

SOUBORNÉ SDĚLENÍ

Od nadmerného zápalu k imunoparalýze: úloha neutrofilových extracelulárnych pascí (NETs) v patogenéze sepsy u detí

From hyperinflammation to immunoparalysis: the role of neutrophil extracellular traps (NETs) in the pathogenesis of pediatric sepsis

Ludmila Podracká¹, Alexandra Gaal Kovalčíková¹, Peter Celec², Michal Pastorek²

¹Detská klinika, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského a Národný ústav detských chorôb, Bratislava

²Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

SÚHRN

Podracká L, Gaal Kovalčíková A, Celec P, Pastorek M. Od nadmerného zápalu k imunoparalýze: úloha neutrofilových extracelulárnych pascí (NETs) v patogenéze sepsy u detí

Sepsa je život ohrozujúci klinický syndróm charakterizovaný orgánovou dysfunkciou vznikajúcou na podklade dysregulovanej odpovede hostiteľa na infekciu. Napriek významnému pokroku v intenzívnej starostlivosti zostáva sepsa jednou z hlavných príčin mortality v pediatrickej populácii. Patogenéza sepsy zahŕňa komplexnú interakciu medzi patogénom a imunitným systémom hostiteľa, ktorá vedie k aktivácii vrodenej imunity, nadmernej produkcii zápalových mediátorov, poruche funkcie endotelu, aktivácii koagulačných mechanizmov a rozvoju mikrovaskulárneho poškodenia. Charakteristickým znakom sepsy je súčasná prítomnosť hyperzápalovej odpovede a sepsou indukovanej imunoparalýzy, ktorá sa prejavuje funkčnými poruchami neutrofilov, zmenami granulopoézy, apoptózou lymfocytov a zvýšenou náchylnosťou na sekundárne infekcie. Dôsledkom tejto dysregulovanej imunitnej odpovede je progresia k multiorgánovej dysfunkcii, ktorá predstavuje hlavný determinant prognózy pacientov so sepsou. Cieľom tohto prehľadového článku je systematicky zhrnúť hlavné patofyziologické mechanizmy sepsy so zameraním na vrodennú imunitu, úlohu neutrofilov a neutrofilových extracelulárnych pascí, endotelovú dysfunkciu, poruchy koagulácie a sepsou indukovanú imunoparalýzu.

Kľúčové slová: sepsa, patogenéza, vrodená imunita, neutrofil, neutrofilové extracelulárne pasce, granulopoéza, imunoparalýza, endotel, multiorgánová dysfunkcia

SUMMARY

Podracká L, Gaal Kovalčíková A, Celec P, Pastorek M. From hyperinflammation to immunoparalysis: the role of neutrophil extracellular traps (NETs) in the pathogenesis of pediatric sepsis

Sepsis is a life-threatening clinical syndrome characterized by organ dysfunction resulting from a dysregulated host response to infection. Despite substantial advances in intensive care, sepsis remains a major cause of morbidity and mortality in the pediatric population. The pathogenesis of sepsis involves a complex interaction between the pathogen and the host immune system, leading to activation of innate immunity, excessive production of inflammatory mediators, endothelial dysfunction, activation of coagulation pathways, and the development of microvascular injury. A hallmark of sepsis is the simultaneous presence of a hyperinflammatory response and sepsis-induced immunosuppression, manifested by functional alterations of neutrophils, changes in granulopoiesis, lymphocyte apoptosis, and increased susceptibility to secondary infections. The resulting dysregulated immune response promotes progression to multiple organ dysfunction, which represents the principal determinant of patient prognosis. The aim of this review is to systematically summarize the key pathophysiological mechanisms of sepsis, with a focus on innate immunity, the role of neutrophils and neutrophil extracellular traps, endothelial dysfunction, coagulopathy, and sepsis-induced immunosuppression.

Key words: sepsis, pathogenesis, innate immunity, neutrophils, neutrophil extracellular traps, granulopoiesis, immunoparalysis, endothelium, multiple organ dysfunction

Podakovanie
Tento projekt získal financovanie z programu Európskej únie pre výskum a inovácie Horizont Európa na základe grantovej dohody č. 101137484 (BEATsep). Financované Európskou úniou. Vyjadrené názory a stanoviská sú však výlučne názormi autorov a nemusia nevyhnutne odrážať názory Európskej únie alebo Európskej komisie. Európska únia ani Európska komisia za ne nenesú zodpovednosť.

Korešpondujúci autorka:

prof. MUDr. Ľudmila Podracká, CSc.
 Detská klinika LFUK a NUDCH
 Bratislava
 ludmila.podracka@fmed.uniba.sk

ÚVOD

Sepsa je závažný, život ohrozujúci klinický syndróm, charakterizovaný akútnou orgánovou dysfunkciou vznikajúcou v dôsledku dysregulovanej hostiteľskej odpovede na infekciu.⁽¹⁾ Napriek významnému pokroku v intenzívnej medicíne, antibiotickej liečbe a podpore orgánových funkcií zostáva sepsa jednou z hlavných príčin mortality u detí a významnou záťažou pre zdravotné systémy.⁽²⁾ Z globálneho hľadiska patrí sepsa medzi najčastejšie príčiny úmrtia u detí mladších ako 5 rokov, pričom najvyššie riziko predstavujú novorodenci, dojčatá a deti s chronickými chorobami a/alebo s poruchou imunity.^(3,4) Okrem akútnej mortality je pediatriká sepsa u preživších spojená aj s dlhodobými následkami, vrátane neurologických porúch, zníženej kvality života a pretrvávajúcej morbidít.⁽⁵⁾ Sepsa tak nepredstavuje len akútny problém intenzívnej starostlivosti, ale dlhodobý pediatrický a celospoločenský problém.

Definícia a diagnostické kritériá sepsy prešli v ostatných rokoch významným vývojom. Kým koncept systémovej zápalovej odpovede (SIRS) dominoval predchádzajúcim dekádam, súčasné chápanie sepsy, formulované v definícii Sepsis-3, kladie dôraz na orgánovú dysfunkciu ako dôsledok dysregulovanej imunitnej odpovede hostiteľa.⁽¹⁾ V pediatrickej populácii bol tento koncept ďalej rozvinutý v rámci nových medzinárodných konsenzuálnych kritérií (tzv. Phoenix kritériá), ktoré reflektujú špecifiká detského veku a odlišnú fyziologickú odpoveď na infekciu.⁽⁶⁾ Patogenéza sepsy je mimoriadne komplexná a dynamická. Zahŕňa poruchu regulácie vrodenej aj adaptívnej imunity, nadmernú aktiváciu zápalových dráh, dysfunkciu endotelu, aktiváciu koagulačného systému a následné zlyhanie mikrocirkulácie.^(7,8) Charakteristickým znakom sepsy je paralelný priebeh hyperzápalovej odpovede a sepsou indukovanej imunosupresie, čo zásadne komplikuje klinické rozhodovanie aj vývoj cielených terapeutických stratégií.^(9,10) V ostatných rokoch sa do popredia dostáva úloha neutrofilov a neutrofilových extracelulárnych pascí (NETs) ako kľúčového faktora v iniciácii a pretrvávaní zápalu, koagulácie a endotelovej dysfunkcie.^(11,12) Neutrofilové pasce, najmä v kontexte tzv. emergency granulopoiesis, zohrávajú zásadnú úlohu nielen v obrane proti patogénom, ale aj v rozvoji imunotrombózy a orgánového poškodenia.^(13,14)

Cieľom tohto prehľadového článku je systematicky zhrnúť súčasné poznatky o patogenéze sepsy so zameraním na vrodennú imunitu, úlohu neutrofilov a neutrofilových extracelulárnych pascí, ich vzťah k endotelovej dysfunkcii, koagulácii a sepsou indukovanej imunoparalýze, s dôrazom na špecifiká pediatrickej populácie. Tieto procesy sa iniciujú už v skorých fázach infekcie na úrovni vrodenej imunity prostredníctvom rozpoznania patogénnych a s poškodením asociovaných signálov.

ROZPOZNANIE PATOGÉNU A INICIÁCIA VRODENEJ IMUNITNEJ ODPOVEDE

Patogenéza sepsy sa začína rozpoznávaním molekulových vzorov asociovaných s patogénom (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) a molekúl uvoľňovaných z poškodených buniek (damage-associated molecular patterns, DAMPs). Tieto štruktúry sú detegované receptormi vrodenej imunity – pattern recognition receptors (PRRs), najmä toll-like receptormi (TLRs) a NOD-like receptormi (NLRs).^(15,16) Aktivácia PRRs vedie k spusteniu intracelulárnych signálnych dráh, najmä prostredníctvom transkripčného faktora NF- κ B, čo má za následok expresiu génov zodpovedných za zápalovú odpoveď, bunkový metabolizmus a adaptívnu imunitu.⁽⁷⁾ Výsledkom je mohutná tvorba prozápalových cytokínov, ako sú tumor nekrotizujúci faktor alfa (TNF- α), interleukíny IL-1, IL-6 a IL-8, ktoré podporujú adhéziu leukocytov k endotelu, aktiváciu komplementového systému a zapojenie koagulačných mechanizmov.⁽⁸⁾

NEUTROFILY A GRANULOPOÉZA PRI SEPSE

Neutrofilové pasce predstavujú centrálny efektor vrodenej imunity pri sepse. Podieľajú sa na eliminácii patogénov prostredníctvom fagocytózy, tvorby reaktívnych kyslíkových radikálov a sekrécie antimikrobiálnych peptidov.⁽¹⁷⁾ Závažná infekcia a systémovej zápalová odpoveď vedú k výraznej stimulácii kostnej drene a k urýchlenej tvorbe neutrofilov prostredníctvom mechanizmu označovaného ako núdzová granulopoéza (emergency granulopoiesis). Tento proces, ktorý sprostredkuje najmä faktor stimulujúci kolónie granulocytov (G-CSF), IL-6 a TNF- α , vedie k uvoľňovaniu nielen zreých, ale aj nezreých foriem neutrofilov do periférnej krvi.^(12,18) Nezrelé neutrofilové pasce vykazujú zníženú fagocytárnu aktivitu, oslabenú schopnosť oxidačného vzplanutia a obmedzenú migračnú kapacitu a tiež schopnosť tvoriť NETs.^(19–21) Napriek tomu bolo pozorované, že zvýšený podiel nezreých neutrofilov koreluje s koncentráciou extracelulárnej DNA (ecDNA), závažnosťou sepsy, rozvojom orgánovej dysfunkcie a nepriaznivou prognózou, čo je pravdepodobne spôsobené intenzitou akútnej zápalovej odpovede.⁽²²⁾

NEUTROFILOVÉ EXTRACELULÁRNE PASCE (NETs)

Neutrofilové extracelulárne pasce (neutrophil extracellular traps, NETs) sú sieťovité extracelulárne štruktúry tvorené dekonenzovanou chromatinovou DNA, histónmi a proteínmi neutrofilových granúl, ako sú myeloperoxidáza (MPO) a neutrofilová elastáza.⁽¹⁰⁾ Ich uvoľňovanie prebieha prostredníctvom špecifického bunkového programu – NETózy.

NETóza môže vyústiť do lýzy neutrofilu (lytická, resp. „suicidálna“ NETóza závislá od enzýmu PAD4), alebo uvoľnenia DNA do extracelulárneho priestoru bez toho, aby bola narušená integrita bunky (vitálna NETóza).^(23,24)

Dvojaká úloha NETs pri sepe

NETs zohrávajú v patofyziológii sepsy dvojsečnú úlohu. Na jednej strane efektívne zachytávajú a imobilizujú široké spektrum patogénov vrátane baktérií, vírusov a húb, čím obmedzujú ich šírenie a podporujú ich elimináciu imunitným systémom.^(23,25,26) Na druhej strane však nadmerná a/alebo dysregulovaná tvorba NETs významne prispieva k poškodeniu vlastných tkanív a môže spôsobiť intravaskulárnu koaguláciu.⁽²⁷⁾ Excesívna NETóza je spojená s poškodením endotelu, zvýšenou vaskulárnou permeabilitou, poruchou mikrocirkulácie, imunotrombózou a následnou orgánovou dysfunkciou.^(28–30)

NETs, endotel a imunotrombóza

NETs a ich komponenty, dominantne extracelulárne históny, narúšajú integritu bunkových membrán, indukujú apoptózu alebo nekrózu endotelu a prispievajú k degradácii endotelového glykokalyxu.⁽²⁷⁾ Súčasne podporujú adhéziu trombocytov a leukocytov, čím sa zvyšuje riziko mikrovaskulárnej obštrukcie a poruchy tkanivovej perfúzie.

Významné je aj úzke prepojenie NETs s aktiváciou koagulačného systému. NETs poskytujú štruktúrnu maticu pre agregáciu trombocytov, aktiváciu trombínu a depozíciu fibrínu. Aktivácia faktora XII NETmi predstavuje kľúčový mechanizmus prepojenia vrodenej imunity a koagulácie, ktorý vedie k rozvoju sepsou indukovanej koagulopatie a disseminovanej intravaskulárnej koagulácie.^(12,31–33) Výsledkom týchto procesov je pretrvávajúca mikrovaskulárna trombóza a progresívne poškodenie orgánov, najmä pľúc, obličiek, pečene a centrálného nervového systému.^(33–35)

NETs u pediatrických pacientov

Význam NETs v patogenéze sepsy u pediatrických pacientov nie je zatiaľ úplne pochopený, aj vzhľadom na špecifiká neutrofilovej odpovede a nezrelosť regulačných mechanizmov detského imunitného systému. Experimentálne aj klinické pozorovania naznačujú účasť nadmernej NETózy v patogenéze sepsou indukovaného akútneho poškodenia obličiek, infekcie dýchacích ciest a porúch centrálného nervového systému.^(36–38) Úloha NETs v patogenéze sepsy u detí je tak predmetom narastajúceho záujmu. Jasných dostupných dôkazov je zatiaľ málo a sú značne heterogénne. Yost a spol. ako prví opisali, že neutrofilové novorodencov, na rozdiel od neutrofilov dospelých, nedokážu tvoriť NETs v odpovedi na zápalové stimuly, čo identifikovali ako vývojový imuno-deficit predisponujúci novorodencov k infekciám.⁽³⁹⁾ Naopak štúdie využívajúce kombináciu animálnych modelov a analýzu klinických vzoriek preukázali, že 2-týždňové myši produkujú významne viac NETs ako dospelé jedince, a to v dôsledku zvýšenej expície PAD4 a následnej citrulinizácie

histónu H3, nie v dôsledku ich zníženej degradácie. Tieto mláďatá súčasne vykazovali výraznejšie orgánové poškodenie a zápalovú odpoveď oproti starším jedincom, pričom liečba deoxyribonukleázou (odstránenie NETs) alebo inhibítorom PAD4 (Cl-amidín – zabránenie vytvoreniu NETs) výrazne zlepšila ich prežítanie. V translačnej časti štúdie mali pediatrickí septickí pacienti signifikantne vyššiu koncentráciu cirkulujúcich NETs ako dospelí pacienti so sepsou.⁽⁴⁰⁾ Tento potenciálny paradox zvýšenej schopnosti tvoriť NETs u malých detí oproti dospelým a novorodencom je však málo preskúmaný a metodicky neporovnateľný. Naopak v nami publikovanej štúdií porovnávajúcej tvorbu NETs v reakcii na mitochondriálne DAMPs u zdravých jedincov rôznych vekových skupín sme pozorovali pozitívnu koreláciu medzi tvorbou a koncentráciou NETs a vekom pacientov.⁽⁴¹⁾

Klinické štúdie u detí poskytujú nekonzistentné výsledky. Hoppenbrouwers a spol. zaznamenali výrazne zvýšené koncentrácie komplexov myeloperoxidázy-DNA (MPO-DNA) v sére detí s meningokokovou sepsou, avšak tie nekorelovali so závažnosťou ochorenia.⁽⁴²⁾ Stiel a spol. naopak nezistili v porovnaní s kontrolami rozdiely v koncentracii markerov NETs – ecDNA, neutrofilovej elastázy a MPO – v pupočníkovej krvi novorodencov, u ktorých sa neskôr rozvinula včasná neonatálna sepsa.⁽⁴³⁾ Lenz a spol. merali plazmatické markery NETs u predčasne narodených novorodencov so suspektou sepsou a zistili, že ecDNA a deoxyribonukleáza I boli významne vyššie oproti kontrolným vzorkám, zatiaľ čo žiadne rozdiely neboli pozorované v koncentracii citrulinizovaného histónu H3 a neutrofilovej elastázy.⁽⁴⁴⁾ V predchádzajúcej práci sme tiež pozorovali významne vyššiu koncentráciu ecDNA, myeloperoxidázy a katelicidínu v moči detí s infekciou močových ciest v porovnaní so zdravými kontrolami, pričom koncentrácia ecDNA pozitívne korelovala s trvaním horúčky a intenzitou zápalu.⁽³⁶⁾ V súvislosti s pandemiou covidu-19 bolo pozorované výrazné zvýšenie koncentrácie komponentov NETs u detí s multisystémovým zápalovým syndrómom (MIS-C), vrátane histologicky potvrdenej depozície NETs v kožných biopsiách.^(45,46)

Celkovo možno konštatovať, že napriek existencii niekoľkých štúdií je fenomén NETózy v detskom veku doposiaľ nedostatočne preskúmaný, primárne kvôli metodologickej nekonzistentnosti štúdií, akými sú odlišný vek pacientov (novorodenci vs. staršie deti), a tiež neštandardizovaným analytickým postupom. Klinický význam NETózy pri pediatrickej sepe tak zostáva neobjasnený a je priestorom pre ďalšie štúdie.

NETs ako biomarkery a terapeutický cieľ

Zvýšené koncentrácie cirkulujúcej ecDNA, histónov a komplexov MPO-DNA u dospelých pacientov korelujú so závažnosťou zápalu a pri sepe tiež s mortalitou pacientov a post-septickými komplikáciami, čo poukazuje na potenciál komponentov NETs ako prognostických biomarkerov.^(47–50) Súčasne sa skúmajú terapeutické stratégie zamerané na moduláciu tvorby NETs, vrátane enzymatickej degradácie NETs pomocou deoxyribonukleázy I, inhibície PAD4 a neutralizácie toxických histónov heparínovými derivátmi.^(31,51,52)

Napriek slubným experimentálnym výsledkom použitia rekombinantnej deoxyribonukleázy I a inhibítora PAD4 na myšiach klinické dôkazy u septických pacientov o ich účinnosti zatiaľ chýbajú. V súčasnosti však prebieha niekoľko klinických skúšaní zameraných na degradáciu NETs deoxyribonukleázou (NCT05453695, NCT01952470) a na inhibíciu potenciálne cytotoxických enzýmov zapojených do ich tvorby, vrátane neutrofilovej elastázy (NCT05697016). Paralelne s týmito skúšaniami prebieha v rámci projektu BEATsep (Horizon Europe) systematické sledovanie kinetiky tvorby a klirensu NETs u dospelých aj detských pacientov so septickým šokom, s cieľom overiť predpoklad, že perzistujúce cirkulujúce NETs prispievajú k dlhodobej imunitnej dysregulácii a rozvoju Pot-Intensive Care Syndrome (PICS).

ENDOTELOVÁ DYSFUNKCIA AKO KLÚČOVÉ ROZHRIANIE IMUNITY, MIKROCIRKULÁCIE A KOAGULÁCIE

Endotel nepredstavuje pri sepsie pasívnu výstelku cievného riečiska, ale vysoko aktívny regulačný orgán, ktorý zohráva zásadnú úlohu v integrácii imunitnej odpovede, hemostázy a regulácie mikrocirkulácie. Endotelové bunky exprimujú široké spektrum receptorov vrodenej imunity vrátane toll-like receptorov, receptorov pre cytokíny, chemokíny a DAMPs, čím sa priamo podieľajú na rozpoznaní infekcie a iniciácii zápalovej odpovede.^(15,16,34) V skorých fázach sepsy vedie pôsobenie prozápalových cytokínov, aktivácia komplementového systému a priama interakcia patogénov s endotelom k jeho aktivácii, zvýšenej expresii adhezívnych molekúl (ICAM-1, VCAM-1, E-selektín) a strate fyziologických antikoagulačných a bariérových vlastností.^(31,34) Klúčovým patofyziologickým mechanizmom je poškodenie endotelového glykokalyxu, ktorý za normálnych okolností zabezpečuje mechanickú ochranu endotelu, reguluje cievnú permeabilitu a bráni nadmernej adhezii leukocytov a trombocytov. Jeho degradácia vedie k zvýšenej vaskulárnej permeabilite, poruche regulácie tekutinovej rovnováhy a k rozvoju mikrovaskulárneho poškodenia.^(32,34)

Endotelová dysfunkcia pri sepsie úzko súvisí s nadmernou aktiváciou vrodenej imunity. Mediátory zápalu a produkty aktivovaných imunitných buniek, vrátane NETs, ktorých patofyziologická úloha bola diskutovaná vyššie, významne prispievajú k strate endotelovej integrity a regulačných funkcií.^(27,53) Endotel sa tak stáva nielen cieľom, ale aj „zosilňovačom“ zápalovej odpovede, čím sa udržiava bludný kruh imunitnej aktivácie a cievného poškodenia. Významným dôsledkom endotelovej dysfunkcie je porucha rovnováhy medzi koaguláciou a fibrinolýzou. Aktivovaný endotel stráca schopnosť inhibovať koagulačné mechanizmy prostredníctvom trombomodulínu, heparánsulfátu a proteínu C, zatiaľ čo súčasne dochádza k zvýšenej expresii tkanivového faktora a k supresii fibrinolýzy.⁽³¹⁾ Výsledkom je hyperkoagulačný stav charakterizovaný tvorbou mikrotrombov, poruchou mikrocirkulácie a regionálnou ischémiou, ktoré významne prispievajú k rozvoju orgánovej dysfunkcie.^(33,34)

Za fyziologického stavu je zvýšená priepustnosť endotelovej bariéry lokalizovaná a časovo obmedzená, čo umožňuje ciele presun imunitných buniek do miesta infekcie. Pri sepsie však strata regulačných mechanizmov vedie ku generalizovanej vaskulárnej hyperpermeabilite, intravaskulárnej hypovolémii a presunu tekutín do interstícia („third spacing“), čo sa klinicky manifestuje hypotenziou a poruchou tkanivovej perfúzie.^(31,34) V ťažkých prípadoch tento proces vyústí do rozvoja diseminovanej intravaskulárnej koagulácie a multiorgánovej dysfunkcie.

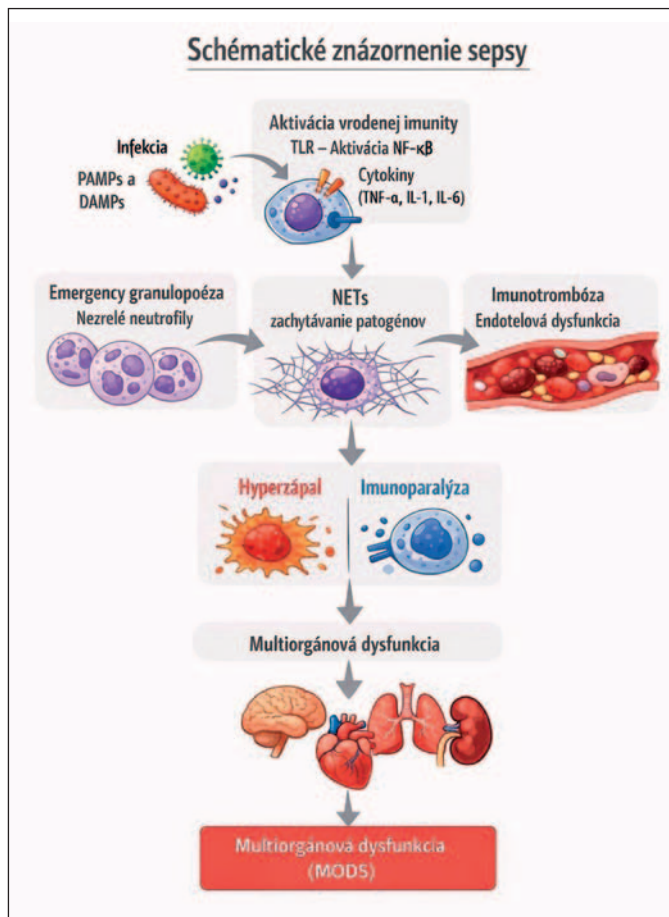
Endotelová dysfunkcia je centrálnym patofyziologickým uzlom sepsy, v ktorom sa prepája vrodená imunita, zápal, koagulácia a mikrocirkulačné zlyhanie. Jej pretrvávanie významne prispieva k udržiavaniu dysregulovanej hostiteľskej odpovede a vytvára podmienky pre následný rozvoj sepsou indukovanej imunosupresie a orgánového zlyhania. Endotelové a mikrocirkulačné zlyhanie tak vytvára podmienky nielen pre orgánové poškodenie, ale aj pre hlboké zmeny imunitnej a metabolickej homeostázy.

IMUNOMETABOLICKÁ DYSREGULÁCIA A MULTIORGÁNOVÉ ZLYHANIE PRI SEPSI

Počas sepsy sa hyperzápalové a imunosupresívne mechanizmy často prekrývajú a prebiehajú paralelne. Kým v skorých fázach dominuje nadmerná aktivácia vrodenej imunity s masívnou produkciou prozápalových cytokínov, u značnej časti pacientov dochádza v priebehu ochorenia k rozvoju sepsou indukovanej imunosupresie, označovanej ako imunoparalýza.^(9,10) Imunoparalýza je charakterizovaná funkčnými poruchami vrodenej aj adaptívnej imunity, vrátane zníženej expresie HLA-DR na monocytoch, apoptózy T a B lymfocytov, vyčerpania efektorových T buniek a expanzie regulačných T lymfocytov.^(9,10,54,55) Klinickým dôsledkom tohto stavu je zvýšená náchylnosť na sekundárne nozokomiálne infekcie, oportunistické patogény a reaktiváciu latentných vírusových infekcií, čo významne zhoršuje prognózu pacientov so sepsou.

Tvorba NETs ako most medzi hyperzápalom a imunoparalýzou

Rastúci počet dôkazov naznačuje, že nadmerná tvorba NETs nie je len efektorom hyperzápalovej fázy, ale aktívne prispieva k prechodu do stavu imunoparalýzy.⁽⁵⁶⁾ Masívna suicidálna NETóza vedie k rýchlej deplécii zreých neutrofilov, čo stimuluje emergentú granulopoézu a zaplavenie cirkulácie nezreými neutrofilmi s obmedzenou fagocytárnou kapacitou.^(18,56) Extracelulárne históny z NETs sú priamo cytotoxické voči lymfocytom a podporujú expresiu PD-L1 na myeloidných bunkách, čo vedie k vyčerpaniu T lymfocytov.^(9,57) Zároveň pretrvávajúca expozícia monocytov DAMPs uvoľnenými pri NETóze (históny, HMGB1) indukuje endotoxínovú toleranciu so zníženou expresiou HLA-DR, hlavným markerom imunoparalýzy.^(7,9) U detí môže byť toto prepojenie obzvlášť významné, v dôsledku zvýšenej expresie PAD4, pričom práve NETs a nie respiračné vzplanutie predstavujú



Obr. 1: Schématické znázornenie patogenézy sepsy. Infekcia aktivuje vrodenu imunitu prostredníctvom PAMPs a DAMPs s následnou produkciou prozápalových cytokínov. Systémová zápalová odpoveď vedie k emergency granulopoiesis, tvorbe neutrofilových extracelulárnych pascí (NETs), imunotrombóze a endotelovej dysfunkcii. Súčasná prítomnosť hyperzápalu a sepsou indukovanej imunoparalýzy prispieva k rozvoju orgánovej dysfunkcie.

ich primárny efektorový mechanizmus vrodenej imunity.⁽⁴⁰⁾ Priamy dôkaz o kauzálnom prepojení tvorby NETs s imunoparalýzou v pediatrickej kohorte však doposiaľ chýba.

Imunitná dysregulácia je pri sepe úzko prepojená s hlbokými metabolickými poruchami na úrovni buniek. Pretrvávajúci zápal, porucha mikrocirkulácie a endotelová dysfunkcia vedú k zníženej dodávke kyslíka do tkanív a k rozvoju tzv. cytopatickej hypoxie, pri ktorej bunky nie sú schopné efektívne využívať dostupný kyslík.^(58,59) Kľúčovú úlohu v tomto procese zohráva mitochondriálna dysfunkcia, sprevádzaná poruchou oxidačnej fosforylácie, zníženou produkciou ATP a zvýšenou tvorbou reaktívnych kyslíkových radikálov. Mitochondrie sú zároveň úzko prepojené s reguláciou imunitnej odpovede. Zmeny bunkového metabolizmu ovplyvňujú diferenciáciu a funkciu imunitných buniek, pričom energetický deficit podporuje prechod k imunoparalýzovému fenotypu. Tento vzájomný vzťah medzi imunitnou odpoveďou a bunkovým metabolizmom viedol k formulácii konceptu imunometabolickej dysregulácie ako centrálneho mechanizmu patogenézy sepsy.⁽⁵⁸⁾

Porucha mikrocirkulácie, mitochondriálna dysfunkcia a pretrvávajúca imunitná dysregulácia spoločne prispievajú k rozvoju multiorgánovej dysfunkcie (multiple organ dysfunction syndrome, MODS), obr. 1. Orgánové zlyhanie pri sepe nevzniká výlučne v dôsledku hypoperfúzie alebo ischemického poškodenia, ale predstavuje komplexný dôsledok zápalu, imunotrombózy, endotelovej dysfunkcie a bunkového energetického zlyhania.^(34,59) Tento mechanizmus vysvetľuje, prečo sa orgánová dysfunkcia môže rozvíjať aj pri zdanlivo adekvátnej makrohemodynamickej stabilizácii. U pediatrických pacientov môže byť imunometabolická dysregulácia ešte výraznejšia vzhľadom na vývinové špecifiká imunitného systému, rozdielnu mitochondriálnu funkciu a obmedzené metabolické rezervy. Multiorgánová dysfunkcia tak predstavuje konečný spoločný výsledok dysregulovanej hostiteľskej odpovede, ktorý je hlavným determinantom mortality a dlhodobej morbidity pri ťažkej sepe a septickým šoku.^(1,2,5) V tab. 1 a 2 sumarizujeme patofyziologické

Tab. 1: Kľúčové patofyziologické determinanty sepsy a ich klinické implikácie

Patogenetický mechanizmus	Implikácie pre klinickú prax
<ul style="list-style-type: none"> Sepsa je dynamická dysregulácia imunity. Hyperzápal a imunoparalýza prebiehajú súčasne a ich vzájomný pomer sa v čase mení. 	<ul style="list-style-type: none"> Jednotná „anti-zápalová“ liečba nestačí. Pacienti sa nachádzajú v rôznych imunologických fázach a vyžadujú diferencovaný prístup.
<ul style="list-style-type: none"> Neutrofilý sú kľúčové, ale funkčne heterogénne. Emergentná granulopoéza vedie k uvoľňovaniu nezrelých neutrofilov so zmenenými efektorovými vlastnosťami. 	<ul style="list-style-type: none"> Zmeny v leukogramoch nie sú len kvantitatívne. Funkčný stav neutrofilov a pomer zrelých/nezrelých foriem má prognostický význam.
<ul style="list-style-type: none"> NETs spájajú imunitu, trombózu a endotelové poškodenie. Nadmerná NETóza podporuje imunotrombózu a mikrovaskulárne zlyhanie. 	<ul style="list-style-type: none"> Koagulopatia nie je len hematologický problém. Imunotrombóza významne prispieva k orgánovej dysfunkcii.
<ul style="list-style-type: none"> Endotel je aktívny regulátor, nie pasívna bariéra. Endotelová dysfunkcia vedie k poruche permeability, koagulácie a mikrocirkulácie. 	<ul style="list-style-type: none"> Normalizácia krvného tlaku neznamená normalizáciu perfúzie. Mikrocirkulačné zlyhanie môže pretrvávať aj pri stabilnej makrohemodynamike.
<ul style="list-style-type: none"> Multiorgánové zlyhanie je dôsledkom imunometabolického kolapsu. Orgány zlyhávajú pre kombináciu zápalu, poruchy mikrocirkulácie a mitochondriálneho energetického zlyhania. 	<ul style="list-style-type: none"> Orgánová dysfunkcia môže byť reverzibilná. Často ide o funkčné, nie štruktúrne poškodenie – pri včasnej a cielenej intervencii.
	<ul style="list-style-type: none"> Budúcnosť liečby sepsy je personalizovaná. Cielené zásahy budú vyžadovať imunofenotypovanie a individualizovaný prístup.

Tab. 2: Klinický prístup k heterogenite sepsy

Krok	Klinická otázka	Čo hodnotiť
1. Potvrď sepsu	Ide o infekciu s orgánovou dysfunkciou?	Klinické známky infekcie + orgánová dysfunkcia (neurologická, respiračná, renálna, obehová); použi pediatrické kritéria (Phoenix).
2. Urči dominantnú imunitnú fázu	Prevažuje hyperzápal, alebo imunosupresia?	Klinický stav, trend CRP/PCT, leukogram (nezrelé formy), lymfopénia; myslieť na dynamiku v čase.
3. Zhodnoť mikrocirkuláciu a endotel	Je perfúzia adekvátna aj pri normálnom tlaku?	Laktát, kapilárny návrat, diuréza, známky „third spacing“; uvedomiť si možnú pretrvávajúcu endotelovú dysfunkciu.
4. Mysli na imunotrombózu	Môže koagulopatia prispievať k orgánovej dysfunkcii?	Trombocyty, D-diméry, koagulačné parametre; NETs a mikrotrombóza ako súčasť patogenézy.
5. Zváž imunometabolické zlyhanie	Nejde o funkčné, potenciálne reverzibilné orgánové zlyhanie?	MODS aj pri stabilnej makrohemodynamike; podpora orgánov, vyhýbanie sa nadmerným iatrogénnym zásahom.
6. Pravidelne prehodnocuj stav	Mení sa imunitný fenotyp pacienta?	Sepsa je dynamický proces – opakované klinické a laboratórne hodnotenie je kľúčové.

determinanty sepsy a klinický prístup, berúc do úvahy klinickú rozmanitosť sepsy.

ZÁVER

Pochopenie patogenézy sepsy u pediatrických pacientov sa v ostatných rokoch výrazne prehĺbilo, no zároveň odhalilo novú vrstvu komplexnosti. Dysregulácia vrodenej imunity, porucha granulopoézy, nadmerná tvorba NETs, endotelová dysfunkcia a rozvoj imunoparalýzy nie sú len paralelné

deje – sú to vzájomne sa potencujúce mechanizmy, ktoré spoločne utvárajú klinický obraz pacienta so sepsou. Neutrofilý a NETs sú v tomto procese kľúčovými efektormi ale i induktormi orgánového poškodenia. Ich úloha v dlhodobých dôsledkoch sepsy a rozvoji PICS zostáva predmetom aktívneho výskumu, vrátane európskeho projektu BEATsep (Horizon Europe, Grant No. 101137484), na ktorom participujeme. Práve hlbšie poznanie týchto mechanizmov predstavuje najslubnejšiu cestu k novým cieľeným terapeutickým stratégiám a k zlepšeniu prognózy detských pacientov so sepsou. |

LITERATÚRA

- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016; 315(8): 801–10.
- Weiss SL, Peters MJ, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign international guidelines for the management of septic shock and sepsis-associated organ dysfunction in children. *Intensive Care Med* 2020; 46(Suppl 1): 10–67.
- Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* 2020; 395(10219): 200–211.
- Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2021: a systematic analysis. *Lancet Glob Health* 2025; 13(12): e2013–e206.
- Zimmerman JJ, Banks R, Berg RA, et al. Critical illness factors associated with long-term mortality and health-related quality of life morbidity following community-acquired pediatric septic shock. *Crit Care Med* 2020; 48(3): 319–328.
- Schlapbach LJ, Watson RS, Sorce LR, et al. International consensus criteria for pediatric sepsis and septic shock. *JAMA* 2024; 331(8): 665–674.
- van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets.
- Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013; 369(9): 840–51.
- Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2013; 13(12): 862–74.
- Boomer JS, To K, Chang KC, et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA* 2011; 306(23): 2594–605.
- Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol* 2018; 18(2): 134–147.
- Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2013; 13(1): 34–45.
- Barnes BJ, Adrover JM, Baxter-Stoltzfus A, et al. Targeting potential drivers of COVID-19: neutrophil extracellular traps. *J Exp Med* 2020; 217(6).
- Manz MG, Boettcher S. Emergency granulopoiesis. *Nat Rev Immunol* 2014; 14(5): 302–14.
- Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010; 140(6): 805–20.
- Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature* 2007; 449(7164): 819–26.
- Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2013; 13(3): 159–75.
- Kwok AJ, Allcock A, Ferreira RC, et al. Neutrophils and emergency granulopoiesis drive immune suppression and an extreme response endotype during sepsis. *Nat Immunol* 2023; 24(5): 767–779.
- Danikas DD, Karakantza M, Theodorou GL, et al. Prognostic value of phagocytic activity of neutrophils and monocytes in sepsis. Correlation to CD64 and CD14 antigen expression. *Clin Exp Immunol* 2008; 154(1): 87–97.
- Taneja R, Sharma AP, Hallett MB, et al. Immature circulating neutrophils in sepsis have impaired phagocytosis and calcium signaling. *Shock* 2008; 30(6): 618–22.
- Meng X, Zhang H, Wang A, et al. Neutrophil immaturity and ELANE mislocalization impair NETosis in ELANE-associated neutropenia. *J Allergy Clin Immunol* 2025; 156(6): 1765–1768.
- Hampson P, Dinsdale RJ, Wearn CM, et al. Neutrophil dysfunction, immature granulocytes, and cell-free DNA are early biomarkers of sepsis in burn-injured patients: a prospective observational cohort study. *Ann Surg* 2017; 265(6): 1241–1249.

23. **Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al.** Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004; 303(5663): 1532–5.
24. **Yipp BG, Kubes P.** NETosis: how vital is it? *Blood* 2013; 122(16): 2784–94.
25. **Urban CF, Erment D, Schmid M, et al.** Neutrophil extracellular traps contain calprotectin, a cytosolic protein complex involved in host defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathog* 2009; 5(10): e1000639.
26. **Saitoh T, Komano J, Saitoh Y, et al.** Neutrophil extracellular traps mediate a host defense response to human immunodeficiency virus-1. *Cell Host Microbe* 2012; 12(1): 109–16.
27. **Saffarzadeh M, Juenemann C, Queisser MA, et al.** Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death: a predominant role of histones. *PLoS One* 2012; 7(2): e32366.
28. **Wang Y, Luo L, Braun O, et al.** Neutrophil extracellular trap-microparticle complexes enhance thrombin generation via the intrinsic pathway of coagulation in mice. *Sci Rep* 2018; 8(1): 4020.
29. **Yang X, Li L, Liu J, et al.** Extracellular histones induce tissue factor expression in vascular endothelial cells via TLR and activation of NF- κ B and AP-1. *Thromb Res* 2016; 137: 211–218.
30. **Jenne CN, Wong CH, Zemp FJ, et al.** Neutrophils recruited to sites of infection protect from virus challenge by releasing neutrophil extracellular traps. *Cell Host Microbe* 2013; 13(2): 169–80.
31. **Levi M, van der Poll T.** Coagulation and sepsis. *Thromb Res* 2017; 149: 38–44.
32. **Gould TJ, Lysov Z, Liaw PC.** Extracellular DNA and histones: double-edged swords in immunothrombosis. *J Thromb Haemost* 2015; 13(Suppl 1): S82–91.
33. **Clark SR, Ma AC, Tavener SA, et al.** Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med* 2007; 13(4): 463–9.
34. **Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, et al.** The endothelium in sepsis. *Shock* 2016; 45(3): 259–70.
35. **Nakazawa D, Marschner JA, Platen L, Anders HJ.** Extracellular traps in kidney disease. *Kidney Int* 2018; 94(6): 1087–1098.
36. **Krivošíková K, Šupčíková N, Gaál Kovalčíková A, et al.** Neutrophil extracellular traps in urinary tract infection. *Front Pediatr* 2023; 11: 1154139.
37. **Appelgren D, Enocsson H, Skogman BH, et al.** Neutrophil extracellular traps (NETs) in the cerebrospinal fluid samples from children and adults with central nervous system infections. *Cells* 2019; 9(1).
38. **King PT, Dousha L, Clarke N, et al.** Phagocyte extracellular traps in children with neutrophilic airway inflammation. *ERJ Open Res* 2021; 7(2).
39. **Yost CC, Cody MJ, Harris ES, et al.** Impaired neutrophil extracellular trap (NET) formation: a novel innate immune deficiency of human neonates. *Blood* 2009; 113(25): 6419–27.
40. **Colón DF, Wanderley CW, Franchin M, et al.** Neutrophil extracellular traps (NETs) exacerbate severity of infant sepsis. *Crit Care* 2019; 23(1): 113.
41. **Pastorek M, Konecna B, Janko J, et al.** Mitochondria-induced formation of neutrophil extracellular traps is enhanced in the elderly via Toll-like receptor 9. *J Leukoc Biol* 2023; 114(6): 651–665.
42. **Hoppenbrouwers T, Boeddha NP, Ekinci E, et al.** Neutrophil extracellular traps in children with meningococcal sepsis. *Pediatr Crit Care Med* 2018; 19(6): e286–e291.
43. **Stiel CU, Ebenebe CU, Trochimiuk M, et al.** Markers of NETosis do not predict neonatal early onset sepsis: a pilot study. *Front Pediatr* 2019; 7: 555.
44. **Lenz M, Maiberger T, Armbrust L, et al.** cfDNA and DNases: new biomarkers of sepsis in preterm neonates – a pilot study. *Cells* 2022; 11(2).
45. **Carmona-Rivera C, Zhang Y, Dobbs K, et al.** Multicenter analysis of neutrophil extracellular trap dysregulation in adult and pediatric COVID-19. *JCI Insight* 2022; 7(16).
46. **Boribong BP, LaSalle TJ, Bartsch YC, et al.** Neutrophil profiles of pediatric COVID-19 and multisystem inflammatory syndrome in children. *Cell Rep Med* 2022; 3(12): 100848.
47. **Feng Y, Zhang F, Yan M, et al.** Clinical value of neutrophil extracellular trap-related biomarkers for sepsis diagnosis and mortality prediction in older patients: a case-control study. *Int J Infect Dis* 2026; 163: 108299.
48. **Velissaris D, Karamouzou V, Paraskevas T, et al.** Neutrophil extracellular traps in the prognosis of sepsis: a current update. *Medicina (Kaunas)* 2025; 61(7).
49. **He J, Zheng F, Qiu L, et al.** Plasma neutrophil extracellular traps in patients with sepsis-induced acute kidney injury serve as a new biomarker to predict 28-day survival outcomes of disease. *Front Med (Lausanne)* 2024; 11: 1496966.
50. **Kovalčíková AG, Novák B, Roshko O, et al.** Extracellular DNA and markers of neutrophil extracellular traps in saliva from patients with periodontitis – a case-control study. *J Clin Med* 2024; 13(2).
51. **Mengozzi L, Barison I, Malý M, et al.** Neutrophil extracellular traps and thrombolysis resistance: new insights for targeting therapies. *Stroke* 2024; 55(4): 963–971.
52. **Yu X, Chen Z, Ruan F, et al.** Inhibition of PAD4-mediated neutrophil extracellular traps formation attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal mice. *Exp Neurol* 2025; 384: 115065.
53. **Ngo AT, Skidmore A, Oberg J, et al.** Platelet factor 4 limits neutrophil extracellular trap- and cell-free DNA-induced thrombogenicity and endothelial injury. *JCI Insight* 2023; 8(22).
54. **Venet F, Monneret G.** Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression. *Nat Rev Nephrol* 2018; 14(2): 121–137.
55. **Wherry EJ, Kurachi M.** Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat Rev Immunol* 2015; 15(8): 486–99.
56. **Retter A, Singer M, Annane D.** „The NET effect“: neutrophil extracellular traps – a potential key component of the dysregulated host immune response in sepsis. *Crit Care* 2025; 29(1): 59.
57. **Xu J, Zhang X, Pelayo R, et al.** Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med* 2009; 15(11): 1318–21.
58. **Singer M.** The role of mitochondrial dysfunction in sepsis-induced multi-organ failure. *Virulence* 2014; 5(1): 66–72.
59. **Marshall JC.** Inflammation, coagulopathy, and the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med* 2001; 29(7 Suppl): S99–106.