

4.1. Definíció

Tscherne definíciója alapján polytraumáról beszélünk, ha olyan több szervet, illetve szervrendszert érintő sérülés kombinációja áll fenn, ahol az egyik sérülés, vagy több sérülés együttes hatása az életet közvetlenül veszélyezteti. Ezen szervrendszerek közé tartoznak a koponya, mellkas, has, medence, gerinc, és a végtagok. Súlyosságának megítélésére az ISS (Injury Severity Score) használható, mely a fontos szervrendszerek sérüléit 1-6-ig pontozza. A három legnagyobb érték négyzeteit összeadva polytraumáról beszélünk, ha az $ISS > 16$ (4. ábra).

Body region	Injury	AIS*	Top three AIS scores squared
Head/Neck	No injury	0	
Face	No injury	0	
Thorax	Flail chest	4	16
Abdomen	No injury	0	
Extremity	Femur fracture	3	9
External	Contusion	1	1
Total ISS			26

* Abbreviated Injury Scale.

4. ábra Injury Severity Score (40)

4.2. Patofiziológia

4.2.1. Két találat elmélet

Polytrauma kapcsán különböző mechanizmusok alakulnak ki, melyek az ún. primer és szekunder inzultusokra adott válaszreakciók. Direkt vagy indirekt behatás révén a szervkárosodás, szövetkárosodás, törés jelenti az első „ütést”, melyet a trauma a szervezetre mér. Az ezután kialakuló másodlagos károsodások, az esetlegesen elengedhetetlen intenzív osztályos, sebészeti beavatkozások újabb „ütést” mérnek az amúgy is sérülékeny szervezetre és elősegítik a SIRS kialakulását olyan mértékű gyulladásos választ indukálva, ami többszervi elégtelenséghez vezethet.

4.2.2. SIRS és CARS kialakulása

SIRS kialakulása a traumát követő második naptól figyelhető meg. Incidenciája a koponyatraumák esetén a legmagasabb. Helling és munkacsoportja kutatásai alapján ennek oka valószínűleg a gliasejtek és astrocyták megnövekedett pro- és antiinflammatorikus mediátortermelése, amely szisztémás válaszreakciót vált ki. (22) A traumát követő 1-2 órában a hyperakut molekulák plazmaszintjének emelkedése figyelhető meg (TNF, IL-1). Ezután másodlagos szubakut citokinek aktiválódnak (IL-6, IL-8, NAF, MMF), melyek megemelkedett szintje mind a szérumból, mind a bronchialis váladékból mérhető. Ezen felül az IL-6 szint szorosan korrelál az ISS értékekkel. (23) A proinflammatorikus citokinfelszabadulás leukocytáknak felszaporodást és proteázaktivációt okoz, és ez által elősegíti az oxigén szabadgyökök felszaporodását.

Ezzel ellentétben antiinflammatorikus citokintermelés is fokozódik a 2-es típusú T-helper sejteknek és makrofágoknak köszönhetően, főleg IL-4, IL-10 és IL-13 hatására. Ezen folyamatot nevezzük kompenzatorikus antiinflammációs válasszindrómának (CARS). Feltételezhetően e két szorosan összefüggő folyamat finom egyensúlyának CARS irányba történő eltolódása a polytraumatizált beteget esendővé teszi az infekciókkal szemben.

II. Célkitűzések

A fentiekből látható, hogy többféle kórállapot vezethet SIRS kialakulásához. A SIRS megléte képezi a jelenlegi szepszis definíció alapját, így azokban az esetekben, amikor a SIRS nem infekció következtében már fennáll pl. égett és polytraumatizált betegek esetében nehéz a fellépő bakteriális infekciót felismerni. A differenciálásnak mégis nagy jelentősége van, ugyanis a beteg későn észlelt és kezelt septicus állapota halálhoz vezethet, irodalmi adatok alapján septicus sokkban, az első órán túli antibiotikum adás esetén a mortalitás szignifikánsan emelkedik. Ugyanakkor az indokolatlan antibiotikum használat rezisztens törzsek kifejlődését okozhatja. A kritikus állapotú beteg esetében nincs idő megvárni a tenyésztés eredményét, másrészt a negatív haemokultúra pedig nem zárja ki az infekciós eredetet. A különböző etiológiájú SIRS elkülönítésére jelenleg a procalcitonint (PCT) és C-reaktív proteint (CRP) használjuk, melyek értéke sajnos nem elég specifikus a septicus állapotra, hiszen a már említett állapotokban, de akár műtét hatására is megemelkedhetnek. Egy éppen most megjelent vizsgálat erősen megkérdőjelezi a PCT használhatóságát égett betegek szepszisének diagnosztikájában, helyette a pro BNP-t és hemodinamikai paramétereket javasol (24). Részben az itt megfogalmazott okok miatt a PCT vonatkozásában sebészeti és belgyógyászati betegekben más-más cut off pontot alkalmazunk.

Ezért célunknak tűztük ki egy olyan szérum vagy vizelet marker felderítését, melynek segítségével elkülöníthető a két kórfolyamat egymástól. Ez alapján lehetővé válna egy racionális antibiotikus terápia.

III. Anyag és módszer

1. Mérés módszerek:

1.1. LAR

Szeptikus betegekben az aktivált leukocyták megduzzadnak és süllyedéscsőben felfelé mozdulnak el – ezt leukocyt antiszedimentációnak nevezzük (25). LAR mérését egy egyszer használatos süllyedéscsőben egy óra gravitációs szedimentációt követően mértük. A LAR megadja azoknak a leukocytáknak a számát, melyek az egyórás szedimentáció során felefelé átlépik a csőben lévő vérminta felezővonalát, az eredeti leukocyt szám százalékában. Ehhez meghatároztuk a felezővonal feletti és alatti leukocyt számot majd a következő képlettel meghatároztuk a LAR-t.

$$\text{LAR} = 100 \times \frac{(\text{felső-alsó})}{(\text{felső+alsó})}$$

A LAR mérése ágy mellett végezhető olcsó eljárás (25) (26) (27).

1.2. Tirozin meghatározás

A vérmintákat centrális vénás kanülből vettük, majd centrifugáltuk. A szérumot és a vizeletet -80 °C-on tároltuk. Vizsgálatkor 125 µl triklórecetsavat adtunk 500 µl szérumhoz illetve vizelethez, majd hidegen inkubáltuk 30 percig, és centrifugálással elkülönítettük a precipitátumot. A keletkezett szupernatánt egy 0.2 µm-es filteren átszűrtük az analízis előtt. Ezután reverz fázisú HPLC fluoreszcens vizsgálat segítségével megállapítottuk a para-, meta-, orto-tirozin és fenilalanin szinteket. ($\lambda_{\text{EX}}=275$ nm, $\lambda_{\text{EM}}=305$ tirozinok esetében, $\lambda_{\text{EX}}=258$ nm fenilalanin esetében).

Mivel az intenzív osztályos betegek esetében a vizelet mennyisége és koncentrátsága változó, ezért kiszámoltuk a vizelet meta-tirozin kreatinin arányt, illetve a meta-tirozin kreatinin clearancehez viszonyított frakcionált excretioját (meta_{FE}). A következő képlet példaként a meta-tirozin FE kiszámítását mutatja.

$$\text{Fe}_{\text{mTyr}} (\%) = \frac{\text{Clear}_{\text{m-Tyr}}}{\text{Clear}_{\text{creat}}} \times 100 = \frac{U_{\text{m-Tyr}} \times V}{S_{\text{m-Tyr}}} \div \frac{U_{\text{creat}} \times V}{S_{\text{creat}}} \times 100 = \frac{U_{\text{m-Tyr}} \times S_{\text{creat}}}{U_{\text{creat}} \times S_{\text{m-Tyr}}} \times 100$$

1.3. Egyéb laborparaméterek meghatározása

A PCT és a CRP és egyéb laborparaméterek szérumban és vizelet koncentrációját rutin laboratóriumi tesztekkel mértük.

1.4. Mintavétel

Felvételkor majd az azt követő 4 nap reggelén (7:00) történt mintavétel. A vizeletvizsgálatot 24 órás gyűjtött vizeletből végeztük.

2. Betegek

A klinikai kísérletek kivitelezése az Orvos-világszövetség Helsinki deklarációja etikai irányelveinek megfelelően történt. Az etikai bizottság engedélye (4422) után, személyes vagy a családtag által szignált írásos beleegyezést követően kerültek a betegek bevonásra. Prospektív vizsgálatunkat 46 betegen végeztük, akik 2012 szeptember 1. és 2014 február 28. között kerültek felvételre a PTE KK AITI Akác úti intenzív osztályára.

2.1. Az egyes csoportok bevételi kritériumai

Szeptikus csoport: intenzív ellátást igénylő kritikus állapotú betegek, akiknek felvételkor bizonyítottan súlyos infekciójuk volt (n=26). A szepszis diagnózisa az ACCP/SCCM, égetteknél az ABA guideline alapján történt. (2) A bacteraemia fennállását mikrobiológiai vizsgálatokkal bizonyítottuk és követtük.

SIRS csoport: súlyosan polytraumatizált ISS > 16 (n=8) és illetve a testfelület 15 %-át meghaladó égett betegek (n=12). E csoportban bármilyen bakteriális, vírusos vagy gombás infekció kizárható volt az intenzív osztályos felvételkor. A betegek mikrobiológiai eredményei negatívak voltak. Égett betegeknél az ABA módosított szepszis kritériumokat használtuk (21).

2.2. Kizárási kritériumok

- A beteg immunszuppressziós kezelés alatt áll
- Immunmodulációt okozó radio-vagy kemoterápia a megelőző 12 hónapon belül
- Autoimmun betegség
- Vérbépzőszervi tumoros betegség
- SIRS csoport esetén a fennálló infekció
- Oliguria a felvétel időpontjában (nem lehetséges a vizeletgyűjtés)

3. Statisztikai analízis

Statisztikai analízisre az SPSS (Statistical Package of Social Sciences) 20.0 verzióját használtuk. Tendenciák vizsgálatára Jonckheere-Terpstra tesztet használtunk. A csoporton az belüli időbeli változásokat non-parametrikus ANOVA tesztel vizsgáltuk, e teszt szignifikáns eredménye esetén az egyes napok post hoc összehasonlítását Mann-Whitney U tesztel végeztük. Hasonlóan Mann-Whitney U tesztel használtunk a két csoport egyes napjainak összehasonlítására. A változók közti korellációt Spearman tesztel vizsgáltuk. ROC tesztel a markerek specificitását és szenzitivitását állapítottuk meg. Az adatokat, mint mediánt és interquartilis range-et (IQR- standard 25-75) és percentil értéket (5 illetve 95 konfidencia intervallum) adtuk meg. Az eredményeket $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak.

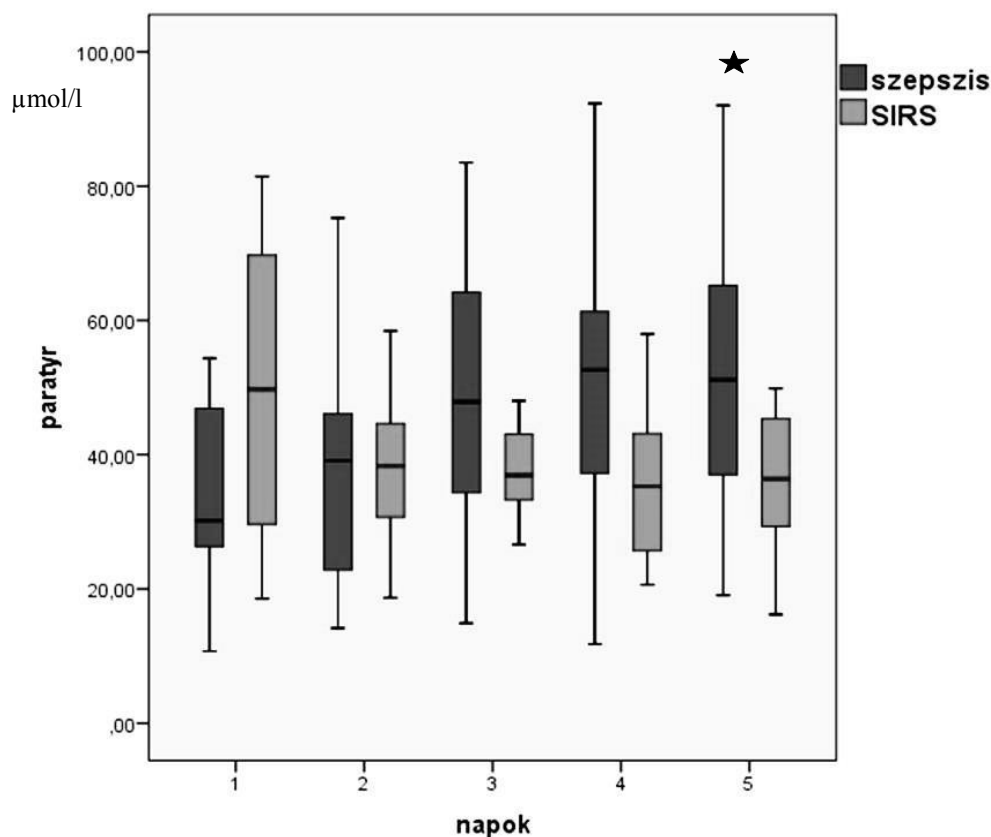
IV. Eredmények

1. Demográfiai és felvételkori klinikai adatok

	égés	polytrauma	szepszis
ffi	9	5	14
nő	3	3	12
életkor	66(27-87)	48(21-69)	64(27-90)
ISS		57(50-66)	
APACHEII	11(2-30)	10(1-27)	15(2-30)
MODS	3(0-14)	4(0-11)	5(0-19)
SAPSII	31(11-88)	23(8-59)	34(8-70)
SOFA	4(0-20)	4(0-15)	6(0-17)
TBSA	31(15-70)		
mélyégés	23(10-50)		
ABSI	7(4-10)		

	égés	polytrauma	szepszis
pH	7,39 (7,01-7,51)	7,4 (7,12-7,50)	7,38 (6,88-7,59)
PaO2 (Hgmm)	134 (50-91)	105 (57-208)	103 (45-549)
PaCO2 (Hgmm)	41 (29,0-108)	40 (33-51)	40 (21-78)
HCO3 (mmol/l)	24,8 (10,3-34,2)	25,56 (12,4-29,9)	24,23 (3,8-40,8)
Na (mmol/l)	137 (130-149)	136 (128-143)	138 (127-157)
K (mmol/l)	4,3 (3,30-6,2)	4,4 (3,43-5,72)	4,17(2,57-6,2)
Creat (μmol/l)	79 (39-332)	92 (56-224)	133 (34-449)
Fvs (G/l)	12,9 (3,7-45,7)	10,7 (3,2-22,2)	18,9 (3-53)
Htc (%)	37,5 (22,9-55,7)	28,9 (17,8-41,4)	30,9 (14-44,1)
Tct (G/l)	188 (49-494)	161 (23-458)	145 (5-383)
CRP (mg/l)	98 (0,22-251)	162 (0,8-404)	186 (20-485)
PCT (ng/ml)	3,96 (0,04-39,13)	7,74 (0,07-76,79)	18,08 (0,12-100)
MAP (Hgmm)	84 (44-142)	85 (62-117)	81 (10-119)
CVP (Hgmm)	8 (-3-26)	8 (1-19)	12 (-3-30)
Hőm (°C)	37,4 (32,8-40)	37,4 (36-39,7)	37,3 (34,2-40,1)
Phe (μmol/l)	61,8 (20,1- 145)	52,6 (12,3- 87,5)	80,4 (3,9- 885,8)
p-tirozin (μmol/l)	39,2 (16,1-81,4)	37 (21,2-61,7)	43,9 (10,7-92,3)
m-tirozin (nmol/l)	13,6 (0,98-68,09)	61,4 (0,0-1147,6)	46,8 (0,0-643,2)
o-tirozin (nmol/l)	79,7 (1,8-881,2)	10,1 (3,4-20,5)	28,1 (0,4-250,6)
vm-tirozin (nmol/l)	85 (1,6-494,7)	944,2 (2,3-17666)	972 (0,04-32064,9)
vm/crea (nmol/mmol)	0,01 (0,00039-0,14)	0,01 (0,00049-0,035)	0,285 (0,0-8,0082)
metaFE (%)	20 (0,07-146)	28 (0,32-259)	132 (0,03-3279)

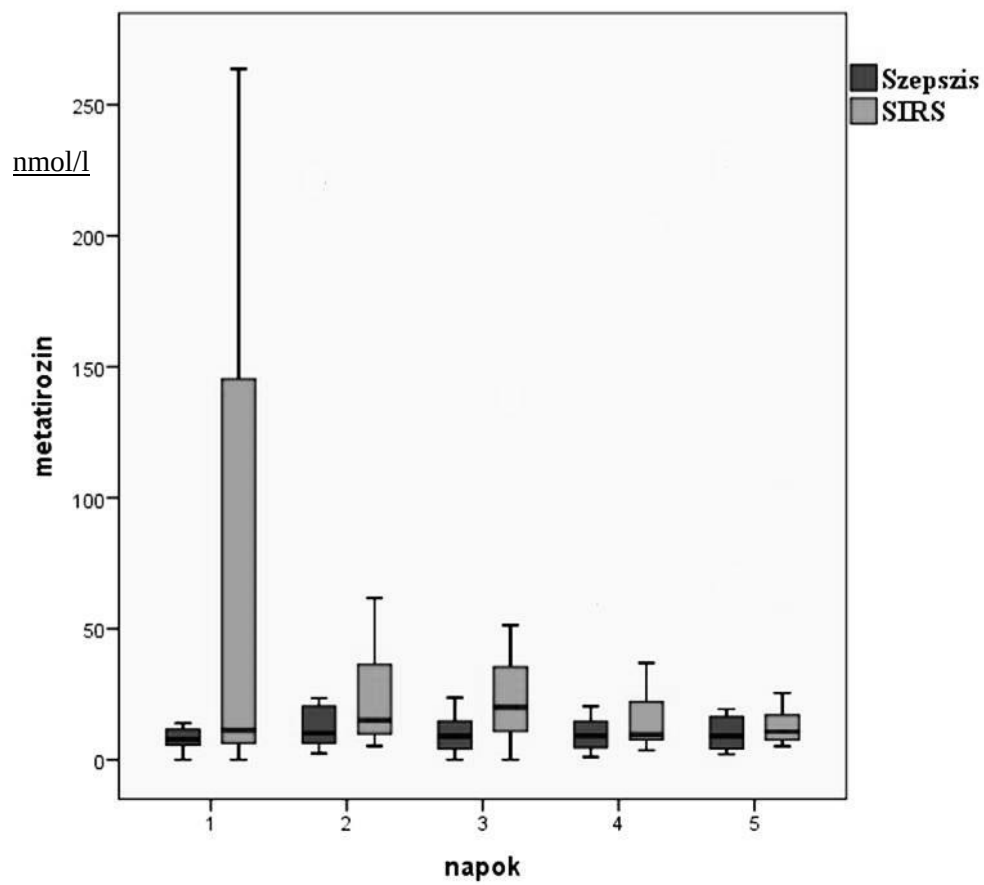
2. Szérumban para-tirozin szintek



5. ábra. A szérumban paratirozin szint változása SIRS és szepszis csoportban

Szeptikus betegekben a szérumban para-tirozin szint szignifikánsan emelkedő tendenciát mutatott ($p=0,001$), míg a SIRS csoportban az értékek nem mutattak szignifikáns változást. A két csoport között az 5. napon szignifikáns különbség volt látható ($p<0,05$), az értékek sepszes betegekben magasabb szintet értek el.

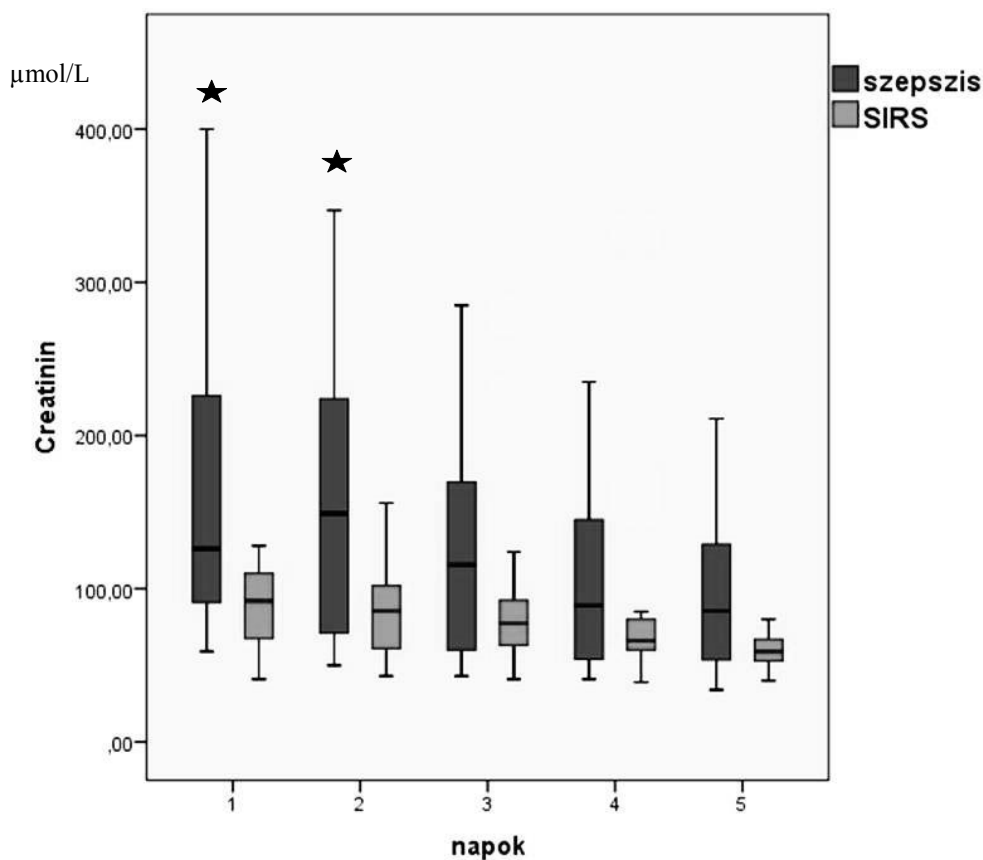
3. Szérumszén-tirozin szintek



6. ábra. A szérumszén-tirozin szintek a két csoportban

A szérumszén-tirozin szintek nem mutattak szignifikáns eltérést a vizsgált csoportokban.

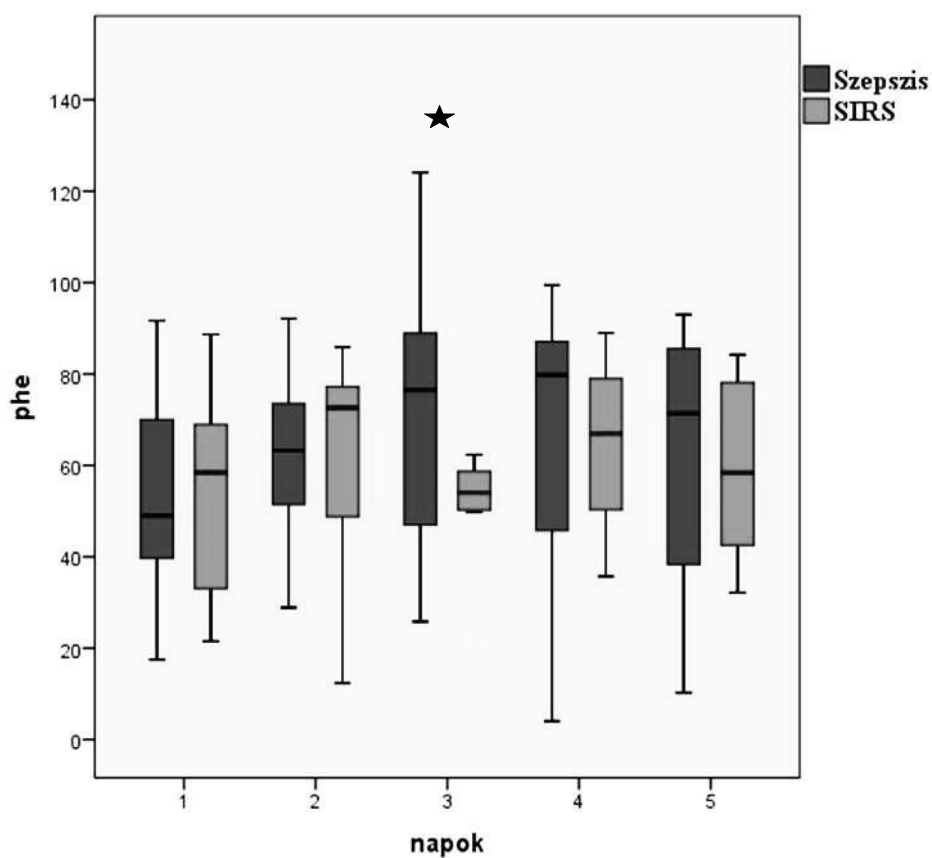
5. Szérumszérumszintek



8. ábra. Szérumszérumszintek változások a sepszes és SIRS csoportban

A szérumszérumszintek értékek mind a két csoportban szignifikánsan csökkenő tendenciát mutattak (SIRS $p=0,001$) (Sepszis $p=0,002$). Azonban a SIRS csoport esetében a szérumszintek a normál tartomány felső határát nem lépték át, így e csoport eredménye klinikailag nem releváns. A két csoport között az első a második napon szignifikáns különbség volt mérhető, sepszes betegekben emelkedett szérumszintekkel.

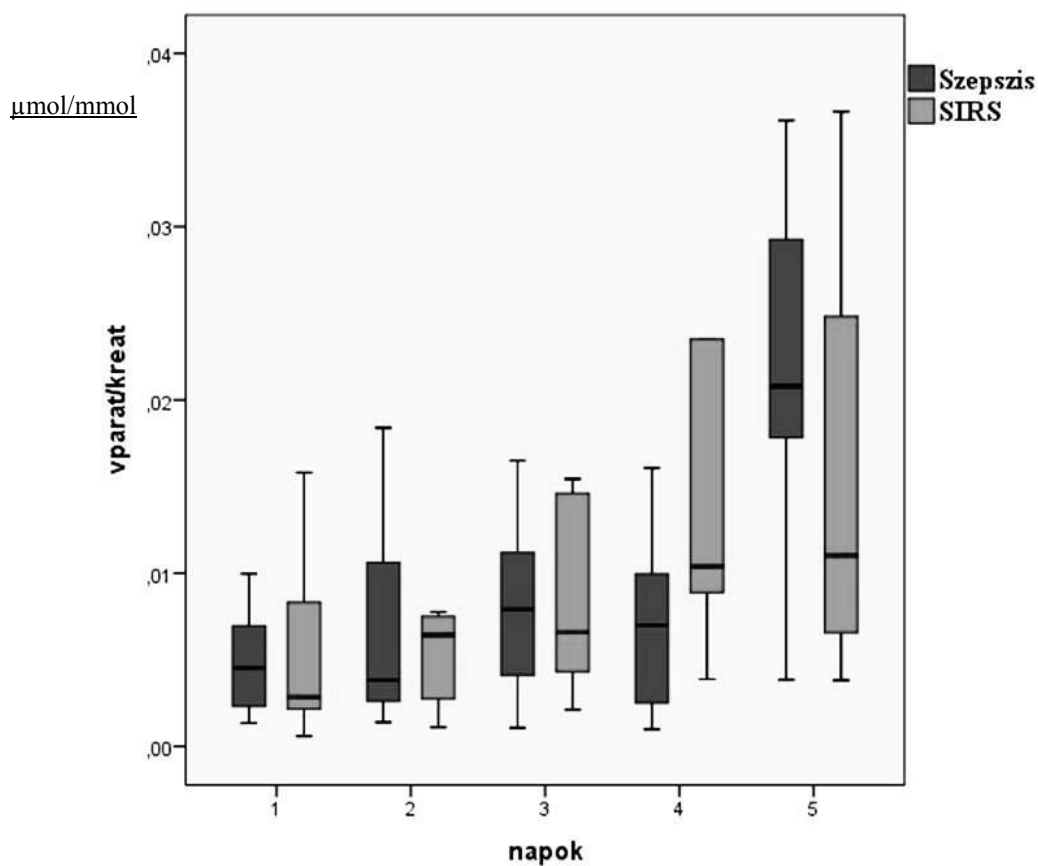
6. Szérum Fenilalanin (Phe) szintek



9. ábra. Szérum Fenilalanin (Phe) szint változások a két csoportban

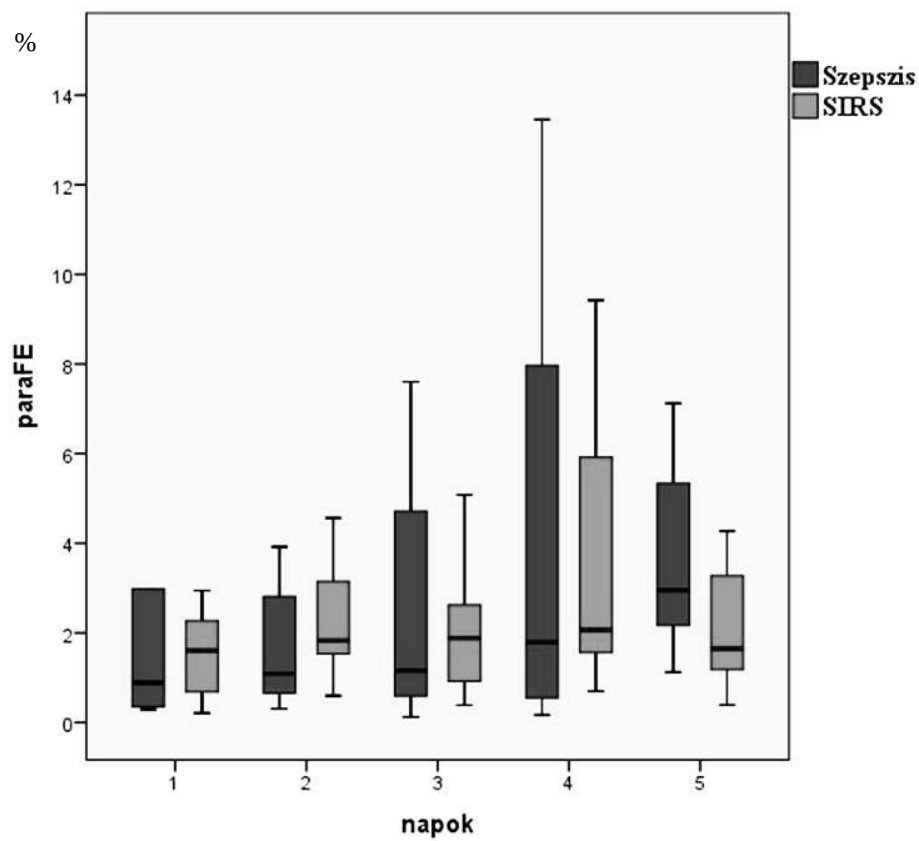
Magasabb Fenilalanin szint volt mérhető az irodalomban említett normál Fenilalanin értékekhez képest a szepszis csoportban. Szeptikus betegekben szignifikánsan magasabb Phe szint volt megfigyelhető a 3. napon a SIRS csoporthoz képest ($p < 0,05$), a Phe szeptikus betegekben a napok során emelkedő tendenciát mutatott, míg a SIRS csoportban nem.

7. Vizelet para-tirozin/kreatinin, para_{FE} szintek



10. ábra. A vizelet para-tirozin/kreatinin arány a két csoportban

A vizelet para-tirozin kreatinin arány folyamatosan emelkedett a vizsgált periódus 5. napjáig septicus betegekben, valamint különbség mutatkozott a két csoport között az 5. napon, azonban ezen értékek nem voltak szignifikánsak.

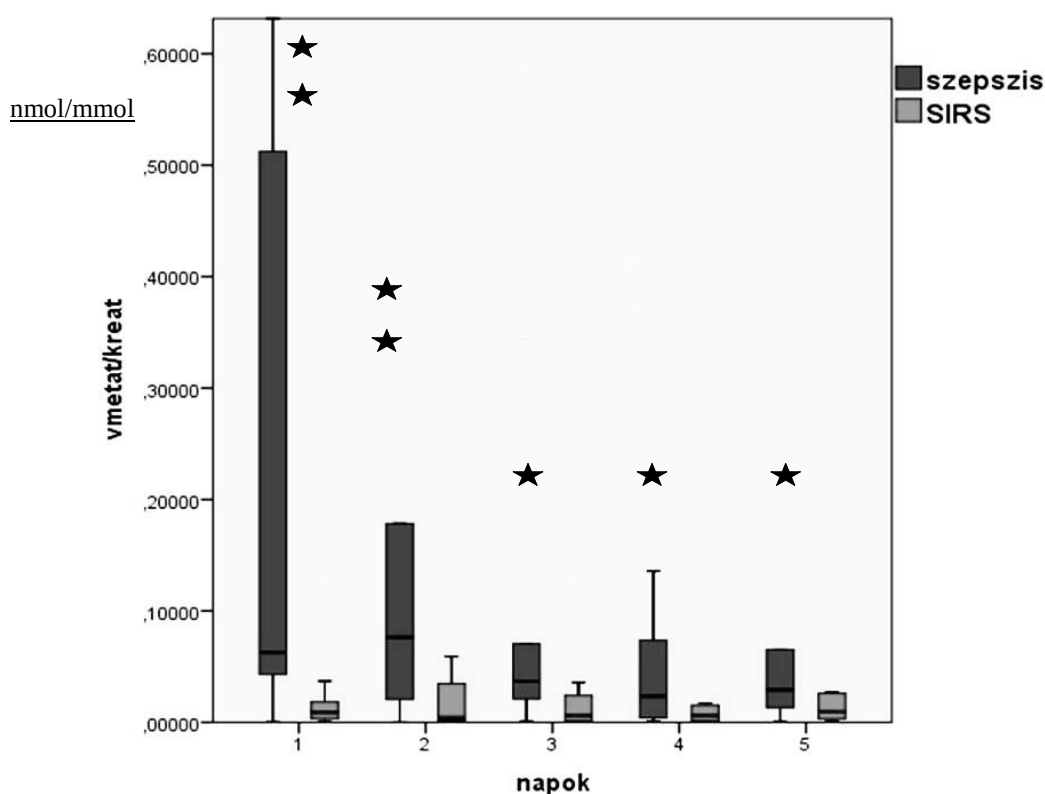


11. ábra. A para-tirozin frakcionált excretiója

A para-tirozin frakcionált excretiója nem mutatott szignifikáns különbséget a két csoport között.

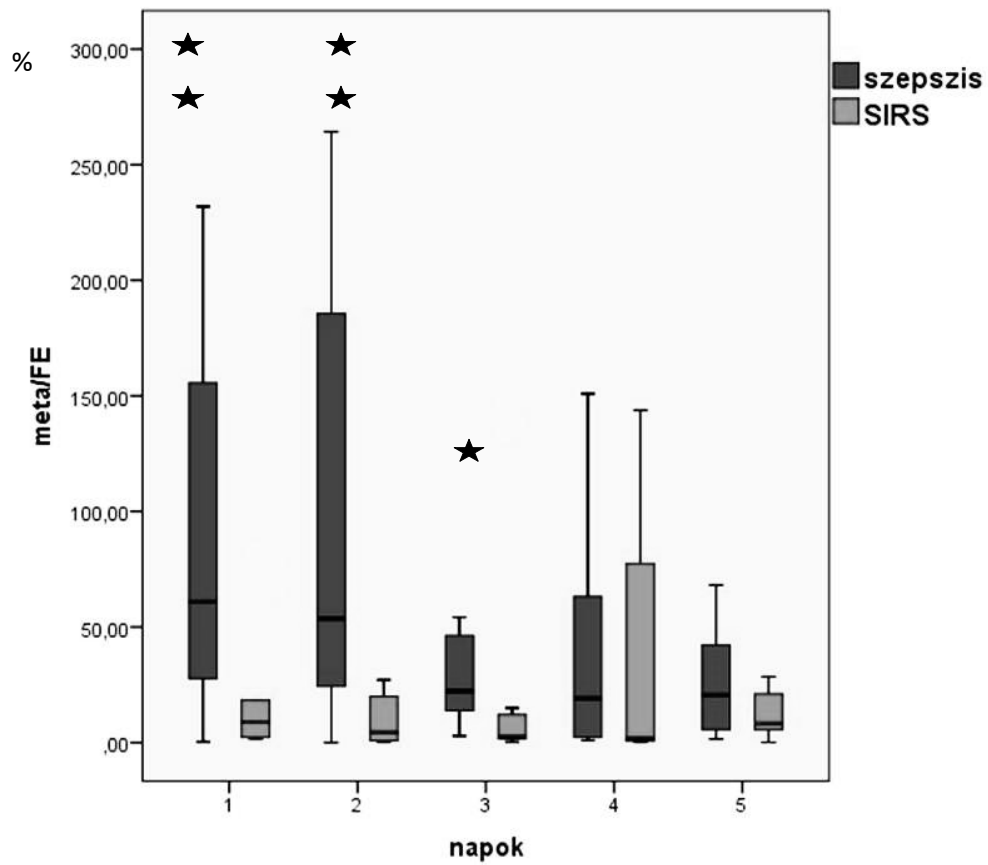
8. Vizelet meta-tirozin/kreatinin, meta_{FE} szintek

Mivel az intenzív osztályos betegek vizeletének mennyisége és koncentrációja is változó lehet, így a meta-tirozin vizelet kreatininhez viszonyított arányát használtuk, valamint a meta-tirozin kreatinin clearance-hez viszonyított frakcionált excretióját.



12. ábra. A vizelet metatirozin kreatinin arány változása

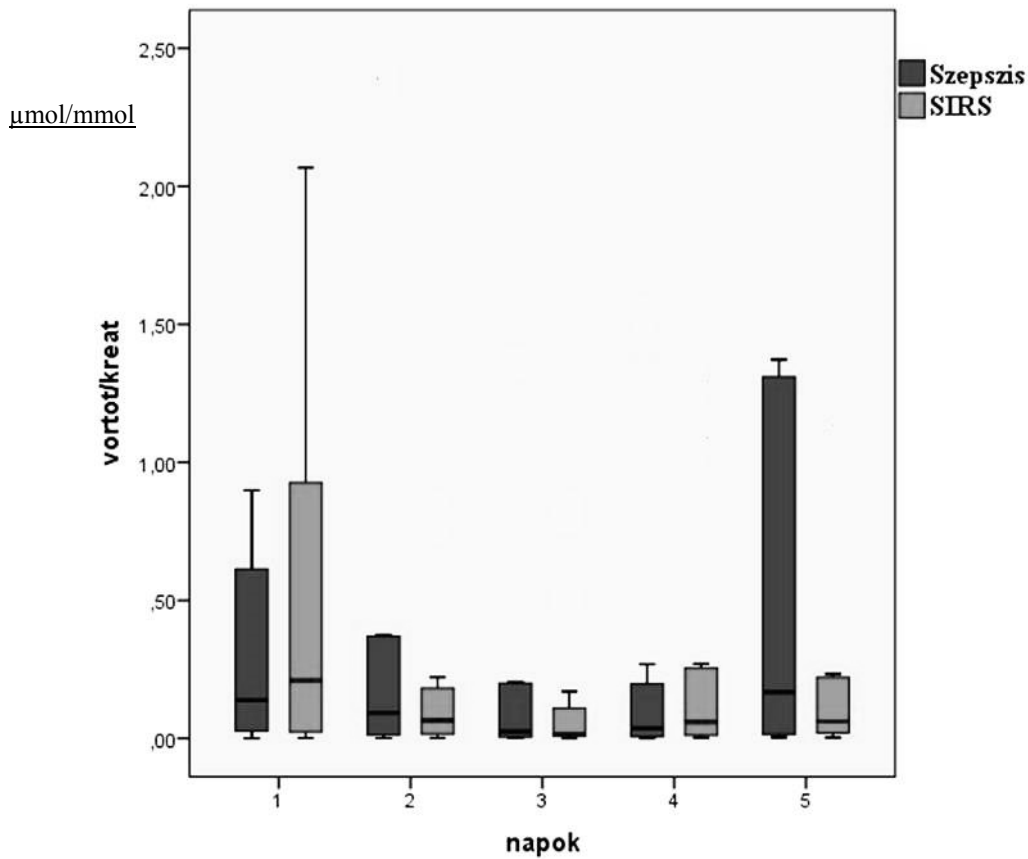
Magasabb meta-tirozin/kreatinin volt mérhető az 1-2. ($p < 0,01$) és 3-5. napon ($p < 0,05$) sepsztikus betegekben, míg SIRS esetén ezen értékek nem mutattak változást a vizsgált periódus alatt.



13. ábra. A meta-tirozin frakcionált excretioja

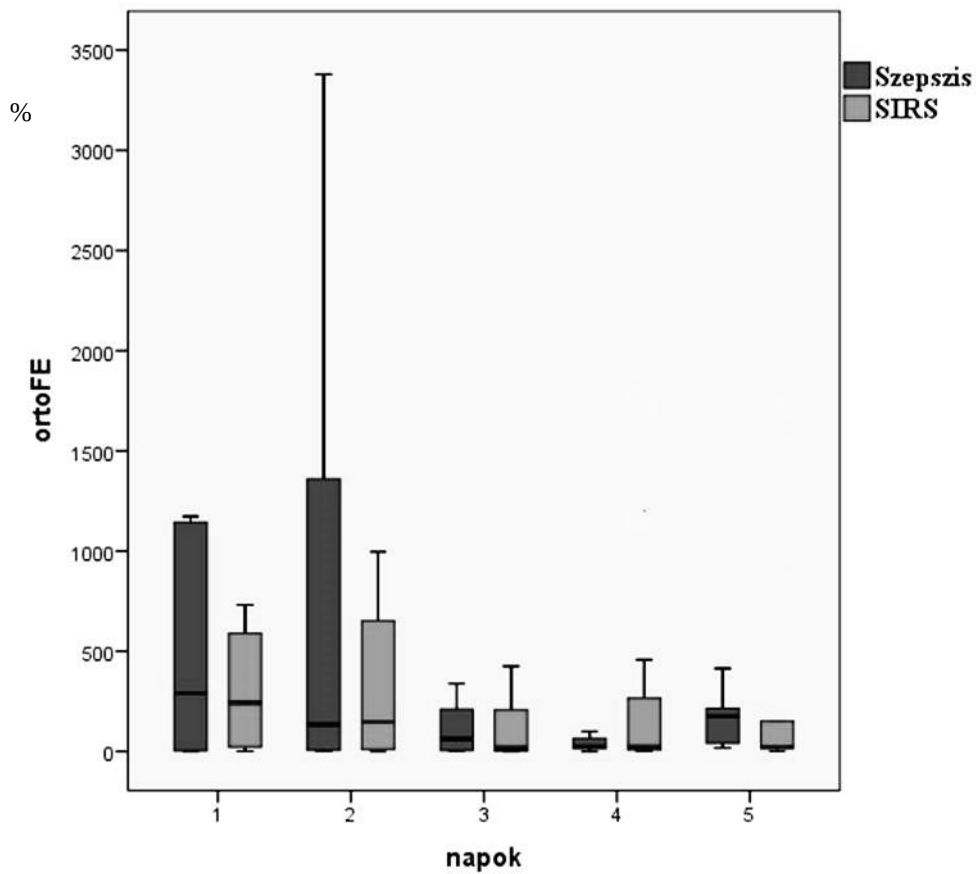
Szeptikus betegeknél magasabb volt a meta-tirozin frakcionált excretioja az 1-3 napon ($p < 0,01$).

9. Vizelet orto-tirozin/kreatinin, orto_{FE} szintek



14. ábra. Vizelet orto-tirozin/kreatinin arány a két csoportban

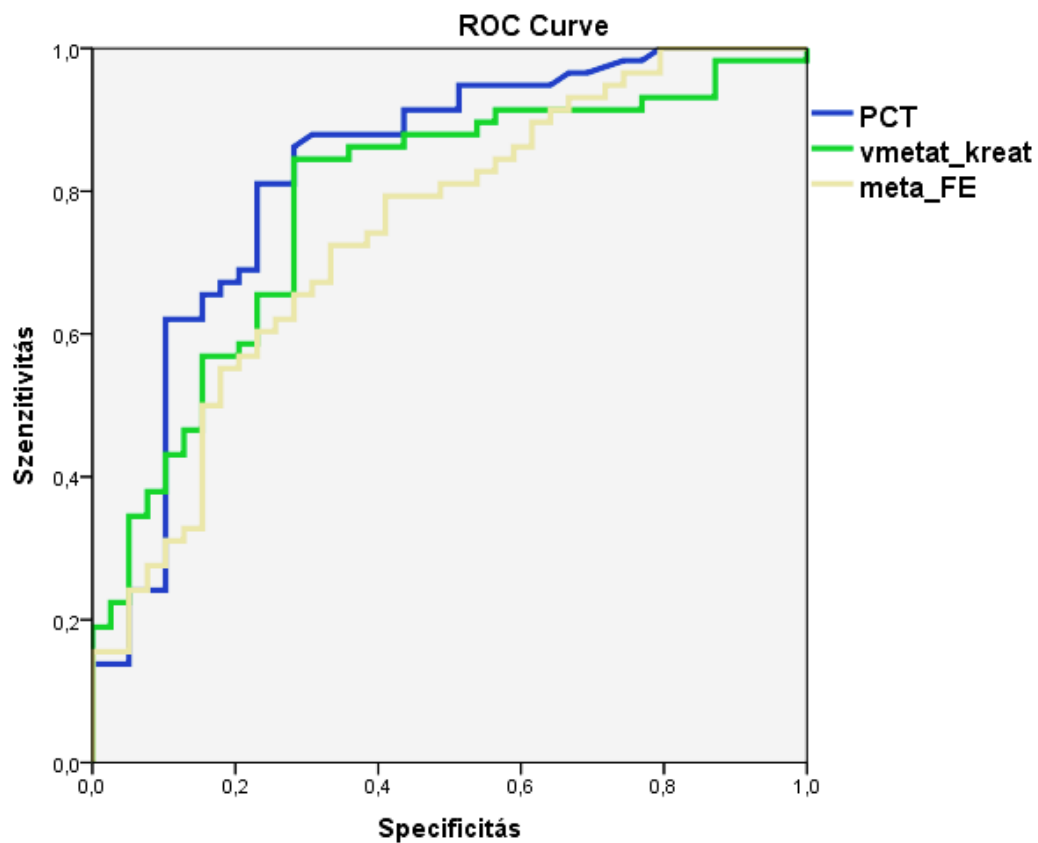
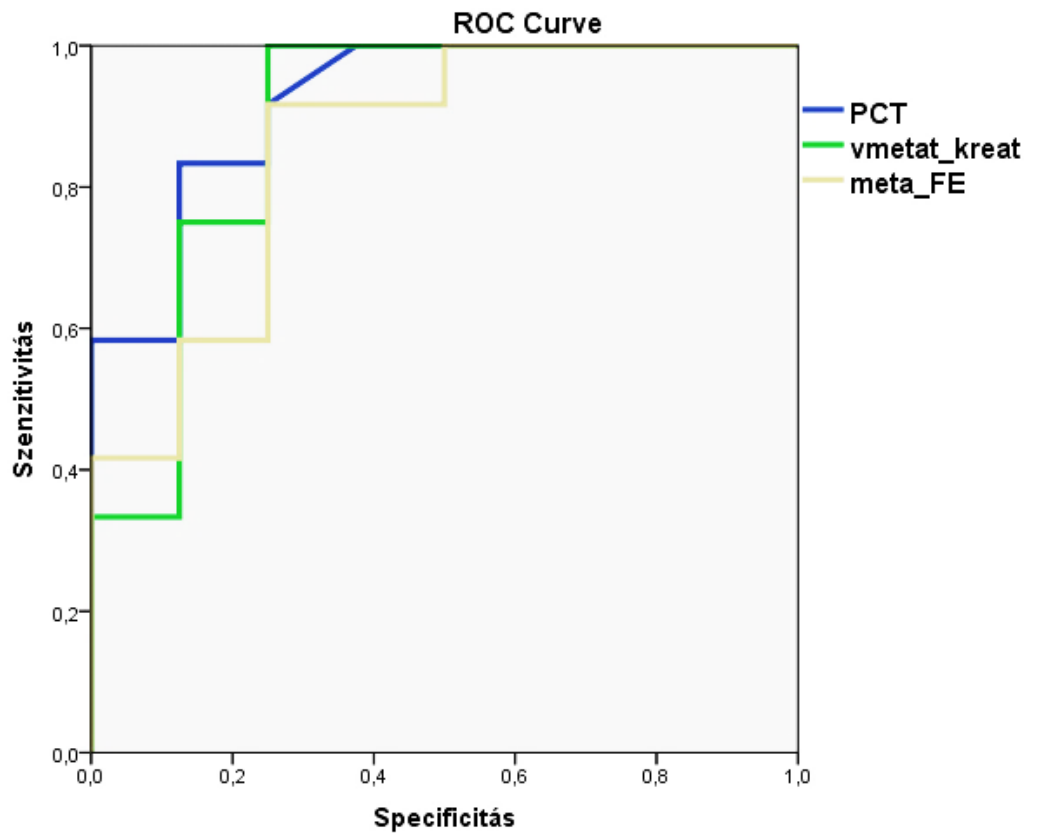
A vizelet orto-tirozin/kreatinin arány nem mutatott szignifikáns különbséget a két csoport között.



15. ábra. Az orto-tirozin frakcionált excretiója

Az orto-tirozin frakcionált excretiója nem mutatott szignifikáns különbséget a két csoport között.

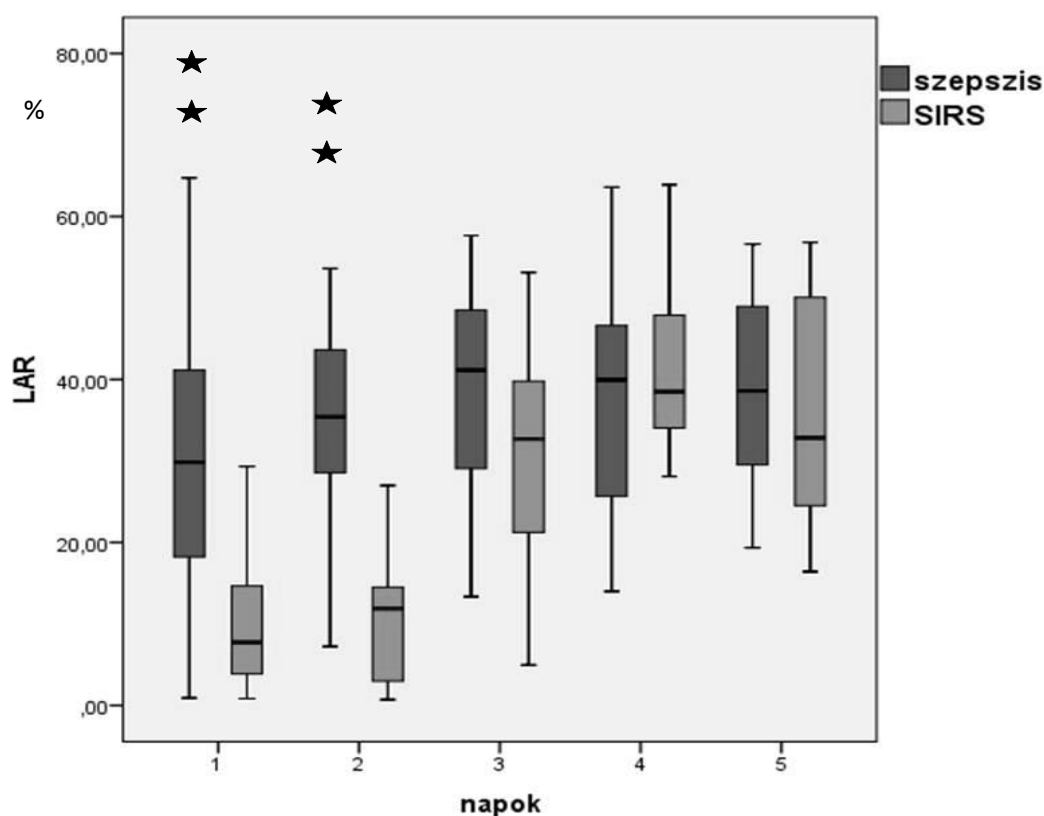
10. Vizelet meta-tirozin/kreatinin arány és meta_{FE} prediktív értéke



16. ábra. A metatirozin/kreatinin és meta_{FE} prediktív értéke az 1. napon (fent) és a teljes periódus alatt (lent)

ROC analízis alapján a PCT (AUC első 0,922, teljes 0,826) és vizelet meta-tirozin/kreatinin hányados (AUC első 0,885 teljes 0,783), valamint a meta-tirozin frakcionált excretioja (AUC első 0,854) nagyjából azonos mértékben tudta a két kórállapotot egymástól elkülöníteni mind az első napon, mind a teljes vizsgálat során.

11. A Leukocyta Antiszedimentációs Ráta (LAR) vizsgálata



17. ábra. A LAR értékei a két csoportban

A LAR szignifikánsan emelkedő tendenciát ($p < 0,001$) mutatott a SIRS csoportban az első két napon alacsonyabb értékekkel indulva, majd a harmadik naptól szignifikáns emelkedéssel. Szeptikus betegekben az emelkedő tendencia a szignifikancia határán volt. A LAR magasabb volt septicus betegekben az első két napon ($p < 0,001$), majd ez a különbség a két csoport között eltűnt.

V. Megbeszélés

1.

Szeptikus betegeinkben felvételnél csökkent szérumban para-tirozin szintet találtunk. A szepszis során kialakult oxidatív stressz hatására károsodik a pro- és antioxidáns molekulák finom egyensúlya. A felhalmozódó hidroxil szabadgyökök (pl. a Fenton reakció hatására) a protein-egyensúly és az aminosav anyagcsere károsodását okozzák. Az esszenciális Fenilalanin (Phe) a vizeletben és a szérumban is stabilan mérhető szemi-esszenciális para-tirozinná képes átalakulni a fenilalanin hidroxiláz enzimnek köszönhetően. A vizsgált három oxidált aminosav közül a para-tirozin az egyetlen olyan derivátum, mely a vesében fiziológiai körülmények között is keletkezhet. Mindhárom oxidált aminosav a veseglomerulusok által filtrálódik, majd visszaszívódik a tubulusokon keresztül. A reabszorpció útja függ az adott aminosav kémiai szerkezetétől és természetétől. A paratirozin és fenilalanin reabszorpciója neutrális aminosav transzporterek segítségével történik, rendkívül magas hatásfokkal, t.i. alig több mint 1%-a ürül a vizelettel. (29) Több szakirodalom is utal arra, miszerint uraemia során károsodik a vesében az aminosav anyagcsere (30) (31). A gyulladás és szöveti hypoxia központi szerepet játszik a ROS kialakulásában, ami közvetlen károsítja a veseparenchymát és súlyosbítja a korábban kialakult microvasculáris és funkcionális elégtelenséget (10) sőt, a proinflammatorikus citokinek a vesében lévő NADPH oxidáz aktiválásán keresztül további ROS felszabadulást és keringési zavart okoznak. Kutatásunk alatt alacsonyabb para-tirozin szintek voltak mérhetőek sepsisben szenvedő betegekben az 1-2. napon. Irodalmi adatok alapján sepsisben szenvedő betegekben emelkedett fenilalanin szintek mérhetőek kontrollcsoportokhoz képest. (32) (28) Mivel sepsisben szenvedő betegekben a szubsztrát fenilalanin szintje jelen kutatás során is emelkedett volt (átlag 80,4 $\mu\text{mol/L}$), a para-tirozin szint csökkenés oka ebben az esetben nem csak a beszűkült reabszorbeáló képesség, hanem főként a csökkent fenilalanin hidroxiláz aktivitás. (33) A vesefunkció helyreállításával egy időben a szérumban para-tirozin szint emelkedett, ellentétesen kreatinin szint csökkenésével. Hasonló irodalmi adatok állnak rendelkezésre a para-tirozin vesefunkciót jelző képességéről. (15) A szignifikánsan magasabb para-tirozin szint az 5. napon szintén a vesefunkció helyreállítását jelezte. Eredményeink összhangban vannak a korábban krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegeken végzett vizsgálattal (15), mely a károsodott vesefunkció mellett alacsonyabb szérumban para-tirozin szintet talált.

Ezek alapján mivel a természetes szintézis mértéke messze meghaladja az oxidatív stressz hatását a szérum para-tirozin érzékeny vesefunkciós paraméter lehet.

2.

A vizelet meta-tirozin/kreatinin arány illetve a meta_{FE} szignifikánsan magasabb volt a septicus betegekben. Stadman és mtsai leírták az orto-és meta-tirozint, mint szelektív hidroxil szabadgyök markert. (34) Több irodalmi adat is rendelkezésre áll e két oxidált aminosav oxidatív stressz marker szerepéről. (17) (15) Majmokon végzett eset-kontroll vizsgálatok során szignifikánsan magasabb meta-tirozin szinteket mértek coronaria-betegség (CAD) esetén. (35) Vizsgálatunkban a frakcionált excretio 100% feletti eredményei jelzik, hogy a meta-tirozin nem csak egyszerű filtrációval ürül a vesén keresztül, hanem feltételezhetően termelődik is az oxidatív stressz hatására. Mivel septicus betegekben a teljes vizsgálati periódus alatt szignifikánsan magasabb értékek voltak mérhetők, 2 kérdés is felmerül:

Ad 1) A beszűkült vesefunkció vagy a fokozott termelődés hatására alakul ki e szignifikáns emelkedés?

Mivel a meta-tirozin frakcionált excretiója septicus betegekben 100% feletti értékeket is mutatott, elmondható hogy nem elsősorban a vese reabszorbeáló képességének csökkenése, hanem a fokozott szintézis a megfigyelt változások oka.

Ad 2) Miért mutat magasabb szinteket septicus betegekben, mint SIRS-ben? Ennek magyarázata feltehetőleg az, hogy septicus betegekben nagyobb mértékű oxidatív stressz alakult ki, vagy, hogy a magasabb értékek hátterében maga az infekció áll. Ennek tisztázására nagyobb esetszám és további vizsgálatok elvégzése szükséges, azonban jelen mintaszám mellett is elmondható, hogy a meta-tirozin/kreatinin hányados és a meta-tirozin frakcionált excretioja a konvencionális PCT-vel összehasonlítva hasonló prediktív értékkel rendelkezik a sepszis vonatkozásában.

3.

Magasabb LAR értékeket mértünk septicus betegekben az első és második napon. Irodalmi adatok alapján kritikus állapotú betegek első lázas epizódjának jelentkezésekor, még az antibiotikus kezelés előtt a LAR teszt szignifikánsan korrelál a pozitív mikrobiológiai eredményekkel, így a LAR jó prediktora a bakterémiának. (36) Bizonyítást nyert, hogy a LAR fokozódása a PCT szint emelkedése mellett a fenyegető légzési elégtelenség (ARDS) pontos előrejelzője a nyelőcső daganat miatt operált betegek korai posztoperatív időszakában, ezzel segítve a célzott kezelés korábbi

megkezdését (37) Kutatásunk során szeptikus betegekben már felvételtkor magasabb LAR szinteket tapasztaltunk a SIRS csoporthoz képest, mely rávilágít arra, hogy a szeptikus betegek esetében már felvételtkor jelen volt egy kialakult gyulladás, míg a SIRS csoportban az első és második napon nem. A LAR emelkedő tendenciát mutatott SIRS-es betegekben, mely a 3. napra elérte a szeptikus csoportban mért gyulladás súlyosságát. Feltételezhető ezáltal, hogy mindkét betegcsoportban kialakul SIRS, azonban a kialakulás időpontja eltérő. Ezt alátámasztják azon irodalmi adatok is, melyek a polytraumatizált és égett betegek esetében a SIRS „fellángolásának” időpontját nem a behatás napjára, hanem a második illetve harmadik napra teszik. (22) Tekintve, hogy LAR vizsgálataink alapján mind a két csoport között a gyulladás vonatkozásában nem volt különbség, a meta-tirozin/kreatinin hányadosban és a meta-tirozin frakcionált excrétiójában mért különbség oka a bakteriális infekció lehet. Ezek alapján e paraméterek alkalmasak lehetnek a SIRS és szepszis elkülönítésére.

Vizsgálatunk korlátai:

Az esetszám alacsony így a negatív eredmények csak fenntartással fogadhatók el, Power analízis alapján további betegek bevonása szükséges. A SIRS-es betegek nem képeztek homogén csoportot. Nagyobb esetszám esetén a különböző kórállapotok által okozott SIRS és szeptikus betegek összehasonlítása is szükséges, hiszen a SIRS és szepszis elkülönítése minden SIRS-el járó állapot esetén nehéz – olyan esetekben is, amiket nem vizsgáltunk tanulmányunkban, mint például akut pancreatitis.

VI. Következtetés

Kutatásunk eredményei alapján a következő következtetések vonhatók le:

- 1. A szérum para-tirozin vesefunkciós marker lehet, emelkedése szeptikus betegeken a vese funkció helyreállítását jelezheti.**
- 2. A vizelet meta-tirozin/kreatinin arány illetve a meta_{FE} lehetséges markere lehet az infekciónak.**
- 3. A vizelet meta-tirozin/kreatinin arány a PCT-hez hasonló mértékben tudta az infektív és nem infektív SIRS-t egymástól elkülöníteni.**
- 4. A LAR (mint olcsó módszer) mind a két csoportban bizonyítja a SIRS kialakulását.**

Irodalomjegyzék

1. Vivek S. Guleria, Prabhat Chauhan, Subramanian Shankar, and Velu Nair All that seems sepsis is not sepsis Indian J Crit Care Med. 2013 May-Jun; 17(3): 185–187.
2. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G, 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Crit Care Med. 2003 31(4):1250-6.
3. Wright, S. D., R. A. Ramos, P. S. Tobias, R. J. Ulevitch, and J. C. Mathison. 1990. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. Science 249:1431-1433.
4. Poltorak, A., P. Ricciardi-Castagnoli, S. Citterio, and B. Beutler. 2000. Physical contact between lipopolysaccharide and toll-like receptor 4 revealed by genetic complementation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:2163-2167.
5. Crimi E, Sica V, Slutsky AS, et al. Role of oxidative stress in experimental sepsis and multisystem organ dysfunction. Free Radic Res 2006 40(7):. 665-672
6. Wheeler DS. Oxidative Stress in Critically Ill Children with Sepsis. Open Inflamm J. 2011, 4(s1):. 74-81
7. Boueiz A, Hassoun P.M. Regulation of endothelial barrier function by reactive oxygen and nitrogen species. Microvascular Research 2009 77:26–34.
8. Crimi E, Ignarro Lj, Napoli C. Microcirculation and oxidative stress. Free Radic Res 2007 41(12):.1364-1375
9. Galley H.F. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis. Br J Anaesth 2011,107:57-64.
10. Heyman SN, Rosen S, Rosenberger C. A role for oxidative stress. Contrib Nephrol 2011 174:138-148.
11. Ho E, Karimi Galougahi K, Liu CC, Bhindi R, Figtree GA. Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. Redox Biol 2013 1:483–491.
12. Mühl D, Woth G, Drenkovics L, Varga A, Ghosh S, Csontos C et al. Comparison of oxidative stress and leukocyte activation in patients with severe sepsis and burn injury. Indian J Med Res 2011 134:69-78.
13. Galano A, Cruz-Torres A. HO radical reactions with phenylalanine in free and peptide forms. Org Biomol Chem 2008 6: 732-738.

14. Dandona P, Mohanty P, Hamouda W, et al. Inhibitory effect of two day fast on reactive oxygen species (ROS) generation by leukocytes and plasma ortho-tyrosine, meta-tyrosine concentrations. *J Clinical Endocrinol Metabol* 2001 86:2899–2902
15. Molnár GA, Wagner Z, Markó L, Kőszegi T, Mohás M, Kocsis B et al. Urinary ortho- tyrosine excretion in diabetes mellitus and renal failure: Evidence for hydroxyl radical production. *Kidney Int* 2005 68:2281-2287.
16. Toth P, Koller A, Pusch G, Bosnyak E, Szapary L, Komoly S et al. Microalbuminuria, indicated by total versus immunoreactive urinary albumins, in acute ischemic stroke patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2011 20:510-516.
17. Molnár GA, Nemes V, Biró Z, Ludány A, Wagner Z, Wittmann I. Accumulation of the hydroxyl free radical markers meta-, ortho-tyrosine and DOPA in cataractous lenses is accompanied by a lower protein and phenylalanine content of the water-soluble phase. *Free Radic Res* 2005;39:1359-1366.
18. Hande Gurer-Orhan, Nuran Ercal†, Suneetha Mare†, Subramaniam Pennathur‡, Hilmi Orhan and Jay W. Heinecke‡. Misincorporation of free-tyrosine into cellular proteins: a potential *Biochem. J.* (2006)395, 277–284.
19. Baker, M.D., Acharya, K.R.: Superantigens: structure-function relationships. *Int. J. Med. Microbiol*, 293: 529, 2004.
20. B.F. Alsbjoern M.D., D.M.Sc. European Practice Guidelines for Burn Care Based by the Copenhagen EBA meeting, September 2002
21. Greenhalgh DG, Saffle JR, Holmes JH, Gamelli RL, Palmieri TL, Horton JW. American Burn Association consensus conference to define sepsis and infection in burns. *Journal of Burn Care and Research* 2007 28:776-790.
22. Helling TS, Evans LL, Fowler DL, et al. Infectious complications in patients with severe head injury. *J Trauma* 1988, 28 1575-7.
23. Bathia M, Moolchala S. Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome *J Pathol* 2004 202:145-56.
24. Jennifer D. Paratz, et al. A New Marker of Sepsis Post Burn Injury? *Critical Care Medicine* p.2029-2036
25. Bogar L, Tekeres M. Leukocyte flotation during gravity sedimentation of the whole blood. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 2000 22: 29-33.
26. Bogar L, Tarsoly P, Jakso P. Characteristics of light and heavy polymorphonuclear leukocytes. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 2002 27:149-153.

27. Bogar L, Tarsoly P. Gravity sedimentation of leukocytes is partially independent from erythrocyte sedimentation. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 2006 34.: 439-445
28. Wilfred Druml, Günther Heinzl, and Gunter Kleinberger. Amino acid kinetics in patients with sepsis *Am J Clin Nutr* 2001;73:908–13.
29. Bergeron M, Scriver CR: Pathophysiology of renal hyperaminoacidurias and glucosuria, in *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, edited by Seldin DW, Giebisch G, New York, Raven Press, 1985, pp 1725–1745.
30. Zachwiejaj, Duramn, Joliesja, et al: Amino acid and carnitine supplementation in haemodialysed children. *Pediatr Nephrol* 8:739–743, 1994.
31. Goldsteinre, Markssl, Cowgilld, et al: Plasma amino acid profiles in cats with naturally acquired chronic renal failure. *Am J Vet Res* 60:109–113, 1999.
32. Tomoya Hirose et. al., Altered balance of the aminogram in patients with sepsis- The relation to mortality *Clinical Nutrition* Volume 33, Issue 1, Pages 179–182, February 2014.
33. Boirrey, Albright, Bigelowm, Nairks: Impairment of phenylalanine conversion to tyrosine in end-stage renal disease causing tyrosine deficiency. *Kidney Int* 66:591–596, 2004.
34. Stadtmaner, Berlettbs: Fenton chemistry—Amino acid oxidation. *J Biol Chem* 266:17201–17211, 1991.
35. Anuradha Vivekanadan-Giri, Jeffrey H. Wang, Jaeman Byun, and Subramaniam Pennathur Mass spectrometric quantification of amino acid oxidation *Rev Endocr Metab Disord.* 2008 December 9(4):.275–287
36. Bogar L, Molnar Z, Kenyeres P, Tarsoly P. Sedimentation characteristics of leukocytes can predict bacteraemia in critical care patients. *Journal of Clinical Pathology* 2006 59.:523-5
37. Bogar L, Molnar Z, Tarsoly P, Kenyeres P, Marton S. Serum procalcitonin level and leukocyte antisedimentation rate as early predictors of respiratory dysfunction after oesophageal tumour resection. *Critical Care* 2006 10.:R110
38. Aghdassi et al. *Fibrogenesis & Tissue Repair* 2011. 4:26
39. Raivio, Kari O., Saksela, Mika, Risto Lapatto Xanthine Oxidoreductase—Role in Human Pathophysiology and in Hereditary Xanthinuria *The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases.* Ch.111
40. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5801a1.htm#tab1>.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőimnek, Csontos Csabának és Wittmann István Professzor Úrnak a kutatás során és pályamunka megírásában nyújtott segítségért. Ezen kívül köszönöm Bogár Lajos Professzor Úrnak, Szélig Líviának valamint az Akác utcai Intenzív osztály dolgozóinak, hogy készséggel rendelkezésemre álltak, ha segítségre volt szükségem. Szeretném megköszönni a II. számú Belgyógyászati Klinikának, valamint a Laboratóriumi Medicina Intézetnek a laborleletek elvégzésében és kiértékelésében nyújtott közreműködést, és Kun Szilárdnak, hogy segítségemre volt az irodalomkutatásban.