



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

**Valutazione integrata di biomarcatori
tradizionali e innovativi nella sepsi: implicazioni
prognostiche nel paziente ospedalizzato**

**Integrated evaluation of traditional and novel
biomarkers in sepsis: prognostic implications
for hospitalized patients**

Relatore: Chiar.mo
Prof. Jacopo Sabbatinelli

Tesi di Laurea di:
Sergio Cantalamessa

Anno Accademico 2025/26

SOMMARIO

1. INTRODUZIONE	1
1.1. Inquadramento generale della sepsi	1
1.2. Epidemiologia della sepsi.....	4
1.3. Fisiopatologia della sepsi	6
1.3.1. PRR e innesco della risposta immunitaria	8
1.3.2. Fallimento dei meccanismi regolatori e tempesta citochinica.....	12
1.3.3. Meccanismi di danno cellulare e mitocondriale	14
1.3.4. Conseguenze sistemiche della sepsi - MODS	18
1.3.5. L'immunoparalisi.....	21
1.4. Biomarcatori di routine e innovativi nella sepsi.....	22
1.4.1. Biomarcatori di routine nella sepsi	23
1.4.2. Biomarcatori innovativi nella sepsi.....	26
1.5. Razionale dello studio	35
2. OBIETTIVO DELLO STUDIO	37
3. MATERIALI E METODI	38
3.1 Disegno dello studio e popolazione	38
3.2 Raccolta e conservazione dei campioni biologici	38
3.3 Determinazione dei biomarcatori	39
3.4 Analisi dei microRNA circolanti.....	39
3.5 Covariate cliniche e laboratoristiche	40
3.6 Analisi statistica	40
4. RISULTATI	43
5. DISCUSSIONE	70
5.1 Punti di forza e limiti dello studio.....	77
5.2. Conclusioni.....	79
BIBLIOGRAFIA	80

1. INTRODUZIONE

1.1. Inquadramento generale della sepsi

L'attuale definizione di sepsi è stata elaborata da Mervyn Singer et al. nel 2016 nel contesto del Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3): viene descritta come una *disfunzione d'organo, potenzialmente fatale, secondaria a una sregolata risposta dell'ospite all'infezione*. Il danno d'organo viene valutato mediante SOFA score, o "Sequential Organ Failure Assessment score". Si fa diagnosi di sepsi in presenza di infezione, anche solo sospetta, e di un incremento del SOFA score ≥ 2 punti rispetto al valore basale, che può essere considerato pari a zero nei pazienti senza disfunzione d'organo preesistente nota (Singer et al., 2016).

Funzione	Valore corrispondente a un punteggio SOFA ≥ 2
Respiratoria	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$
Neurologica	$\text{GCS} < 13$
Cardiovascolare	Dopamina $\leq 5 \mu\text{g/kg/min}$ o qualsiasi dosaggio di dobutamina
Epatica	Concentrazione di bilirubina $> 2.0 \text{ mg/dL}$
Emostatica	Numero di piastrine $< 100000/\text{mm}^3$
Renale	Creatininemia $> 2.0 \text{ mg/dL}$

Tabella 1. Valori di SOFA score diagnostici di disfunzione d'organo per ciascuna funzione analizzata

Le nuove linee guida per la gestione della sepsi, pubblicate il 23 marzo 2026, pur riconoscendo che non esiste alcuno strumento ideale di screening per tale patologia che abbia sufficienti sensibilità e specificità, escludono l'uso del solo quick SOFA score (qSOFA) per porre il sospetto clinico di sepsi e propongono, in alternativa, il ricorso agli Early

Warning Scores (EWS), includendo NEWS, NEWS2, MEWS e SIRS. Sebbene essi non siano in grado di sostituire il SOFA score, proprio come il qSOFA, possiedono rispetto a quest'ultimo una maggiore sensibilità, dimostrata sulla base dei dati elaborati da quattro review sistematiche e metanalisi, con NEWS2 indicato come il miglior test per sensibilità e specificità (Prescott et al., 2026).

Lo stesso gruppo di studio del 2016 ha definito anche lo shock settico, inquadrandolo come un sottotipo di sepsi in cui vi sono ipotensione persistente e necessità di vasopressori per mantenere la pressione arteriosa media ≥ 65 mmHg e un livello di lattato sierico >2 mmol/L (18 mg/dL) nonostante un'adeguata rianimazione fluidica – condizione in cui la mortalità intraospedaliera supera il 40% (Singer et al., 2016).

In precedenza, nella Consensus Conference del 1992 a cui avevano partecipato l'American College of Chest Physicians (ACCP) e la Society of Critical Care Medicine (SCCM), la sepsi era stata intesa, invece, come una sindrome clinica definita dalla presenza contemporanea di un'infezione e di una risposta infiammatoria sistemica, così da includerla del tutto nel concetto più ampio di “Sindrome da Risposta Infiammatoria Sistemica” (SIRS) e da farne condividere i criteri diagnostici; l'attuale definizione di sepsi fu inquadrata come “sepsi severa”; lo shock settico fu descritto come “uno stato acuto di insufficienza circolatoria” (Bone et al., 1992). Una seconda Consensus Conference, nel 2001, riconfermò le definizioni, in assenza di evidenze in merito alla fisiopatologia che permettersero di modificarla (Levy et al., 2003).

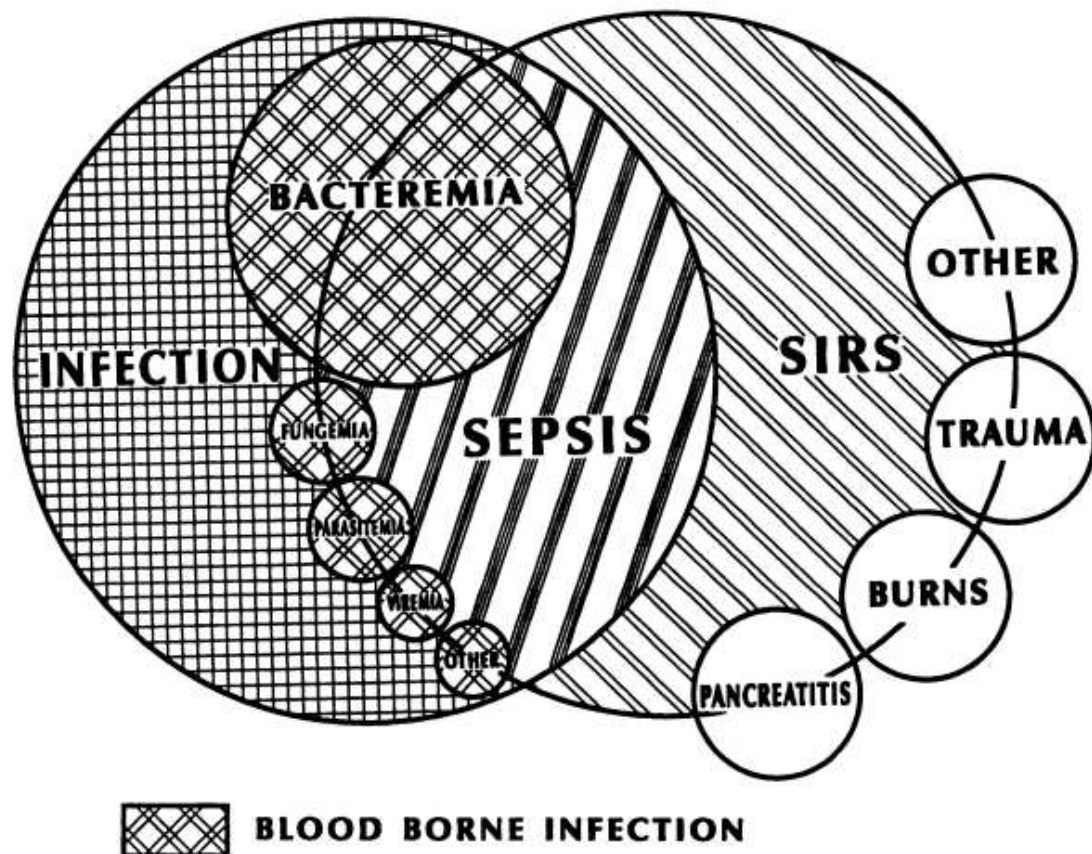


Figura 1. Modello teorico di R C Bone et al., 1992: "The interrelationship between systemic inflammatory response syndrome (SIRS), sepsis, and infection."

In Sepsis-3, i criteri della SIRS sono stati abbandonati: hanno esibito sia **scarsa validità discriminante**, dal momento che ≥ 2 criteri positivi sono riscontrabili in molti pazienti ospedalizzati anche in assenza di infezione o risposta disregolata o esito potenzialmente avverso, sia **insufficiente validità convergente**, tenendo conto che in un paziente ogni otto, nelle Unità di Terapia Intensiva australiane e neozelandesi, mancavano criteri sufficienti a definire la diagnosi di sepsi nonostante la concomitante presenza di infezione, insufficienza d'organo e un decorso caratterizzato da significative morbidità e mortalità. "La validità discriminante e la validità convergente costituiscono, insieme, la validità di un costrutto, per cui i criteri SIRS ne sono carenti" (Singer et al., 2016).

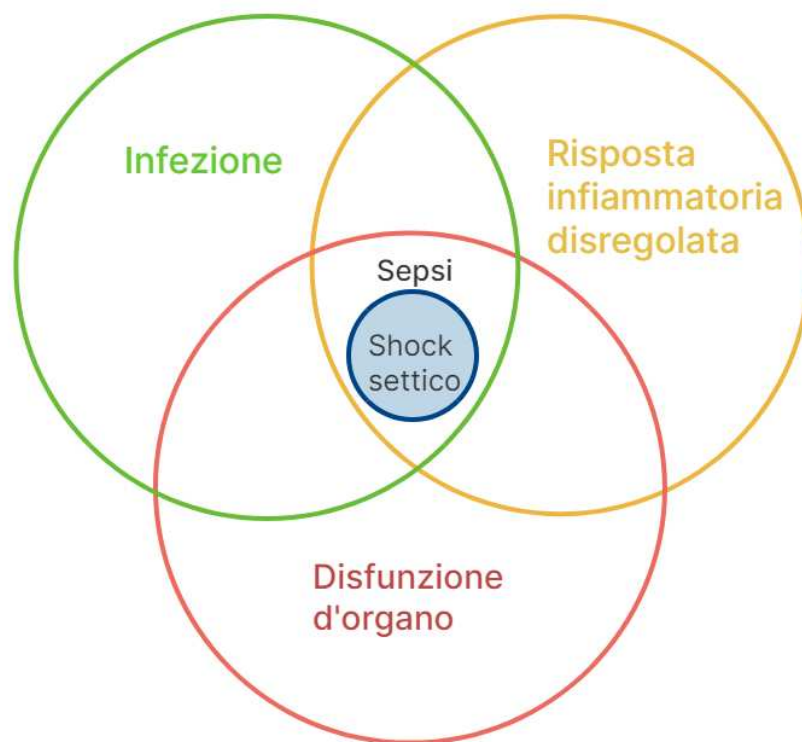


Figura 2. Attuale modello teorico di sepsi secondo la definizione del Consensus Sepsis-3.

1.2. Epidemiologia della sepsi

Sebbene ci siano stati miglioramenti in termini di diagnosi e gestione, la sepsi e lo shock settico rimangono cause frequenti di morbidità e mortalità: una recente analisi da parte del Global Burden of Disease Study 2017 ha mostrato che, in quell'anno, si erano verificate 11.0 milioni di morti correlate alla sepsi e 48.9 milioni di casi di sepsi a livello globale (La Via et al., 2024).

In seguito, nel 2020, Fleischmann-Struzek et al. hanno condotto una ricerca sugli studi epidemiologici pubblicati da maggio 2015 fino a febbraio 2019, includendo, inoltre, per quanto riguarda i paesi a medio e basso reddito, pubblicazioni da gennaio 1979 a febbraio 2019. Gli autori hanno riportato:

- un'incidenza di sepsi ospedaliera di circa 189 casi per 100000 persone/anno;
- una mortalità complessiva per sepsi ospedaliera di approssimativamente il 26.7%;
- un'incidenza di sepsi in Unità di Terapia Intensiva di circa 58 casi per 100000 persone/anno, con mortalità pre-dimissione ospedaliera del 41.9%;
- un aumento dell'incidenza di sepsi ospedaliera post 2008 del 46% (Fleischmann-Struzek et al., 2020).

Uno studio meta-analitico del 2018, sempre di Fleischmann-Struzek et al., si è concentrato sull'epidemiologia della sepsi nelle popolazioni pediatrica e neonatale: sulla base di studi pubblicati in 12 Paesi diversi, tra il 1979 e il 2016, sono state rilevate:

- un'incidenza di 48 casi di sepsi e 22 casi di sepsi severa ogni 100000 persone/anno nella popolazione pediatrica, con mortalità compresa tra l'1 e il 5% per la sepsi e tra il 9 e il 20% per la sepsi severa;
- un'incidenza, tra i neonati vivi, di 2202 casi di sepsi ogni 100000 nascite e una mortalità neonatale tra l'11 e il 19%;
- estrapolando dai dati a disposizione, un'incidenza globale stimata di 3 milioni di casi all'anno tra i bambini e 1.2 milioni di casi all'anno tra i neonati (Fleischmann-Struzek et al., 2018).

In Italia, nel 2018, sono stati pubblicati i risultati di uno studio prospettico multicentrico di sorveglianza inserito nel programma italiano SPIN-UTI (Sorveglianza Prospettica delle Infezioni Nosocomiali in Terapia Intensiva) e svolto secondo protocolli standardizzati europei. In cinque cicli di sorveglianza, tra il 2008 e il 2017, si è osservato che:

- il 47% delle infezioni correlate all'assistenza (HAI) acquisite in ICU è evoluto in sepsi;

- tra gli 832 episodi di sepsi ICU-acquisita, oltre il 40% dei casi è stato identificato come grave o corrispondente a shock settico.

Oltre al costo umano, la sepsi determina ingenti perdite economiche: nel 2025, Chechulina et al. hanno prodotto una revisione sistematica sulla base di 23 studi osservazionali pubblicati dal 2000 al 2025 in cinque Paesi, cioè Stati Uniti, Canada, Australia, Lettonia e Francia, stimando un costo sanitario totale mediano, per ciascun paziente dimesso, di 28719 \$ a un anno dalle dimissioni, di 22460 \$ nel secondo anno post dimissioni e un costo mediano di riammissione di 20320 \$ (Chechulina et al., 2025).

Alla luce dei dati a disposizione sull'impatto sanitario, sociale ed economico della sepsi, trasversale alle fasce di età e rilevante in ogni contesto geografico e ospedaliero, risulta evidente la necessità di strumenti che garantiscano la massima precocità della diagnosi e che permettano la stratificazione prognostica ai fini di migliorare la prognosi.

1.3. Fisiopatologia della sepsi

Nell'attuale modello teorico fisiopatologico della sepsi, si ha una disregolazione del sistema immunitario quando, in risposta a un'infezione, si determina una produzione abnorme e autosostenuta di citochine infiammatorie e antinfiammatorie, o *tempesta citochinica*, che produce stati dinamicamente alternati fra loro e non del tutto mutualmente esclusivi di *iperinfiammazione* e di *immunoparalisi*, cioè, rispettivamente, di eccessiva risposta in senso infiammatorio e di immunocompromissione acquisita (Valsamaki et al., 2025). La risposta mista pro-/antinfiammatoria dopo l'insulto infettivo iniziale è stata dimostrata in modelli murini di sepsi polimicrobica, ottenuta artificialmente attraverso la *Cecal ligation and puncture* o CLP (Osuchowski et al., 2006); la stessa risposta è stata evidenziata in trial clinici umani (Tamayo et al., 2011). In soggetti predisposti per alterazioni

costitutive o acquisite del sistema immunitario, come per esempio neonati (Hibbert et al., 2018), anziani (Pei et al., 2020) e persone in stato di immunocompromissione (Deinhardt-Emmer et al., 2025), l'immunoparalisi può costituire l'espressione patologica prevalente precoce della sepsi, così che, rispetto al passato, si è superata la concezione della sequenza di risposta iperinflammatoria seguita necessariamente da una "sindrome della risposta antinfiammatoria compensatoria" (CARS).

La perdita dell'omeostasi immunitaria è un evento che non si verifica fisiologicamente in risposta a un'infezione: piuttosto, si tratta di uno sbilanciamento a cui possono contribuire le caratteristiche individuali dell'ospite e del patogeno (Joosten et al., 2024).

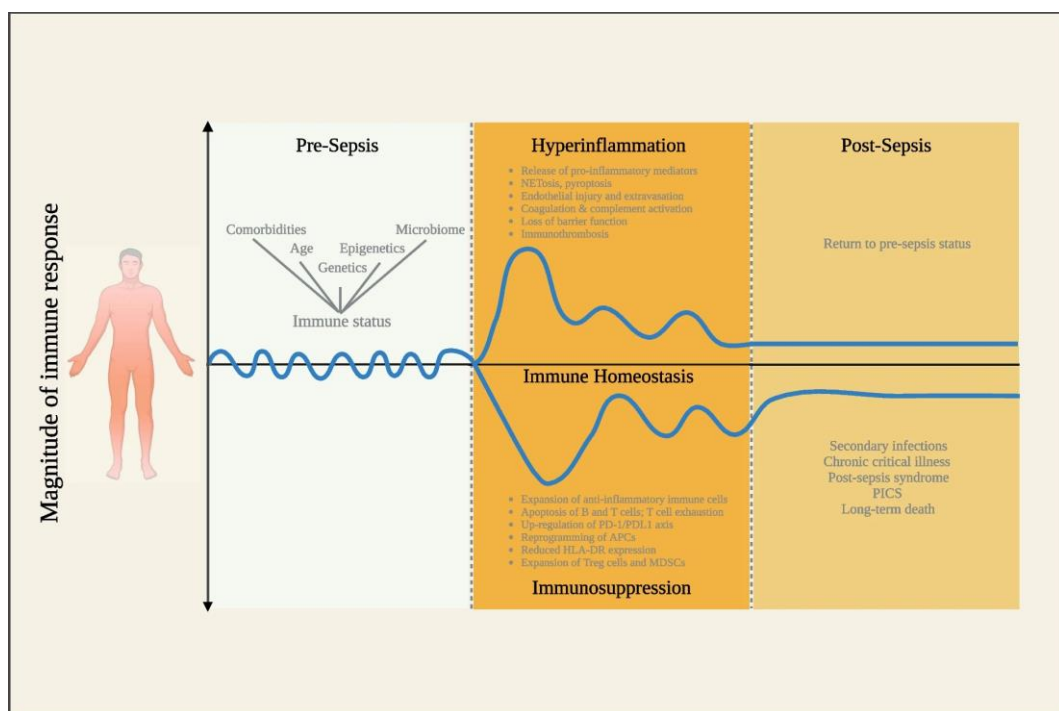


Figura 3. Copyright ©2023 Bode, Weis, Sauer, Wendel-Garcia and David.
"Model of sepsis-induced immune responses"

1.3.1. PRR e innesco della risposta immunitaria

Fisiologicamente, all'ingresso di un microorganismo o di una sua componente nel torrente ematico, vengono esposti o rilasciati in circolo due tipi di profili molecolari conservati, riconoscibili dal sistema immunitario innato e in grado di stimolarlo:

- *profili molecolari associati al patogeno (PAMPs)*, come, per esempio, carboidrati quali il lipopolisaccaride (LPS) e i residui di mannosio; acidi nucleici (RNA, DNA); proteine microbiche come la flagellina; molecole di parete batterica tra cui il peptidoglicano e l'acido lipoteicoico (LTA) (Cicchinelli et al., 2024);
- *profili molecolari associati al danno (DAMPs)*, o “allarmine”, corrispondenti a molecole endogene rilasciate in caso di danno cellulare per effetto di una noxa patogena, sia essa un insulto fisico (trauma, radiazioni) o chimico (includendo tossine o variazioni di osmolarità), un cambiamento metabolico (come quello dovuto a ischemia o riperfusione) o esposizione ad agenti infettivi. Includono, tra le altre cose: *high mobility group box 1* (HMGB1), *extracellular cold-inducible RNA-binding protein* (eCIRP), adenosina trifosfato (ATP), la nicotinammide adenina dinucleotide (NAD), molecole associate agli acidi nucleici come le *heat shock proteins* (HSPs), gli istoni, membri della famiglia S100, cfDNA e DNA mitocondriale (mtDNA) (Cicchinelli et al., 2024).

PAMPs e DAMPs vengono riconosciuti dai *Pattern Recognition Receptors (PRR)*, essenziali nell'avvio della risposta immunitaria innata ed espressi da varie cellule dell'organismo, come quelle immunitarie ed endoteliali, sia come proteine transmembrana, quali i *Toll-like receptors* (TLR) e i *C-type lectin receptors* (CLR), sia come recettori citosolici, quali i *NOD-like receptors* (NLR) e i *RIG-like receptors* (RLR) (Cicchinelli et al., 2024).

A riconoscimento avvenuto, l'azione dei PRR si esplica tramite processi di trasduzione intracellulare che culminano nell'attivazione di mediatori di risposte biologiche come:

- il **fattore nucleare κB** (NF- κB), cioè una famiglia di cinque proteine che fungono da fattori di trascrizione e mediano l'espressione di geni implicati, tra le altre cose, nella risposta infiammatoria e nella sua regolazione perlopiù tramite citochine come TNF- α e IL-1 β (Mussbacher et al., 2019);
- l'**inflammosoma NLRP3**, complesso multiproteico citoplasmatico alla cui attivazione contribuisce lo stesso NF- κB ; esso induce la maturazione e il rilascio di citochine proinfiammatorie come IL-1 β e IL-18 e può causare la piroptosi, forma pro-infiammatoria di morte cellulare programmata (Pandey et al., 2025).

È opportuno ricordare che le esotossine batteriche, oltre a essere riconosciute dai PRR direttamente come PAMPs, possono attivare l'inflammosoma per via indiretta – per esempio, causando un efflusso di potassio formando pori nella membrana cellulare oppure un'inattivazione della Rho GTPasi (Greaney et al., 2015).

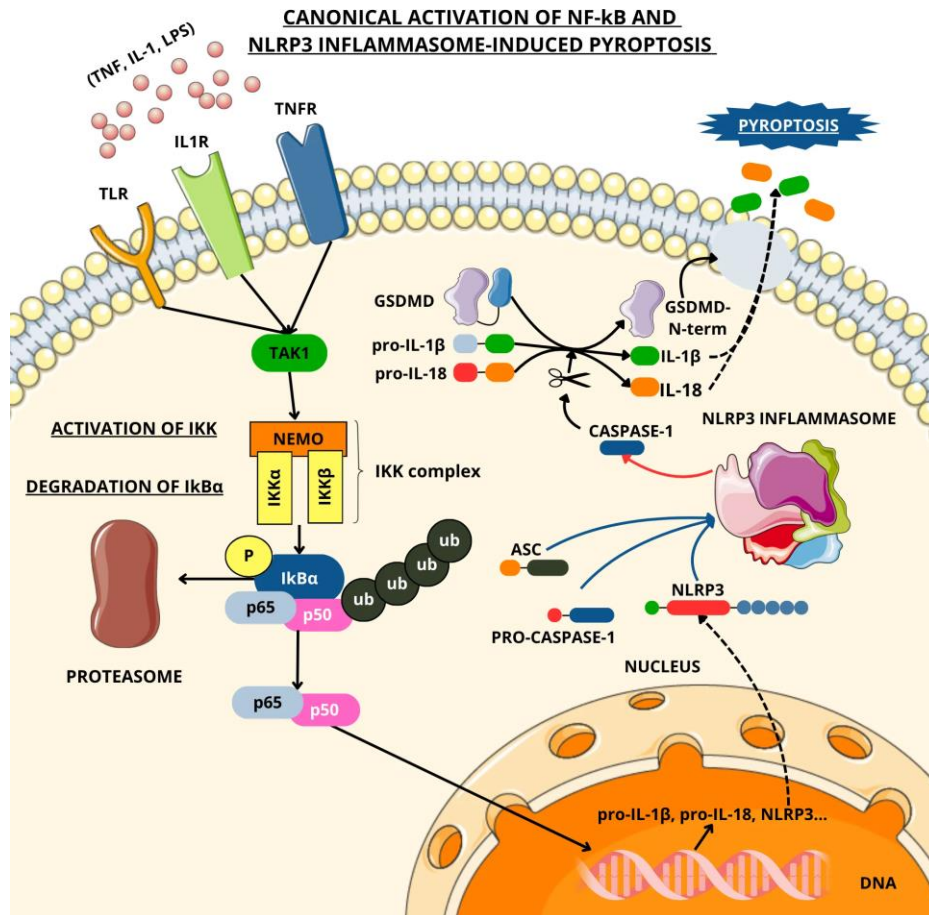


Figura 4. Copyright © 2025 Vella, Panci, Carini, Malta, Vieni, David, Albano, Puntarello, Zerbo and Argo.
"Canonical activation of NF- κ B and NLRP3-induced pyroptosis."

La produzione di citochine conseguente all'attivazione di NF- κ B e inflammosoma NLRP3 è uno dei principali meccanismi attraverso cui le cellule dell'immunità innata (e.g. neutrofili, macrofagi, cellule dendritiche) attuano una risposta iniziale e avviano una prima ondata di amplificazione della risposta immunitaria (Fan et al., 2026).

Le citochine costituiscono una classe di molecole biologicamente attive coinvolte, principalmente, nella modulazione del sistema immunitario e, più in generale, in vari processi cellulari quali, per fare degli esempi, la sopravvivenza, la replicazione, l'apoptosi, l'interazione tra cellule e l'alterazione dell'emostasi. Sono secrete da vari tipi cellulari ed

esercitano, tramite meccanismi autocrini, paracrini o combinati, oltre che a livello sistemico, effetti diversi a seconda del contesto fisiologico: proinfiammatorio, antinfiammatorio o duale (Vella et al., 2025).

Un ruolo importante è svolto dal TNF- α , prodotto dal sistema monocito-macrofagico. Tra i vari effetti esercitati, esso agisce da pirogeno e attiva cascate di segnalazione come NF- κ B, ERK, p38 MAPK e JNK, che conducono alla produzione di IL-6, IL-8 e IL-18; è in grado di provocare apoptosi e necrosi con conseguente liberazione di DAMPs; coinvolge e attiva i linfociti B (Vella et al., 2025).

Analogamente, alcuni membri della famiglia di proteine IL-1 (IL-1 α , IL-1 β , IL-18, IL-33, IL-36) attivano le cellule natural killer, i neutrofili, i macrofagi e le cellule dendritiche, nonché le cellule linfocitarie della linea T. Altri membri della stessa famiglia, come IL-38, esercitano invece proprietà antinfiammatorie, riducendo il rilascio di citochine proinfiammatorie e promuovendo la risposta delle cellule T regolatrici (Candelli et al., 2025).

L'IL-12 induce la produzione di interferone gamma (IFN γ) da parte delle cellule T helper e natural killer. IL-17A e IL-17F potenziano il reclutamento dei neutrofili, stimolando la sintesi di peptidi antimicrobici e attivando i macrofagi; inoltre, IL-17 facilita il rilascio di ulteriori citochine proinfiammatorie e metalloproteinasi (MMPs), che possono contribuire a sostenere l'infiammazione e potenzialmente il danno tissutale. L'IL-8 è uno degli stimoli per i neutrofili a rilasciare reti extracellulari di DNA e proteine (cromatina decondensata, istoni, nucleosomi, enzimi proteolitici come l'elastasi neutrofilica, la mieloperoxidasi e la catepsina G), le cosiddette NET: esse sono in grado di immobilizzare e neutralizzare una grande varietà di agenti patogeni; allo stesso tempo, i componenti della

NET hanno un effetto citotossico diretto, particolarmente pronunciato contro le cellule endoteliali (Vella et al., 2025).

In generale, le citochine attivano le cellule endoteliali, aumentando la permeabilità vascolare e promuovendo l'espressione di molecole di adesione (ICAM-1, VCAM-1) volte al reclutamento di ulteriori leucociti verso il sito di infezione/trauma e alla stimolazione del rilascio di chemochine, le quali amplificano ulteriormente il reclutamento e l'attivazione di cellule dell'immunità innata (Fan et al., 2026).

La risposta dell'immunità innata coinvolge il sistema immunitario adattativo, conducendo a una seconda e più imponente ondata di amplificazione della risposta immunitaria: cellule T helper 1 (Th1), spinte da IL-12 e IFN- γ , producono IFN- γ in gran quantità. Questo ha una forte sinergia con TNF- α e IL-1 β nell'attivare i macrofagi, così che si ha un incremento secondario massivo di citochine proinfiammatorie attraverso il pathway JAK/STAT1 (Fan et al., 2026). Tale processo rappresenta un circolo a feedback positivo fondamentale tra l'immunità innata e adattativa. Le cellule Th17, polarizzate da IL-6 e TGF- β , producono IL-17A/F (Chang et al., 2020); IL-17 agisce sulle cellule stromali ed epiteliali e ne stimola la produzione di chemochine che reclutano neutrofili, così da scatenare un'intensa infiammazione neutrofila accompagnata da danno tissutale (Mills, 2023).

1.3.2. Fallimento dei meccanismi regolatori e tempesta citochinica

Fisiologicamente, la risposta immunitaria è contenuta da precisi meccanismi di feedback: nel sistema innato, macrofagi e monociti producono citochine antinfiammatorie come IL-10 e TGF- β e le myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) si espandono e sopprimono l'attività delle cellule T e NK attraverso vari meccanismi; nel sistema adattativo, le cellule

T regolatrici (Tregs) sopprimono le cellule T effettrici tramite contatto e secrezione di IL-10 e TGF- β , mentre cellule regolatorie B (Bregs) contribuiscono con la produzione di IL-10. Tutti questi meccanismi mantengono l'omeostasi immunitaria e il loro fallimento conduce alla tempesta citochinica. Due meccanismi di perdita di controllo a feedback negativo sono la resistenza all'IL-10 e la Treg exhaustion, che si verificano quando il trigger infiammatorio iniziale persiste, mentre permangono i loop a feedback positivo. Il risultato è un ciclo autosostenuto e crescente che porta a diffuso danno tissutale e insufficienza d'organo (Fan et al., 2026).

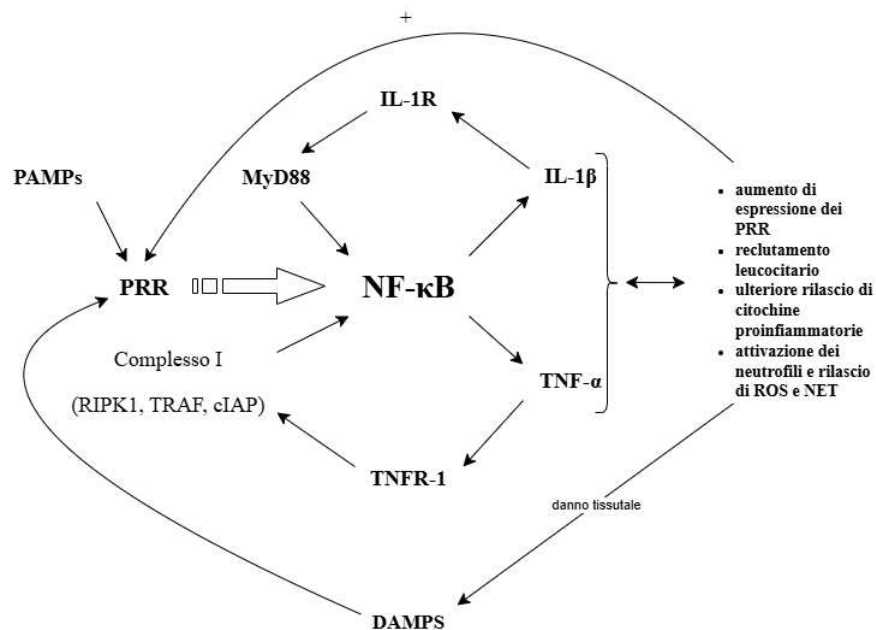


Figura 5. Esempio di loop a feedback positivo che permette alla tempesta citochinica di autosostenersi in assenza di regolazione.

1.3.3. Meccanismi di danno cellulare e mitocondriale

Lo stress ossidativo gioca un ruolo essenziale nella patogenesi e progressione della sepsi, prevalentemente attraverso la produzione eccessiva di radicali liberi dell'ossigeno (ROS) e compromissione dei meccanismi antiossidanti. A livello sistemico, lo stress ossidativo contribuisce alla disfunzione endoteliale e vascolare, promuovendo la permeabilità capillare, la disregolazione del microcircolo e la trombosi: questi effetti compromettono la distribuzione di ossigeno e nutrienti ai tessuti, provocando ipossia, acidosi metabolica e insufficienza d'organo (Lin et al., 2025).

A causare lo stress ossidativo sono i ROS prodotti dall'attivazione smodata delle cellule dell'immunità innata, che bypassa il fisiologico controllo nella loro produzione da parte della catena di trasporto degli elettroni e supera la capacità antiossidante cellulare (Nagar et al., 2018). Neutrofili e macrofagi rilasciano anione superossido (O_2^-), perossido di idrogeno (H_2O_2), e radicali idrossilici ($\bullet OH$) (Di Meo et al., 2016); inoltre, l'attivazione della sintasi inducibile dell'ossido nitrico (iNOS) da parte dello stimolo infiammatorio conduce alla produzione di un eccesso di monossido nitrico (NO) che interagisce con i ROS e forma perossinitrito ($ONOO^-$), una specie altamente reattiva dell'azoto in grado di causare la nitrificazione delle proteine e di inattivare enzimi mitocondriali. Il danno che ne consegue promuove la disfunzione cellulare e sopprime la respirazione mitocondriale, determinando **ipossia citopatica** (Lin et al., 2025). Nello specifico, si instaura una disfunzione mitocondriale, definibile come qualsiasi alterazione di una serie di processi a carico del mitocondrio, quali: la biosintesi di adenosina trifosfato (ATP) attraverso la fosforilazione ossidativa (OXPHOS) dell'adenosina difosfato (ADP) e la riduzione dell' O_2 , la generazione e detossificazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), l'omeostasi del calcio, l'apoptosi, la sintesi e il catabolismo di metaboliti e il trasporto di organelli cellulari.

La presenza di tale disfunzione rende la sepsi un modello di disaccoppiamento O_2 – ATP (*disossia*), in quanto rende le cellule incapaci di utilizzare l'ossigeno nella respirazione cellulare a prescindere dalla sua disponibilità, e si associa a sindrome di disfunzione multiorgano (Nedel et al., 2023).

Oltre all'ipossia citopatica, si instaura anche la perdita di controllo del microcircolo, per cui si ha uno **shunt artero-venoso** che porta le cellule a essere ipoperfuse in alcuni distretti corporei e perfuse maggiormente in altri. Alla base di tale fenomeno ci sono diversi meccanismi. La iNOS viene espressa in modo eterogeneo in diversi distretti corporei, così che a una sua carenza corrisponde un'ipoperfusione locale, venendo meno l'effetto vasodilatatore del NO; la concentrazione di quest'ultimo diminuisce ulteriormente per la reazione con i ROS a formare perossinitrito. Le cellule endoteliali perdono la loro funzione regolatoria per via dei cambiamenti nei pathway di trasduzione del segnale, perdita di comunicazione elettrofisiologica e perdita di controllo sulle cellule della muscolatura liscia – le quali, peraltro, perdono la loro responsività allo stimolo adrenergico (Miranda et al., 2016).

Il glicocalice endoteliale subisce degradazione, uno *shedding* a cui contribuiscono enzimi come la disintegrina e la metalloproteinasi 15 (ADAM15) (Yang et al., 2018): aumenta, quindi, l'espressione di molecole di adesione – cosa che promuove la trombosi – e le cellule endoteliali vengono esposte al danno ossidativo, con conseguente perdita dell'integrità delle giunzioni aderenti. Il risultato è un'aumentata permeabilità endoteliale che fa accumulare acqua nei tessuti, con formazione di edema, e fa distanziare i capillari funzionali rispetto alle cellule tissutali: segue ipossia da scarsa diffusione dell'ossigeno in funzione della distanza aumentata e della scarsa solubilità in acqua dello stesso (Miranda et al., 2016).

I globuli rossi perdono la capacità di rilasciare vasodilatatori in presenza di ipossia (tra cui composti S-nitrosilati derivati dal NO e ATP vasoattivo) e diventano meno deformabili, così che tendono ad aggregarsi fra loro e alle cellule endoteliali, compromettendo il flusso sanguigno (Miranda et al., 2016).

Endotelio, piastrine, monociti e neutrofili partecipano insieme a determinare la trombosi del microcircolo, in un processo denominato *immunotrombosi*. Sebbene sia un processo che inibisce la disseminazione e la sopravvivenza del patogeno, causa disfunzione endoteliale e complicanze microtrombotiche che conducono a disfunzione multiorgano (Maneta et al., 2023). Numerosi sono i meccanismi teorizzati alla base dell'immunotrombosi:

- il fenotipo endoteliale subisce un cambiamento in senso proadesivo e protrombotico, non solo per la degradazione del glicocalice, ma anche per l'attivazione diretta da parte di citochine infiammatorie, PAMPs e DAMPs attraverso i PRR endoteliali e il reclutamento di fattori di trascrizione quali NF- κ B, AP-1, IRF-3, STAT3, che determinano aumentata espressione di fattori protrombotici, (PAI-1 e TF) e riduzione di fattori fibrinolitici e anticoagulanti (TM, APC ed EPCR). È inoltre indotto il rilascio dei Corpi di Weibel-Palade (WPBs) con secrezione di proteine procoagulanti come vWF, selectina-P e fattore VIII della coagulazione (Maneta et al., 2023);
- l'abnorme attivazione piastrinica, che ne determina il consumo periferico fino alla trombocitopenia e concorre all'immunotrombosi, è mediata dal corredo proteico piastrinico. Esso include: recettori a bassa affinità per la frazione costante (Fc) dell'immunoglobulina (Ig) G (Fc γ RIIa), che legano immunoglobuline o pentasaccaridi di cui si ricoprono i patogeni; PRR come TLR-2 e TLR-4 e la maggior parte

delle proteine di segnalazione di NF- κ B, aventi effetti non-genomici che culminano nella degranulazione del contenuto piastrinico; l'insieme di molecole procoagulanti contenute nei granuli α (e.g. P-selectina, PF4, vWF) e densi (e.g. ADP/ATP) (Maneta et al., 2023);

- l'attivazione disregolata di monociti e neutrofili conduce al rilascio diretto di fattori procoagulanti, al danno diretto e indiretto a strutture endoteliali e al rilascio di trappole extracellulari neutrofiliche, aventi un effetto procoagulante oltre che citotossico (Maneta et al., 2023).

Ipossia tissutale, accumulo di metaboliti e disfunzione mitocondriale delle cellule parenchimatose avviano una cascata di meccanismi patogenetici che conducono all'insufficienza d'organo e alla morte (Miranda et al., 2016).

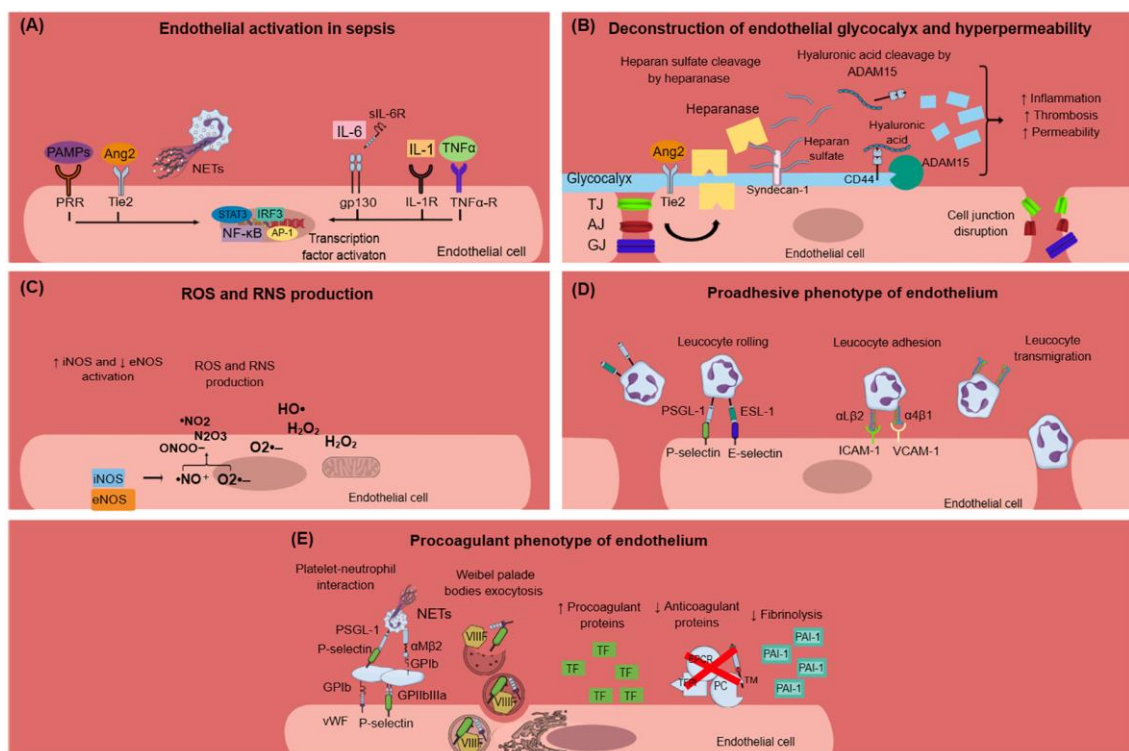


Figura 6 Copyright ©2023 Maneta, Aivalioti, Tual-Chalot, Emini Veseli, Gatsiou, Stamatelopoulos, Stellos. "Endothelial dysfunction in sepsis."

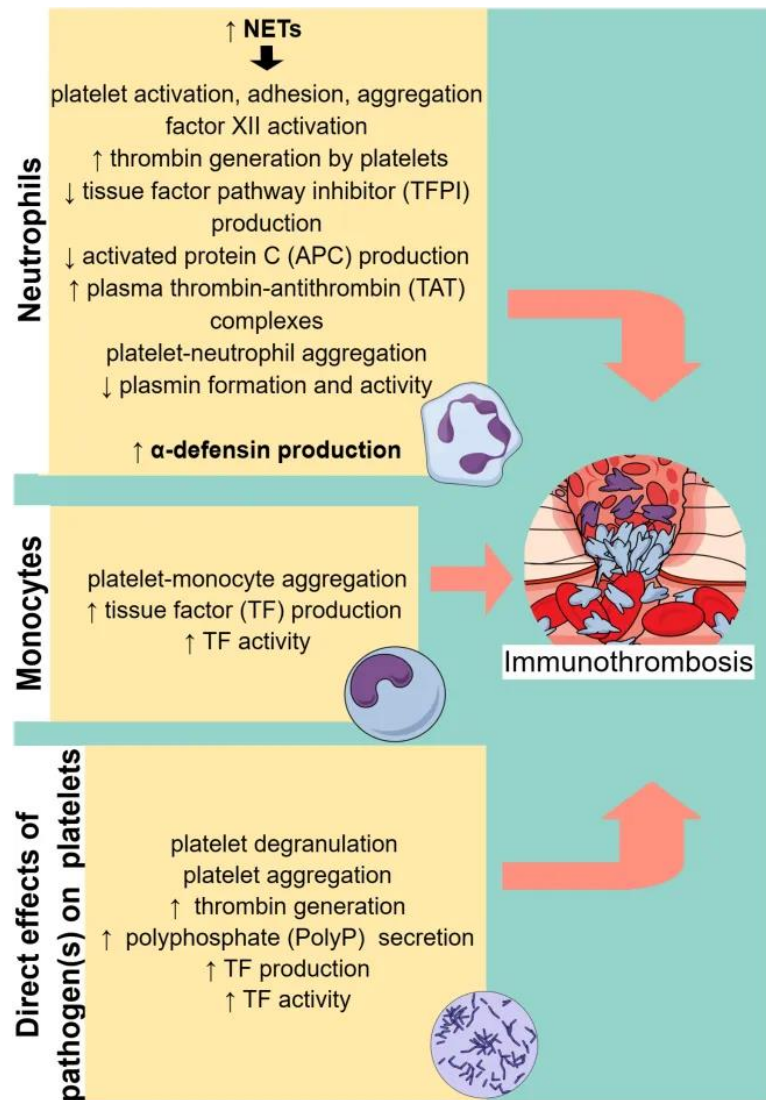


Figura 7. Copyright ©2023 Maneta, Aivalioti, Tual-Chalot, Emini Veseli, Gatsiou, Stamatelopoulos, Stellos.
 “Cell-specific immunothrombosis mechanisms.”

1.3.4. Conseguenze sistemiche della sepsi - MODS

La **sindrome da disfunzione multiorgano** (*Multiple organ dysfunction syndrome*, MODS) fu definita nel 1991 dalla Consensus Conference dell’American College of Chest Physicians (CHEST) e dalla Society of Critical Care Medicine (SCCM) come “la

presenza di alterata funzione d'organo in pazienti malati in acuto, così che l'omeostasi non può essere mantenuta senza intervento terapeutico" (de Montmollin and Annane, 2011).

L'insufficienza acuta sepsi-indotta di due o più apparati/sistemi è fortemente associata alla mortalità dei pazienti settici (Gourd and Nikitas, 2020). La disfunzione d'organo varia da danno lieve a totale fallimento d'organo ed è riparabile finché non promuove cambiamenti necrotici o gangrenosi. Tra gli organi coinvolti ci sono fegato, cuore, polmoni, reni (Srdic et al., 2024) e sistema nervoso centrale (SNC) (Li et al., 2025).

Il danno epatico è mediato dall'infiammazione e dalla disfunzione endoteliale: si traduce in attivazione locale e reclutamento di cellule immunitarie, produzione di proteine di fase acuta, danno epatico e rilascio in circolo di mediatori infiammatori, con amplificazione dell'infiammazione; giocano un ruolo anche microtrombosi, ostruzione dei sinusoidi e ridotta perfusione d'organo, con conseguente ipossia. Un'espressione di danno epatico, seppur con eziologia incerta, è la colestasi (Srdic et al., 2024).

Si ha coinvolgimento cardiaco con disfunzione contrattile, dilatazione biventricolare, ridotta frazione d'eiezione e ridotta pressione sanguigna che non risponde alla rianimazione fluidica e alla somministrazione di catecolamine. Alla base, ci sono la disfunzione mitocondriale che impatta la contrattilità, l'infiammazione e i suoi effetti sulla coagulazione in senso protrombotico, l'alterazione della risposta adrenergica da parte di citochine e NO, il danno diretto al miocardio da patogeni, tossine e DAMP e, sebbene il miocardio subisca una sorta di "ibernazione" come risposta adattativa ai bassi livelli di ATP con possibilità di recupero di funzione, nei pazienti sopravvissuti aumenta comunque il rischio cardiovascolare a lungo termine (Srdic et al., 2024).

I polmoni sono il bersaglio più precoce e vulnerabile nella disfunzione multiorgano causata da sepsi: nel 25-50% dei pazienti si sviluppa Sepsis-induced Acute Lung Injury (S-ALI) con un tasso di mortalità del 40% e possibilità di evoluzione nella temibile sindrome da distress respiratorio (ARDS). La manifestazione clinica include distress respiratorio con ipossiemia resistente a terapia, tosse, febbre e tachicardia. Dal punto di vista fisiopatologico si ha una riduzione della funzione di scambio dei gas per una serie di processi causati da produzione abnorme di citochine infiammatorie, reclutamento delle cellule immunitarie con aumento della permeabilità vascolare, danno da stress ossidativo – a cui contribuisce l'ossigeno disponibile nei polmoni – e perdita e disfunzione degli pneumociti: si riduce la tensione superficiale alveolare, si perde la funzione di barriera epiteliale ed endoteliale con raccolta di essudato negli alveoli e formazione di edema polmonare e, infine, si accumulano neutrofili nei capillari con conseguenti ostruzione capillare e arteriolare e aumento di spazio morto fisiologico (Srdic et al., 2024).

Più del 50% dei pazienti con sepsi in stato critico sviluppa Acute Kidney Injury (AKI) con aumento della mortalità del 62%. Si tratta di un declino acuto della funzione renale, con riduzione del tasso di filtrazione glomerulare, aumento della creatinina sierica e ridotta diuresi. La base fisiopatologica non è del tutto compresa e sono stati presi in considerazione: la terapia per la sepsi, l'infiammazione e l'alterazione del flusso ematico a livello peritubulare e glomerulare, la riduzione della perfusione renale con conseguenti ischemia, stress ossidativo e danno tubulare acuto, la ridotta espressione di trasportatori tubulari e l'aumento locale dell'espressione di proteine presentanti l'antigene (Srdic et al., 2024).

L'encefalopatia associata alla sepsi (SAE) è definita come una sindrome di disfunzione cerebrale secondaria alla sepsi, ma in assenza di infezione del SNC, anomalia strutturale,

o altri tipi di encefalopatia. Esiste un'elevata correlazione tra la durata e la severità della SAE e i giorni di permanenza in terapia intensiva, i costi medici e la mortalità della sepsi. Meccanismi proposti per spiegare la patologia e non ancora del tutto chiariti annoverano la perdita di integrità della barriera ematoencefalica (BBB), induzione di rilascio di fattori infiammatori da parte di astrociti e microglia, stress ossidativo, alterazione neurotrasmettitoriale e cambiamenti a livello sinaptico. In ogni caso, il coinvolgimento del SNC nella SAE esita in uno spettro di alterazioni della funzione cerebrale, dal delirium lieve fino al coma, con una persistenza della compromissione cognitiva e di patologie psicologiche nella maggior parte degli individui sopravvissuti a sepsi (Li et al., 2025).

1.3.5. L'immunoparalisi

Nella sepsi, l'iperinfiammazione precoce coesiste e si sovrappone a una progressiva immunosoppressione, processo descrivibile come *disregolazione immunodinamica*, in cui una serie di meccanismi, contro-regolatori rispetto alla tempesta citochinica e all'iperinfiammazione, determinano una riprogrammazione dinamica del sistema immunitario. Essi includono: la **riduzione della competenza immunitaria adattativa** da espansione delle cellule T regolatorie (Treg), espressione persistente di recettori inibitori come *programmed cell death protein 1* (PD-1) e *cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4* (CTLA-4) ed estesa apoptosi linfocitaria delle cellule di linea B e T; la **disfunzione delle cellule presentanti l'antigene (APC)**, causata dalla riduzione dell'espressione, su monociti e cellule dendritiche, di HLA-DR e delle molecole co-stimolatorie CD40, CD80 e CD86; la **compromissione della fagocitosi e l'immunotolleranza** sostenuta da un'elevata espressione di PD-L1 sui neutrofili a bassa densità (LDNs). Il modello murino di puntura e legatura del cieco presenta alterazioni quali l'apoptosi linfocitaria e la down-regolazione di HLA-DR che riflettono quelle osservate con costanza nei pazienti settici;

analogamente i modelli di tolleranza al LPS riproducono la compromissione della produzione di TNF- α e la disfunzione monocitaria convalidata in coorti umane. Evidenze sempre più consistenti mostrano che si instaura una sindrome immunometabolica duratura, che si estende temporalmente ben oltre il ricovero clinico (Saavedra-Torres et al., 2025).

All'immunosoppressione da sepsi si riconosce un ruolo maggioritario nel contribuire alla mortalità poiché facilita l'insorgenza di gravi infezioni secondarie. Elementi come una persistente linfopenia, elevati livelli di IL-10 (citochina antinfiammatoria) o scarsa espressione fenotipica nei neutrofili di CD10 e CD16 (che identifica i neutrofili immaturi) sono tutti stati associati a una maggiore mortalità precoce (Gao et al., 2025).

1.4. Biomarcatori di routine e innovativi nella sepsi

I biomarcatori, definiti univocamente per la prima volta dal Biomarkers Definitions Working Group nel marzo 2001 (Biomarkers Definitions Working, 2001), sono caratteristiche biologiche oggettivamente misurabili, sviluppabili in esami e test diagnostici, utilizzate per migliorare l'accuratezza diagnostica, determinare la prognosi, constatare la presenza o il progresso di malattia e predire la probabilità di risposta ai trattamenti. Un biomarcatore ideale deve avere plausibilità biologica, fornire informazioni cliniche significative e presentare elevate sensibilità e specificità: in termini teorici, rileverebbe tutti i casi in cui l'analita è presente e non ne rilevarebbe alcuno quando è assente (Paver and Morey, 2024).

Al fine di supportare la diagnosi di sepsi e/o prognosticare l'esito in un paziente che ne è affetto, di routine si ricorre al dosaggio dei seguenti biomarcatori:

- leucociti
- PCR

- PCT
- lattato

Meritano attenzione anche biomarcatori di sepsi innovativi, potenzialmente dotati di maggiore accuratezza diagnostica e/o capacità predittiva, in fase di studio e/o in valutazione per essere integrati nella pratica clinica:

- citochine IL-6, IL-10, TNF- α
- chemochine quali CXCL9 e CXCL10
- marker endoteliali: angiopoietina-2, sindecano 1
- marker metabolici – presepsina, MR-proADM
- marker di danno d'organo – NT-proBNP, GDF-15, NFL
- microRNA (miRNA)

1.4.1. Biomarcatori di routine nella sepsi

Leucociti

La centralità dei leucociti nella fisiopatologia della sepsi, le evidenze che abbiamo ormai a riguardo e il superamento della definizione secondo criteri SIRS hanno imposto, ai fini diagnostici e prognostici, un utilizzo più consapevole e integrato dei biomarcatori tradizionali.

Un valore di conta leucocitaria (*white blood cell count*, **WBC**) $>12000/\text{mm}^3$ o $<4000/\text{mm}^3$, prima considerato sufficiente come criterio di SIRS e quindi di sepsi per come era intesa in passato, a oggi è da intendersi, al più, come un indizio aspecifico di sepsi o di andamento della risposta immunitaria verso l'iperinfiammazione o l'immuno-paralisi; nonostante il basso costo, la facilità con cui si può dosare e l'ampio uso, è un

parametro dotato di insufficienti sensibilità, specificità e accuratezza diagnostica, nonché da contestualizzare rispetto alla clinica, ad altri biomarcatori e alle numerose condizioni in grado di alterarlo (Farkas, 2020; Marik, 2014). In uno studio di Todd A Seigel et al., per esempio, si è osservata, tra le altre cose, una conta leucocitaria normale nel 52% di 289 pazienti con emocoltura positiva (Seigel et al., 2012).

È risultata più utile, invece, la caratterizzazione più al dettaglio della popolazione leucocitaria e dei rapporti tra globuli bianchi. Nella pratica clinica, uno dei parametri che si possono utilizzare è il rapporto neutrofili/linfociti (**NLR**): il valore normale è compreso tra 1 e 3 e subisce un aumento significativo in corso di sepsi, superiore rispetto ad altre forme di stress fisiologico; un valore >10 è stato proposto come cut-off per indicare un generico stato di grave stress sistemico, con sensibilità e specificità per la sepsi rispettivamente di circa l'80% e il 65%. Ha dimostrato una superiorità al WBC nonché una simile o migliore performance rispetto alla proteina C reattiva (PCR o, nell'acronimo anglosassone, CRP) (Farkas, 2020).

Proteina C reattiva

La proteina C reattiva (PCR), pentrassina sintetizzata dal fegato classicamente utilizzata come analita sierologico per condizioni infiammatorie acute in virtù delle sue cinetiche rapide e ridotta emivita, è stata oggetto di studio come biomarcatore diagnostico e prognostico della sepsi in uno studio metanalitico di Antonio Silvinato et al. del 2025. Ha esibito:

- probabilità pre-test diagnostica di 54.5%, con sensibilità e specificità rispettivamente di circa 83% (IC: 95%; 75-89%) e 56% (IC: 95%; 41-69%) e tasso di falsi positivi di circa il 44.3%;

- probabilità pre-test prognostica di mortalità del 36.9%, con sensibilità e specificità rispettivamente di circa 81% (IC: 95%; 70-89%) e 77% (IC: 95%; 64-86%) e tasso di falsi positivi di circa il 22.8%.

Nonostante i vantaggi legati all'esame di laboratorio per dosare la PCR plasmatica, tra cui il basso costo, l'accessibilità e la scarsa variabilità rispetto a fattori come alimentazione o ritmo circadiano/stagionale, essa va considerata come un biomarcatore puramente di screening che, da linee guida, non andrebbe dosato più di una volta ogni 24 h (con l'eccezione della popolazione neonatale). L'errore diagnostico stimato lo rende inadatto alla diagnosi e obbliga alla cautela nell'utilizzarlo per predire l'outcome (Silvinato et al., 2025).

Procalcitonina

La procalcitonina (PCT), precursore dell'ormone calcitonina e utilizzata come marker di infezioni batteriche, è un biomarcatore in uso nella sepsi ed è stato indagato per la sua utilità diagnostica in una metanalisi e review sistematica di Ghatak et al. del 2025. Inclu-
dendo 11 studi per un totale di 7937 pazienti, sono risultati: una sensibilità aggregata di 0.62 (95% IC, 0.60-0.64) e una specificità aggregata di 0.80 (95% IC, 0.79-0.81), entrambi basati su di un basso livello di evidenza; un rapporto di verosimiglianza negativo di 0.42 (95% CI, 0.32-0.55); un rischio relativo diagnostico di 6.83 (95% CI, 4.87-9.58). L'area sotto la curva ROC per la procalcitonina era di 0.77 (95% CI, 0.7281-0.8309). Gli autori hanno concluso che la procalcitonina è, pertanto, dotata di ragionevole specificità ma scarsa sensibilità per la diagnosi di sepsi in pazienti con infezione sospetta in reparto di emergenze; inoltre, visto il basso livello di evidenze su cui sono basati i risultati, hanno indicato la necessità di ulteriori dati di alta qualità (Ghatak et al., 2025).

Lattato

Il lattato ematico è un biomarcatore consolidato nella diagnosi e prognosi della sepsi. Trattandosi di un indicatore chiave di ipoperfusione tissutale, elevati livelli di lattato possono indipendentemente predire il rischio di morte (Casserly et al., 2015). Da una meta-analisi di Lu et al. del 2025, emerge che il lattato ha mostrato, in 14 studi, un moderato valore prognostico nei confronti della mortalità nella sepsi, con una sensibilità di 0.68 (95% CI: 0.58–0.76), una specificità di 0.69 (95% CI: 0.62–0.75) e un'area sotto la curva ROC di 0.740 (0.700–0.777). Mentre l'uso del lattato da solo e come dato statico risulta poco utile, il tasso di clearance dinamico del lattato ha mostrato la propria efficacia come indicatore prognostico affidabile, con un aumento significativo del rischio di mortalità (RR aggiustato 4.2, 95% IC: 2.7–6.5) in caso di ritardo nella clearance (<10%/ora). L'integrazione di più biomarcatori rimane sempre la scelta più promettente (Lu et al., 2025).

1.4.2. Biomarcatori innovativi nella sepsi

Citochine

L'IL-6 è stata studiata come biomarcatore sia statico sia dinamico e il suo valore prognostico nel predire la mortalità o l'outcome nei pazienti con sepsi è stato analizzato in una meta-analisi e review sistematica di Varga et al. nel 2025, i quali hanno posto l'accento su quanto sia complesso l'uso dell'interleuchina come biomarcatore. Sono emersi diversi limiti degli studi, compresi alcuni legati alla fisiologia di IL-6: essendo coinvolta nel profilo di citochine infiammatorie associate all'*inflammaging*, presenta valori più elevati negli anziani. Inoltre, esistono corredi genetici in cui, per esempio, polimorfismi a singolo nucleotide in geni come IL-10 possono cambiare l'attività di IL-6. In ogni caso, valutare la cinetica del parametro, misurandolo a tempo zero e a distanza di 96 h, aggiunge valore

prognostico rispetto all'uso del valore singolo. IL-6 presenta un valore prognostico indipendente limitato con un'area sotto la curva ROC “da moderata a buona”, ma rimane potenzialmente utile per stratificare il rischio nei pazienti, a maggior ragione se integrato insieme ad altri biomarcatori (Varga et al., 2025).

IL-10 si è dimostrato essere un biomarcatore di sepsi e shock settico promettente. In uno studio prospettico di Davoulos et al. del 2025, in 106 pazienti settici, alla loro ammissione, sono stati misurati livelli di IL-10 maggiori nei non sopravvissuti (124 pg/mL vs. 41 pg/mL). Aggiungendo IL-10 agli score qSOFA e SOFA – con cut-off di 74.5 pg/mL per IL-10 – l'accuratezza diagnostica è aumentata significativamente. Più nello specifico, nello studio si è concluso che i livelli di IL-10 hanno un impatto significativo nel predire la mortalità intraospedaliera precoce (entro 72 h). **IL-33R**, compreso nello studio, ha mostrato di avere un impatto significativo sulla prognosi della mortalità intraospedaliera sia precoce, sia totale, con un aumento dell'accuratezza diagnostica analogo a IL-10 se combinato con gli score SOFA e qSOFA (Davoulos et al., 2025).

In una review di Li et al. di marzo 2026, in coorti di pazienti settici con un'infezione ematica, IL-10 ha dimostrato miglior performance diagnostica della PCR e di IL-6 per la discriminazione tra sepsi e batteriemia (area sotto la curva ROC intorno a 0.86, sensibilità e specificità >0.75), soprattutto in combinazione con la procalcitonina (Li et al., 2026a).

TNF- α è una delle citochine più rapidamente rilasciate nella sepsi ma anche, più in generale, dopo un trauma, un'infezione o l'esposizione a un'endotossina come il lipopolisaccaride, con un picco a 1.5-2 ore da un'iniezione di LPS (Scicluna et al., 2013). Nonostante il ruolo biologico centrale del TNF- α nella fisiopatologia della sepsi, la breve emivita dello stesso ne complica la misurazione, per cui, anche se livelli alti della citochina

correlano con una maggiore severità e mortalità della sepsi, vista anche la sovrapposizione tra livelli nei gruppi di outcome, solitamente non si riescono a stabilire un valore soglia o un'area sotto la curva ROC. Pertanto, il TNF- α ha una scarsa performance come biomarcatore e, al più, può essere visto come uno strumento aggiuntivo di stratificazione del rischio e classificazione dell'endotipo infiammatorio, da usarsi nel contesto di un panel multiparametrico (Li et al., 2026a). Nel già citato studio di Davoulos et al., per esempio, i valori di TNF- α , oltre che di IL-6, non sono cambiati in maniera statisticamente significativa – non hanno permesso di predire né la mortalità intraospedaliera totale, né quella precoce (Davoulos et al., 2025). Si è dimostrato, inoltre, che non c'è una differenza significativa dei livelli sierici di TNF- α in soggetti con sepsi rispetto a pazienti affetti dall'artrite reumatoide (Scherger et al., 2025) e, in generale, se ne possono osservare alti livelli in varie patologie autoimmuni, nelle quali trova impiego il ricorso a farmaci anti-TNF- α (Lopetuso et al., 2023).

Chemochine

CXCL9 è una chemochina indotta dall'interferone gamma, prodotta da macrofagi e altri tipi cellulari, coinvolta nel richiamo di cellule immunitarie CXCR3-positive. Di recente si è presa in considerazione la possibilità che un asse IFN- γ -dipendente caratterizzi uno specifico endotipo di sepsi e, in uno studio di coorte di Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis et al. del 2024, si è provato a fare una caratterizzazione di tale endotipo di sepsi dosando proprio, tra gli altri biomarcatori, CXCL9: si è così definita per la prima volta la *IFN- γ driven sepsis (IDS)* come una combinazione di

- a) IFN- γ plasmatico al di sopra uno specifico cut-off associato al minimo rischio per immunoparalisi, definito come ≥ 8000 recettori HLA-DR sui monociti CD45/CD14;
- b) Aumento di CXCL9 (Giamarellos-Bourboulis et al., 2024).

CXCL10 è una chemochina che viene prodotta durante l'infezione e l'infiammazione e funge da importante regolatore dell'attivazione e migrazione dei linfociti. Daniela S Herzig et al. hanno condotto uno studio sul contributo di CXCL10 alla patogenesi dello shock settico sperimentale nel modello murino. Si è indotto lo shock settico tramite legatura e puntura del cieco (CLP) in topi resuscitati con soluzione di Ringer lattato e, in alcuni casi, con l'antibiotico ad ampio spettro Primaxin. Si è osservato un aumento significativo della sopravvivenza in topi knock-out per CXCL10 e nei topi trattati con IgG anti-CXCL10 rispetto al controllo, nonché ipotermia attenuata e concentrazioni plasmatiche inferiori di IL-6 e proteina inibitrice dei macrofagi (MIP-2). Solo nei topi KO per CXCL10, si è notata ridotta attivazione delle cellule natural killer (NK) e ridotto carico batterico nel sangue e nei polmoni. Infine, è stato dimostrato un miglioramento della sopravvivenza con l'aggiunta di IgG anti-CXCL10 ai fluidi e alla Primaxin a 2 e 6 ore dalla CLP rispetto ai topi trattati, nelle medesime condizioni, con IgG non specifiche (Herzig et al., 2014).

Marker endoteliali

L'**angiopoietina-2 (Ang-2)** è un fattore di crescita secreto dalle cellule endoteliali in risposta a stimolo nocivo o infiammatorio e che si associa ad aumentata permeabilità vascolare. In una metanalisi di Mengke Zhuo et al. del 2024 è stata studiata come biomarcatore prognostico di mortalità in pazienti adulti affetti da sepsi. Sulla base di 15 studi, basandocisi sui criteri Sepsis 3 e confrontando pazienti sopravvissuti e non, si è osservata

una differenza media standardizzata (SMD) pari a 0.63 (IC 95%, 0.11-1.14, $P = 0.017$). Sulla base di ulteriori confronti tra studi si è concluso che Ang-2 è in grado di predire la mortalità in pazienti adulti settici, potenzialmente facilitando un'identificazione precoce, sebbene si sia evidenziata la necessità di ulteriori studi per stabilire un cut-off (Zhuo et al., 2024).

Il **sindecano-1 (SDC-1)** e l'**endocano**, proteoglicani del glicocalice endoteliale, sono stati considerati come biomarcatori nella sepsi visto e considerato il meccanismo fisiopatologico di degradazione del glicocalice che si attua in corso di patologia. In una metanalisi e review sistematica di Kamila R Daniyarova et al. del 2025, si è osservata un'associazione significativa tra elevazione del sindecano-1 plasmatico e incremento della mortalità (nove studi, $n = 2167$; OR 2.04, IC 95%, 1.66–2.51; $p < 0.05$; $P = 84\%$). Analogamente, un valore elevato di endocano è stato utile nel predire la mortalità (sei studi, $n = 435$; RR 5.06, 95% IC, 2.52–10.18; $p < 0.05$). Livelli di sindecano-1 non sono stati associati in modo significativo a sindrome da disfunzione multiorgano (RR 2.35, 95% IC, 0.93–5.94; $P = 94\%$) o insufficienza respiratoria (RR 1.05, 95% IC, 0.27–4.02; $P = 91\%$). Si è stabilito che sia il sindecano-1, sia l'endocano, possono essere usati come biomarcatori prognostici per la mortalità nella sepsi, con l'endocano avente una maggiore consistenza tra i vari studi (Daniyarova et al., 2025).

Marker metabolici

La **presepsina** è un frammento solubile del recettore CD14 (**sCD14-ST**): la catepsina D la cliva da CD14 quando esso lega TLR4 e un PAMP di superficie come LPS. Il livello di presepsina nel plasma si eleva a seguito di infezioni batteriche e se ne ha un decremento dopo il trattamento antibiotico, pertanto può essere considerato un marker precoce di

risposta immunitaria contro microrganismi patogeni, anticipando la proteina C reattiva o la procalcitonina. Una metanalisi sull'efficacia diagnostica della presepsina svolta nel 2025 da Kaicheng Peng et al. ha incluso 47 studi per un totale di 7087 partecipanti totali e concluso che si tratta di un biomarcatore di sepsi molto promettente: ha dimostrato di avere una sensibilità di 0.84 (95% IC: 0.81–0.88), specificità di 0.86 (95% CI: 0.80–0.90), DOR (rischio relativo diagnostico) di 32.23 (95% IC: 20.11–51.66), e un'area sotto la curva ROC (AUC) di 0.91 (95% IC: 0.88–0.93). Avendo la metanalisi incluso anche la popolazione pediatrica, sebbene rappresentata in solamente cinque studi, si è potuta fare una distinzione in accuratezza diagnostica: AUC di 0.88 nei bambini e AUC di 0.87 negli adulti. Nella sepsi neonatale, la prestazione è ancora più elevata: una sensibilità di circa 0.90, specificità di 0.90 e un'AUC di 0.97 (Peng et al., 2025).

Il frammento stabile dell'adrenomedullina (“Mid-regional pro-adrenomedullin”, **MR-proADM**) è un peptide che aumenta per vasodilatazione sistemica, disfunzione microvascolare e permeabilità endoteliale. In una metanalisi sul MR-proADM come biomarcatore di sepsi di Peijuan LI et al. del 2021, sono state dimostrate una sensibilità di 0.83 (95% IC: 0.79-0.87) e specificità di 0.90 (95% IC: 0.83-0.94), rischio relativo di 41.35 e AUC di 0.91. Il miglior cut-off proposto per la diagnosi di sepsi è di 1-1.5 nmol/L (Li et al., 2021).

Presepsina e MR-proADM sono state messe a confronto come biomarcatori diagnostici di sepsi e shock settico in una metanalisi comparativa di Jun Liang et al. del 2023: nei risultati dello studio, si è concluso che i due biomarcatori posseggono entrambi elevata accuratezza diagnostica ($AUC \geq 0.90$), con la MR-proADM che però ha una specificità significativamente più alta (0.86 contro i 0.79 della presepsina) (Liang et al., 2023).

Marker di danno d'organo

Il **frammento aminoterminale del peptide natriuretico cerebrale (NT-proBNP)** è un peptide di 76 aminoacidi che costituisce, unito al peptide natriuretico cerebrale (o *peptide natriuretico di tipo B*, **BNP**), il proormone di quest'ultimo (**proBNP**), immagazzinato prevalentemente nei miociti dei ventricoli cardiaci. Al momento del rilascio del BNP, questo viene scisso dall'NT-proBNP, ed entrambi vengono secreti in quantità equimolari. Lo stress meccanico sulle pareti cardiache, inteso come stiramento dei miociti, costituisce il principale stimolo alla secrezione del BNP, che nel circolo sanguigno esercita vari effetti, tra i quali: inibitorio della secrezione di renina e di aldosterone, vasodilatatorio periferico, natriuretico e diuretico con riduzione del ritorno venoso al cuore, inibitorio dell'ipertrofia cardiaca, facilitante il rilascio di acidi grassi liberi dal tessuto adiposo e alterante i pathway metabolici degli adipociti. NT-proBNP, invece, è biologicamente inattivo e a lunga emivita – viene pertanto già utilizzato come biomarcatore diagnostico per lo scompenso cardiaco, con necessità di interpretare i valori in base al setting clinico, acuto o cronico, e all'età.

L'uso dell'NT-proBNP e/o del BNP come biomarcatori nella sepsi è invece controverso: in una metanalisi di Jian-li Song et al. del 2024 si pone in evidenza, oltre all'elevato grado di eterogeneità degli studi presi in considerazione, l'esclusione nella maggior parte di essi nei pazienti di preesistenti patologie cardiache, la suscettibilità dell'NT-proBNP a variare nel contesto della terapia intensiva – aumenta in caso di insufficienza renale, disfunzione ventricolare e somministrazione di catecolamine; diminuisce dopo somministrazione di agenti inotropi positivi (levosimendan, dobutamina), inserimento di pompa a palloncino intra-aortica (IABP) e terapia sostitutiva renale continua (CRRT) – e la difficoltosa necessità di aggiustare il parametro rispetto alla funzione renale tenendo conto di risultati

contraddittori in merito alla relazione tra creatinina sierica e BNP. Nonostante tutto, si è confermata una correlazione positiva tra elevati livelli di BNP e NT-proBNP e mortalità e sono stati indicati, come valori di riferimento più appropriati possibili, cut-off rispettivamente di 400-800 per il BNP e <3000 pg/mL per il NT-proBNP (Song et al., 2024).

In una review sistematica del 2025 di Ertugrul Yigit et al. si è indagato sul **Growth Differentiation factor-15 (GDF-15)**, una citochina indotta da stress, come potenziale biomarcatore nella urosepsi. Gli autori hanno incluso nello studio 13 pazienti diagnosticati con urosepsi (SOFA score ≥ 2 e urinocoltura positiva, in accordo con i criteri Sepsis-3), escludendo coloro con neoplasie maligne in atto, trattamenti immunosoppressivi o chemioterapici, con una storia di patologie autoimmuni e patologia epatica avanzata; hanno concluso che GDF-15 è sensibile rispetto alla fase risolutiva dell'inflammazione e della disfunzione d'organo. Hanno dosato la citochina ricorrendo a metodo ELISA su campioni di sangue prelevati quotidianamente per 10 giorni: i valori di GDF-15 hanno iniziato a diminuire dal giorno 3 e hanno subito un declino significativo – raggiungendo significatività statistica – dal giorno 7 rispetto al giorno 1 ($p < 0.001$) (Yigit et al., 2025).

Il 16 marzo 2026 Wenzhe Li et al. hanno pubblicato uno studio volto a caratterizzare sia i livelli sierici di GDF-15 durante la sepsi, sia i pattern cellula-specifici di espressione della citochina da parte delle cellule immunitarie. Si è confrontato un gruppo di pazienti adulti con sepsi ($n = 19$) con uno di adulti sani ($n = 23$):

- le concentrazioni di GDF-15 sono risultate nettamente superiori in pazienti con sepsi rispetto al gruppo di controllo (mediana di 1390 vs. 1050 pg/mL);
- livelli più alti di GDF-15 sono stati consistentemente associati a una maggiore severità di patologia;

- l'analisi del trascrittoma specifico per singola cellula ha dimostrato un aumento di espressione della citochina nelle cellule immunitarie, con un maggior arricchimento relativo soprattutto nelle plasmacellule e nei monociti
- per quanto riguarda i pattern discriminatori di predizione della mortalità a 28 giorni, si è notato un andamento del valore di GDF-15 simile a quelli stabiliti dagli score di severità e dai biomarcatori convenzionali di infiammazione (Li et al., 2026b).

Tra i biomarcatori di encefalopatia associata alla sepsi (SAE), la **catena leggera del neurofilamento (NFL)** è tra i più recenti indagati. In uno studio pilota osservazionale del 2019, Johannes Ehler et al. hanno dosato per la prima volta i valori plasmatici e del fluido cerebrospinale di NFL nonché della catena pesante del neurofilamento (NFH), per valutarne il ruolo di biomarcatori di danno neuroassonale e di SAE. Sono stati inclusi, nello studio, 20 pazienti con shock settico e cinque pazienti senza sepsi come gruppo di controllo. La SAE è stata indagata tramite esame neuropsichiatrico, EEG, MRI e metodi di screening del delirium come la checklist di screening del delirium di unità intensiva (ICDSC). Si è osservato un incremento nel tempo di NFL nel plasma dei pazienti con sepsi ($p = 0.0063$) rispetto al gruppo di controllo e valori significativamente più alti in pazienti con SAE ($p = 0.011$), significativamente correlati con la severità della SAE valutata mediante ICDSC ($R = 0.534$, $p = 0.022$) e con un outcome funzionale peggiore dopo 100 giorni ($R = -0.535$, $p = 0.0003$). Alti livelli di NFL sono stati misurati anche nel liquido cerebrospinale di pazienti con SAE, con valori più alti nei non sopravvissuti ($p = 0.012$) e una correlazione con la mortalità ($R = -0.932$, $p < 0.0001$) e l'outcome funzionale dopo 100 giorni ($R = -0.749$, $p < 0.0001$) (Ehler et al., 2019).

Un ulteriore studio osservazionale di Günseli Orhun et al. del 2023 ha ribadito il potenziale ruolo di NFL, oltre che dei recettori innescanti solubili espressi su cellule mieloidi 2 (sTREM2), come biomarcatore della SAE (Orhun et al., 2023).

miRNA

I microRNA (miRNA) sono una classe di piccole molecole di RNA non codificante, di cui si è riconosciuta l'importanza nella regolazione dell'espressione genica e della risposta immunitaria nella sepsi. 55 studi sui miRNA come predittori di mortalità nella sepsi sono stati analizzati da parte di Yuxi Jin et al. in una metanalisi del 2025. La rilevazione dei miRNA presi in esame, considerandoli tutti insieme, ha dimostrato una sensibilità di 0.76 (95% intervallo di confidenza [IC]: 0.74–0.77), una specificità di 0.72 (95% IC: 0.71–0.73), e un valore della curva SROC di 0.83. Il biomarcatore più promettente, dotato della maggiore accuratezza diagnostica, si è dimostrato miR-133a-3p, con una sensibilità di 0.83 (95% CI: 0.70–0.92), specificità di 0.79 (95% CI: 0.71–0.86), e un valore della curva SROC di 0.90. Altri valori di curva SROC, compresi tra 0.84 e 0.76, sono stati dimostrati per i biomarker miR-146a, miR-21, miR-210, miR-223-3p, miR-155, miR-25, miR-122, miR-125a, miR-125b, e miR-150 (Jin et al., 2025).

1.5. Razionale dello studio

Determinare la prognosi della sepsi rimane una sfida complessa, anche in contesti clinici moderni (Zhang et al., 2024). I biomarcatori prognostici tradizionali, come proteina C reattiva e procalcitonina, sono ampiamente disponibili e utilizzati nella pratica clinica, ma presentano limiti legati alla complessità fisiopatologica della sepsi e alla loro ridotta accuratezza prognostica, specialmente se misurati isolatamente gli uni dagli altri e senza una stratificazione dei pazienti in cui vengono misurati (Molano-Franco et al., 2023). Al

contrario, biomarcatori innovativi (per esempio, cfDNA, chemochine e approcci multio-mici) mostrano risultati promettenti nella stratificazione del rischio e nella predizione della mortalità, ma il loro utilizzo rimane ancora limitato e non standardizzato nella pratica clinica (Charoensappakit et al., 2023; He et al., 2024).

Gli studi più recenti sulla predizione di outcome della sepsi – in termini di mortalità, severità ed evoluzione verso lo shock e l'insufficienza d'organo – concordano sulla maggiore accuratezza prognostica dell'uso combinato di più biomarcatori rispetto alla misurazione isolata di alcuni di essi e della loro associazione agli score clinici, auspicando la definizione di pannelli prognostici integrati, standardizzati e accessibili per l'utilizzo nella pratica ospedaliera (Chaithanya and Meshram, 2023; Davoulos et al., 2025; Li et al., 2026a; Lu et al., 2025; Tong-Minh et al., 2021; Varga et al., 2025).

I biomarcatori inclusi nello studio sono stati selezionati per rappresentare differenti domini fisiopatologici coinvolti nella sepsi, tra cui immunità innata e risposta all'infezione (presepsina), attivazione macrofagica e segnalazione IFN- γ -dipendente (CXCL9), regolazione immunitaria e chemotassi linfocitaria (CCL22), stress metabolico e disfunzione energetica cellulare (FGF-21), danno d'organo (NFL) e regolazione post-trascrizionale dei processi infiammatori e metabolici mediata da microRNA.

2. OBIETTIVO DELLO STUDIO

La crescente complessità fisiopatologica riconosciuta nella sepsi, caratterizzata dalla coesistenza di disregolazione immunitaria, disfunzione endoteliale, alterazioni metaboliche e danno multiorgano, ha progressivamente evidenziato i limiti dei biomarcatori tradizionalmente utilizzati nella pratica clinica, quali proteina C reattiva e procalcitonina, soprattutto quando considerati isolatamente. Allo stesso tempo, l'identificazione di nuovi biomarcatori derivanti dall'ambito immunologico, metabolico e multi-omico ha aperto prospettive promettenti per una più accurata stratificazione prognostica dei pazienti settici.

Alla luce di tali considerazioni, il presente studio si è proposto di valutare il ruolo prognostico integrato di biomarcatori tradizionali e innovativi in una coorte di pazienti ospedalizzati con sepsi. In particolare, gli obiettivi dello studio sono stati:

- analizzare l'associazione tra biomarcatori convenzionali e mortalità intraospedaliera;
- valutare il potenziale valore prognostico di biomarcatori innovativi, comprendenti mediatori proteici e microRNA circolanti;
- costruire uno score integrato basato sui biomarcatori innovativi indipendentemente associati all'outcome;
- esplorare il ruolo della presepsina come biomarcatore di severità clinica e infiammatoria, confrontandone le prestazioni con quelle della procalcitonina.

3. MATERIALI E METODI

3.1 Disegno dello studio e popolazione

È stato condotto uno studio osservazionale di coorte presso la UOC di Medicina del Presidio Ospedaliero INRCA di Osimo. Sono stati consecutivamente arruolati tutti i pazienti adulti (età ≥ 18 anni) ricoverati tra gennaio e dicembre 2024 con diagnosi di sepsi secondo i criteri del Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). Per ciascun paziente sono stati raccolti dati demografici, clinici e laboratoristici al momento del ricovero. L'endpoint primario dello studio era rappresentato dalla mortalità intraospedaliera. Sono stati esclusi dallo studio i pazienti di età inferiore a 18 anni, i soggetti privi di campioni biologici adeguati alle determinazioni previste dal protocollo e quelli con dati clinici incompleti relativamente all'outcome di interesse.

L'utilizzo dei dati clinici e dei campioni biologici è avvenuto secondo le autorizzazioni previste, nel rispetto della normativa vigente in materia di protezione dei dati personali e dei principi etici applicabili alla ricerca clinica.

3.2 Raccolta e conservazione dei campioni biologici

Campioni di sangue periferico sono stati raccolti nelle prime fasi del ricovero e processati secondo procedure standardizzate. Plasma e siero sono stati aliquotati e conservati a -80°C fino al completamento del reclutamento. Tutte le determinazioni dei biomarcatori innovativi sono state eseguite successivamente in un'unica sessione analitica, al fine di minimizzare la variabilità inter-assay.

3.3 Determinazione dei biomarcatori

I biomarcatori innovativi valutati comprendevano presepsina, neurofilament light chain (NFL), fibroblast growth factor-21 (FGF-21), CCL22, CXCL9, follistatina e i microRNA circolanti miR-21, miR-122, miR-146a, miR-320b e miR-483-5p.

La presepsina è stata misurata in plasma EDTA mediante saggio immunoenzimatico in chemiluminescenza (CLEIA) utilizzando il kit CL AIA-PACK® Presepsin TEST CUP su piattaforma Tosoh AIA-CL (Tosoh Corporation, Tokyo, Giappone).

Le concentrazioni plasmatiche di NFL, FGF-21, CCL22, CXCL9 e follistatina sono state determinate mediante piattaforma automatizzata Ella™ (ProteinSimple, Bio-Techne, San Jose, CA, USA), secondo le istruzioni del produttore. I risultati sono stati espressi in pg/mL.

3.4 Analisi dei microRNA circolanti

I microRNA selezionati sono stati retrotrascritti utilizzando il TaqMan™ MicroRNA Reverse Transcription Kit (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) secondo le indicazioni del produttore e successivamente quantificati mediante saggi TaqMan™ MicroRNA Assay (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Prima dell'isolamento dell'RNA è stato aggiunto il controllo sintetico esogeno cel-miR-39-3p, utilizzato come riferimento per la normalizzazione delle successive analisi di real-time PCR quantitativa. L'espressione relativa dei microRNA è stata calcolata mediante il metodo $2^{-\Delta Ct}$, dove $\Delta Ct = Ct_{\text{microRNA}} - Ct_{\text{cel-miR-39-3p}}$. I risultati sono stati espressi come Relative Expression (RE) e riportati come $RE \times 10^3$.

3.5 Covariate cliniche e laboratoristiche

Per ciascun paziente sono stati raccolti dati demografici, clinici e laboratoristici al momento del ricovero. Le covariate cliniche considerate comprendevano età, sesso, durata della degenza, presenza di shock settico, pressione arteriosa sistolica e saturazione periferica di ossigeno. I parametri laboratoristici di routine, inclusi emocromo con formula leucocitaria, proteina C reattiva (PCR), procalcitonina (PCT), albumina, emoglobina, creatinina sierica e gli altri esami biochimici eseguiti nell'ambito dell'attività clinica assistenziale, sono stati determinati presso il Laboratorio Analisi dell'INRCA mediante metodiche standard validate per uso diagnostico. L'indice neutrofililinfociti (NLR) è stato calcolato come rapporto tra la conta assoluta dei neutrofililinfociti e quella dei linfociti. La velocità di filtrazione glomerulare stimata (eGFR) è stata calcolata mediante equazione Berlin Initiative Study 1 (BIS1), validata per la popolazione anziana.

Le covariate incluse nei modelli multivariati comprendevano età, sesso, pressione arteriosa sistolica, saturazione periferica di ossigeno, albumina, NLR, eGFR ed emoglobina.

3.6 Analisi statistica

Le variabili continue sono state descritte come mediana e intervallo interquartile (IQR), mentre le variabili categoriche sono state riportate come frequenze assolute e percentuali. Le differenze tra sopravvissuti e non sopravvissuti sono state valutate mediante test di Mann–Whitney per le variabili continue e test esatto di Fisher per le variabili categoriche. Le associazioni tra variabili continue sono state investigate mediante coefficiente di correlazione di Spearman.

Per valutare la capacità discriminante dei biomarcatori rispetto agli outcome di interesse sono state eseguite analisi mediante curve ROC, riportando le aree sotto la curva (AUC)

con intervalli di confidenza al 95%. Il confronto tra AUC è stato effettuato tramite test di DeLong quando appropriato. Per i biomarcatori innovativi sono stati identificati valori soglia ottimali mediante metodo delle maximally selected rank statistics, utilizzando dati di sopravvivenza ospedaliera. I biomarcatori sono stati successivamente dicotomizzati in gruppi a basso e alto rischio sulla base dei rispettivi cut-off.

L'associazione tra biomarcatori e mortalità intraospedaliera è stata valutata mediante modelli di regressione di Cox. Sono stati costruiti modelli progressivamente aggiustati per potenziali fattori confondenti: Modello 1: età e sesso; Modello 2: Modello 1 più pressione arteriosa sistolica e saturazione periferica di ossigeno; Modello 3: Modello 2 più albumina, rapporto neutrofili/linfociti (NLR), velocità di filtrazione glomerulare stimata (eGFR) ed emoglobina.

I biomarcatori risultati indipendentemente associati all'outcome nel modello finale sono stati utilizzati per costruire uno score prognostico additivo. A ciascun biomarcatore alterato in senso prognostico sfavorevole è stato attribuito un punto; il punteggio complessivo è stato quindi calcolato come somma dei singoli punti. Successivamente, lo score è stato classificato in tre categorie: basso (0–1 punti), intermedio (2–3 punti) ed elevato (4–5 punti). La sopravvivenza ospedaliera è stata rappresentata mediante curve di Kaplan–Meier e confrontata mediante test log-rank. L'associazione tra score e mortalità è stata ulteriormente valutata mediante modelli di regressione di Cox sia considerando il punteggio come variabile continua sia come variabile categoriale.

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software R versione 4.5.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Sono stati impiegati i pacchetti survival, survminer, pROC, ggplot2 e ComplexUpset per le analisi di sopravvivenza, le

curve ROC e la rappresentazione grafica dei dati. Tutti i test statistici sono stati a due code e valori di $p < 0,05$ sono stati considerati statisticamente significativi.

4. RISULTATI

Nello studio sono stati inclusi 104 pazienti ospedalizzati presso la UOC di Medicina del PO INRCA di Osimo con diagnosi di sepsi.

In Tabella 2 sono riportate le caratteristiche cliniche, i parametri vitali e i dati laboratoristici della popolazione in esame.

Sono stati inclusi nello studio 104 pazienti ospedalizzati con diagnosi di sepsi. La mortalità intraospedaliera è risultata pari al 23.1%, corrispondente a 24 decessi. La durata mediana del ricovero nella popolazione complessiva era pari a 18.0 giorni (IQR 12.0–30.2).

L'età mediana della coorte era pari a 86.0 anni (IQR 81.0–90.2). I pazienti deceduti presentavano un'età mediana lievemente superiore rispetto ai sopravvissuti, pari rispettivamente a 88.5 anni (IQR 85.0–92.0) e 86.0 anni (IQR 78.8–89.0), senza raggiungere la significatività statistica ($p=0.063$). Il sesso maschile era presente in 40 pazienti (38.5%) e risultava distribuito in modo sovrapponibile tra sopravvissuti e deceduti (38.8% vs 37.5%; $p=1.000$).

I pazienti deceduti mostravano una durata del ricovero significativamente inferiore rispetto ai sopravvissuti, con mediane pari rispettivamente a 9.0 giorni (IQR 4.0–18.0) e 19.0 giorni (IQR 13.0–37.2) ($p<0.001$). Lo shock settico era presente in 15 pazienti (14.4%) ed era significativamente più frequente nei pazienti deceduti rispetto ai sopravvissuti (37.5% vs 7.5%; $p<0.001$).

Tra i parametri vitali all'ingresso, la pressione arteriosa sistolica risultava significativamente inferiore nei pazienti deceduti rispetto ai sopravvissuti, con valori mediani pari rispettivamente a 110.0 mmHg (IQR 100.0–116.2) e 125.0 mmHg (IQR 105.0–140.0) ($p=0.035$). Non si osservavano invece differenze statisticamente significative per

pressione arteriosa diastolica, frequenza cardiaca, frequenza respiratoria, saturazione periferica di ossigeno o temperatura corporea.

Per quanto riguarda i parametri laboratoristici convenzionali, la conta piastrinica risultava significativamente più bassa nei pazienti deceduti rispetto ai sopravvissuti, con mediane pari rispettivamente a $143.0 \times 10^3/\mu\text{L}$ (IQR 95.0–210.2) e $223.5 \times 10^3/\mu\text{L}$ (IQR 148.0–272.2) ($p=0.019$). Anche il rapporto neutrofili/linfociti risultava significativamente più elevato nei pazienti deceduti rispetto ai sopravvissuti, con mediane pari rispettivamente a 12.4 (IQR 8.6–20.6) e 8.3 (IQR 5.0–14.8) ($p=0.038$).

L'albumina sierica risultava significativamente più bassa nei pazienti deceduti rispetto ai sopravvissuti, con valori mediani pari rispettivamente a 2.6 g/dL (IQR 2.3–2.9) e 2.9 g/dL (IQR 2.7–3.3) ($p=0.003$). IL-6 mostrava valori significativamente superiori nei pazienti deceduti rispetto ai sopravvissuti, con mediane pari a 91.7 pg/mL (IQR 47.7–152.5) e 38.6 pg/mL (IQR 20.7–125.5), rispettivamente ($p=0.012$).

Tra gli altri parametri laboratoristici convenzionali non emergevano differenze statisticamente significative tra i due gruppi, inclusi emoglobina, globuli bianchi, neutrofili, linfociti, creatinina, eGFR, PCR e procalcitonina. I neutrofili risultavano numericamente più elevati nei pazienti deceduti rispetto ai sopravvissuti, senza raggiungere la significatività statistica (11.9 vs $9.0 \times 10^3/\mu\text{L}$; $p=0.088$).

Tra i biomarcatori innovativi, non si osservavano differenze statisticamente significative tra sopravvissuti e deceduti. La presepsina presentava valori mediani pari a 797.8 pg/mL (IQR 582.6–1151.5) nei pazienti deceduti e 656.9 pg/mL (IQR 430.8–1065.2) nei sopravvissuti ($p=0.407$). NFL e FGF-21 risultavano numericamente più elevati nei pazienti deceduti, con valori mediani rispettivamente pari a 201.5 pg/mL e 960.5 pg/mL, rispetto a

135.5 pg/mL e 565.5 pg/mL nei sopravvissuti, senza tuttavia raggiungere la significatività statistica ($p=0.072$ e $p=0.109$).

CCL22 mostrava valori mediani inferiori nei pazienti deceduti rispetto ai sopravvissuti (292.8 vs 413.5 pg/mL; $p=0.085$), mentre CXCL9 e follistatina risultavano numericamente più elevati nei deceduti, senza differenze statisticamente significative. Analogamente, non sono state osservate differenze significative per i microRNA analizzati, inclusi miRNA-21, miRNA-122, miRNA-146a, miRNA-320b e miRNA-483-5p. Quest'ultimo mostrava valori numericamente superiori nei pazienti deceduti rispetto ai sopravvissuti, senza raggiungere la significatività statistica ($p=0.087$).

Variabile	Totale (N=104)	Vivi (n=80)	Morti (n=24)	p
Età, anni	86.0 (81.0–90.2)	86.0 (78.8–89.0)	88.5 (85.0–92.0)	0.063
Durata del ricovero, giorni	18.0 (12.0–30.2)	19.0 (13.0–37.2)	9.0 (4.0–18.0)	<0.001
Sesso maschile, n (%)	40 (38.5)	31 (38.8)	9 (37.5)	1.000
Shock settico, n (%)	15 (14.4)	6 (7.5)	9 (37.5)	<0.001
<i>Parametri vitali all'ingresso</i>				
Pressione arteriosa sistolica, mmHg	120.0 (103.0–135.0)	125.0 (105.0–140.0)	110.0 (100.0–116.2)	0.035
Pressione arteriosa diastolica, mmHg	65.0 (60.0–80.0)	65.0 (60.0–80.0)	60.0 (55.0–75.0)	0.179
Frequenza cardiaca, bpm	81.0 (70.0–95.5)	80.0 (70.0–92.0)	83.5 (76.5–100.8)	0.387
Frequenza respiratoria, atti/min	20.0 (18.0–20.0)	20.0 (18.0–20.0)	20.0 (18.0–20.0)	0.573
Saturazione O ₂ , %	96.0 (93.0–96.0)	96.0 (93.0–96.0)	95.5 (91.0–96.0)	0.407
Temperatura corporea, °C	36.0 (36.0–36.3)	36.0 (36.0–36.2)	36.0 (36.0–37.0)	0.306

<i>Parametri laboratoristici convenzionali</i>				
Emoglobina, g/dL	11.1 (9.5–13.0)	11.1 (9.4–12.8)	11.2 (9.6–13.5)	0.717
Globuli bianchi, $\times 10^3/\mu\text{L}$	11.5 (8.3–15.3)	11.1 (8.3–13.4)	13.4 (8.2–17.9)	0.131
Neutrofili, $\times 10^3/\mu\text{L}$	9.4 (6.6–13.1)	9.0 (6.4–11.6)	11.9 (6.7–16.2)	0.088
Linfociti, $\times 10^3/\mu\text{L}$	0.9 (0.6–1.4)	0.9 (0.6–1.4)	0.8 (0.5–1.1)	0.312
Piastrine, $\times 10^3/\mu\text{L}$	204.5 (133.8–261.0)	223.5 (148.0–272.2)	143.0 (95.0–210.2)	0.019
NLR	8.9 (5.6–17.8)	8.3 (5.0–14.8)	12.4 (8.6–20.6)	0.038
Creatinina, mg/dL	1.6 (0.9–2.2)	1.4 (0.9–2.2)	1.8 (0.9–2.8)	0.336
eGFR, mL/min/1.73m ²	36.5 (19.8–61.5)	42.0 (22.2–59.2)	24.5 (14.0–69.0)	0.207
Albumina, g/dL	2.9 (2.5–3.2)	2.9 (2.7–3.3)	2.6 (2.3–2.9)	0.003
PCR, mg/dL	15.4 (8.1–22.7)	15.8 (8.9–24.9)	12.2 (6.8–21.8)	0.586
Procalcitonina, ng/mL	2.1 (0.6–9.4)	2.1 (0.6–11.3)	1.9 (0.7–6.6)	0.938
IL-6, pg/mL	46.5 (23.2–126.2)	38.6 (20.7–125.5)	91.7 (47.7–152.5)	0.012
<i>Biomarcatori innovativi</i>				
Presepsina, pg/mL	719.5 (450.4–1097.3)	656.9 (430.8–1065.2)	797.8 (582.6–1151.5)	0.407
NFL, pg/mL	143.5 (95.1–244.5)	135.5 (66.9–231.8)	201.5 (105.8–386.0)	0.072
FGF-21, pg/mL	646.0 (229.0–1634.2)	565.5 (229.0–1257.0)	960.5 (384.5–4779.8)	0.109
CCL22, pg/mL	390.0 (220.8–587.5)	413.5 (243.0–618.8)	292.8 (204.2–449.0)	0.085
CXCL9, pg/mL	2192.0 (1022.2–4252.0)	2056.0 (847.2–4315.5)	2497.0 (1977.0–4252.0)	0.174
Follistatina, pg/mL	3088.0 (2014.2–4146.8)	2920.0 (1989.0–3874.5)	3199.5 (2176.0–5248.2)	0.275

miRNA-21 (RE ×10 ³)	92.5 (45.7–169.0)	92.1 (44.7– 160.1)	96.4 (68.8– 191.6)	0.586
miRNA-122 (RE ×10 ³)	4.3 (1.4–20.6)	4.7 (2.0–17.6)	2.0 (0.7–25.7)	0.227
miRNA-146a (RE ×10 ³)	6.1 (2.4–13.0)	6.1 (2.4–13.0)	6.0 (2.4–12.3)	0.954
miRNA-320b (RE ×10 ³)	6.0 (2.4–13.4)	5.9 (2.8–12.3)	6.9 (1.9–22.2)	0.611
miRNA-483-5p (RE ×10 ³)	0.4 (0.2–1.3)	0.4 (0.2–1.1)	0.8 (0.2–4.0)	0.087

Tabella 2. Caratteristiche della popolazione stratificate per mortalità intraospedaliera. Dati espressi come mediana (IQR) oppure numero assoluto (%). RE: relative expression. p calcolato con test di Mann–Whitney o χ^2 /Fisher secondo appropriato.

La Figura 8 mostra la distribuzione dei principali biomarcatori prognostici nei pazienti sopravvissuti e deceduti durante il ricovero. I valori sono rappresentati su scala logaritmica in base 10.

L'albumina presentava valori significativamente inferiori nei pazienti deceduti rispetto ai sopravvissuti ($p=0.0031$). Al contrario, IL-6 risultava significativamente più elevata nei pazienti deceduti rispetto ai sopravvissuti ($p=0.012$). Anche il rapporto neutrofili/linfociti mostrava valori più elevati nei pazienti deceduti, con una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi ($p=0.038$).

Per NFL si osservava una distribuzione tendenzialmente più elevata nei pazienti deceduti rispetto ai sopravvissuti, senza raggiungere la significatività statistica nella rappresentazione grafica ($p=0.072$). Analogamente, FGF-21 mostrava valori complessivamente più elevati nei pazienti deceduti, ma la differenza tra i gruppi non risultava statisticamente significativa in questa analisi ($p=0.11$).

Nel complesso, la distribuzione dei biomarcatori rappresentati evidenziava differenze statisticamente significative tra sopravvissuti e deceduti per albumina, IL-6 e NLR, mentre NFL e FGF-21 mostravano un andamento numericamente differente tra i due gruppi senza raggiungere la significatività statistica.

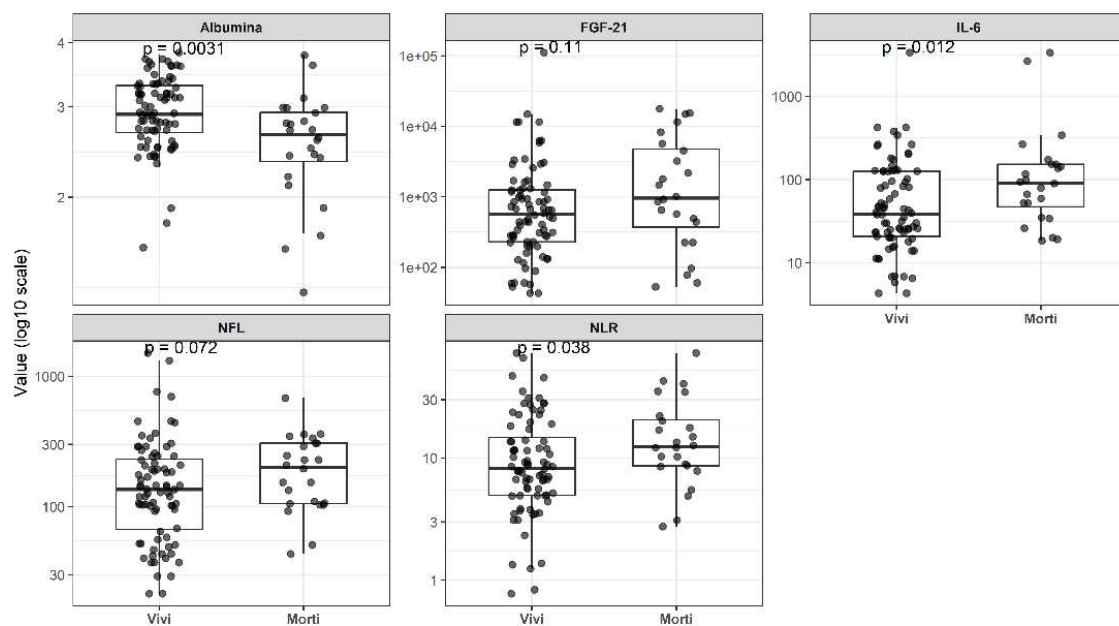


Figura 8. Distribuzione di albumina, FGF-21, IL-6, NFL ed NLR nei pazienti sopravvissuti e deceduti durante il ricovero. Valori rappresentati su scala logaritmica in base 10.

La heatmap in Figura 9 mostra le correlazioni di Spearman tra biomarcatori convenzionali, proteici, citochinici e microRNA nei pazienti con sepsi. Nel complesso, le correlazioni osservate risultavano prevalentemente di intensità debole o moderata, con le associazioni più elevate concentrate soprattutto tra i microRNA.

Le correlazioni positive più marcate sono state osservate tra i diversi microRNA. In particolare, miRNA-21 e miRNA-320b mostravano la correlazione più elevata, con coefficiente $\rho=0.77$. Correlazioni positive rilevanti erano presenti anche tra miRNA-146a e

miRNA-21 ($\rho=0.72$), tra miRNA-146a e miRNA-320b ($\rho=0.69$), tra miRNA-122 e miRNA-146a ($\rho=0.58$), tra miRNA-122 e miRNA-21 ($\rho=0.58$), tra miRNA-122 e miRNA-320b ($\rho=0.56$), tra miRNA-483-5p e miRNA-21 ($\rho=0.56$) e tra miRNA-483-5p e miRNA-320b ($\rho=0.55$).

Tra i biomarcatori proteici e infiammatori, le correlazioni erano generalmente meno intense. FGF-21 mostrava una correlazione positiva con CXCL9 ($\rho=0.38$) e con presepsina ($\rho=0.35$). NFL risultava positivamente correlato con CXCL9 ($\rho=0.36$) e con FGF-21 ($\rho=0.25$). La PCR presentava una correlazione positiva con IL-6 ($\rho=0.34$), procalcitonina ($\rho=0.29$) e miRNA-21 ($\rho=0.29$). Il rapporto neutrofili/linfociti mostrava una correlazione positiva con PCR ($\rho=0.33$), miRNA-483-5p ($\rho=0.25$) e follistatina ($\rho=0.24$).

La presepsina mostrava correlazioni positive con FGF-21 ($\rho=0.35$), procalcitonina ($\rho=0.26$), CXCL9 ($\rho=0.24$) e PCR ($\rho=0.18$). Le correlazioni tra presepsina e microRNA risultavano complessivamente deboli e di direzione variabile.

Le correlazioni negative più evidenti, pur rimanendo di entità debole o moderata, riguardavano soprattutto NFL e alcuni microRNA. NFL mostrava correlazioni inverse con miRNA-21 ($\rho=-0.30$), miRNA-146a ($\rho=-0.27$), PCR ($\rho=-0.27$), miRNA-122 ($\rho=-0.25$) e miRNA-320b ($\rho=-0.22$). CXCL9 risultava inversamente correlato con miRNA-122 ($\rho=-0.28$), mentre FGF-21 mostrava una correlazione negativa con miRNA-122 ($\rho=-0.27$). La presepsina presentava una correlazione negativa debole con miRNA-122 ($\rho=-0.19$), mentre la procalcitonina mostrava una correlazione negativa debole con CCL22 ($\rho=-0.19$).

Nel complesso, la matrice evidenziava un cluster di correlazioni positive tra i microRNA, mentre le associazioni tra biomarcatori convenzionali, proteici e infiammatori risultavano più eterogenee e prevalentemente di intensità debole-moderata.

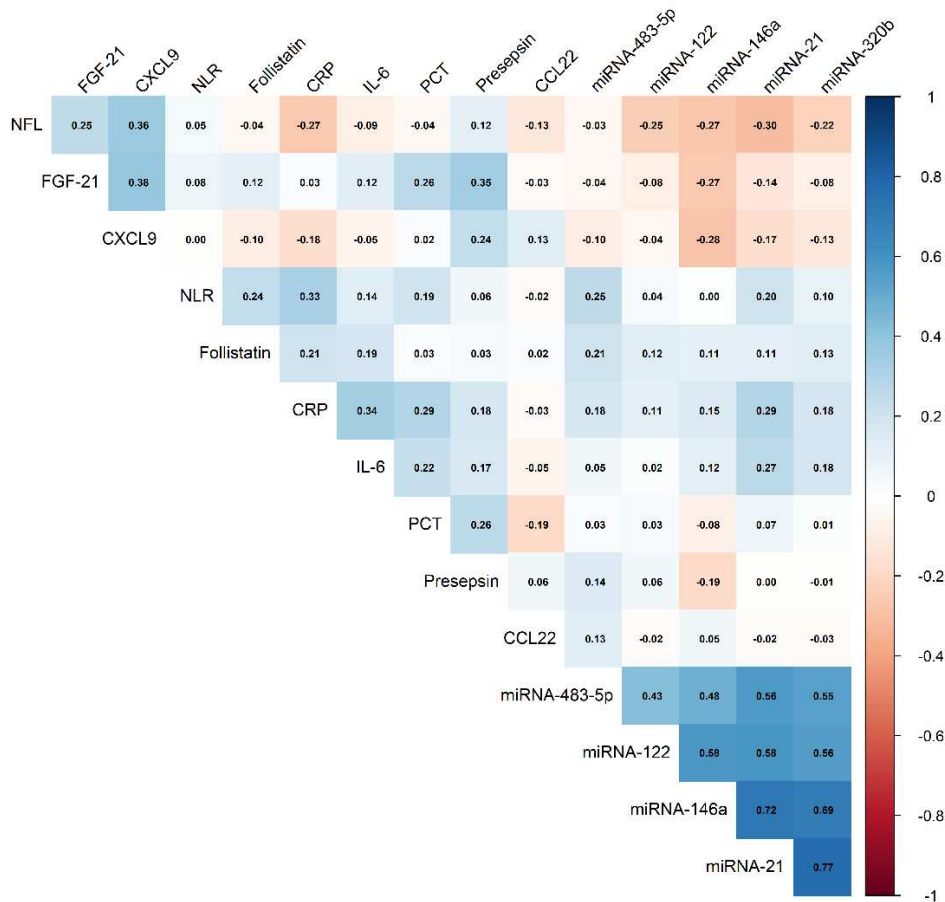


Figura 9. Heatmap delle correlazioni di Spearman tra biomarcatori convenzionali e innovativi.

Le correlazioni di Spearman tra presepsina, procalcitonina e parametri clinico-laboratoristici sono riportate nella Tabella 3.

La presepsina mostrava una correlazione positiva debole ma statisticamente significativa con la procalcitonina, con coefficiente di Spearman pari a $\rho=0.26$ ($p=0.008$). Tra i parametri clinico-laboratoristici considerati, la presepsina risultava significativamente e inversamente correlata con l'eGFR ($\rho=-0.32$; $p<0.001$). Le correlazioni con pressione arteriosa sistolica, saturazione periferica di ossigeno, albumina, NLR, IL-6 e PCR non raggiungevano la significatività statistica.

La procalcitonina mostrava una correlazione inversa significativa con l'albumina sierica ($\rho=-0.30$; $p=0.002$) e correlazioni positive significative con IL-6 ($\rho=0.22$; $p=0.022$) e PCR ($\rho=0.29$; $p=0.003$). Le correlazioni con pressione arteriosa sistolica, saturazione periferica di ossigeno, NLR ed eGFR non raggiungevano la significatività statistica.

Variabile	ρ presepsina	p	ρ procalcitonina	p
Procalcitonina	0.26	0.008	—	—
Pressione arteriosa sistolica	-0.15	0.120	-0.14	0.152
Saturazione O ₂	0.19	0.052	0.13	0.186
Albumina	-0.08	0.433	-0.30	0.002
NLR	0.06	0.576	0.19	0.053
eGFR	-0.32	<0.001	-0.07	0.496
IL-6	0.17	0.090	0.22	0.022
PCR	0.18	0.074	0.29	0.003

Tabella 3. Correlazioni di Spearman tra presepsina, procalcitonina e parametri clinico-laboratoristici nei pazienti con sepsi.

La curva ROC (Figura 10) è stata utilizzata per confrontare la capacità discriminativa della presepsina e della procalcitonina nell'identificazione dello shock settico.

La presepsina mostrava un'area sotto la curva pari a 0.68 (IC: 95%: 0.54-0.81), mentre la procalcitonina presentava un'AUC pari a 0.58 (IC: 95%: 0.40-0.76). La curva della presepsina si collocava complessivamente al di sopra di quella della procalcitonina in diversi intervalli di specificità, con una maggiore area sotto la curva osservata per la presepsina.

Nel complesso, l'analisi ROC mostrava una capacità discriminativa numericamente superiore della presepsina rispetto alla procalcitonina per la presenza di shock settico.

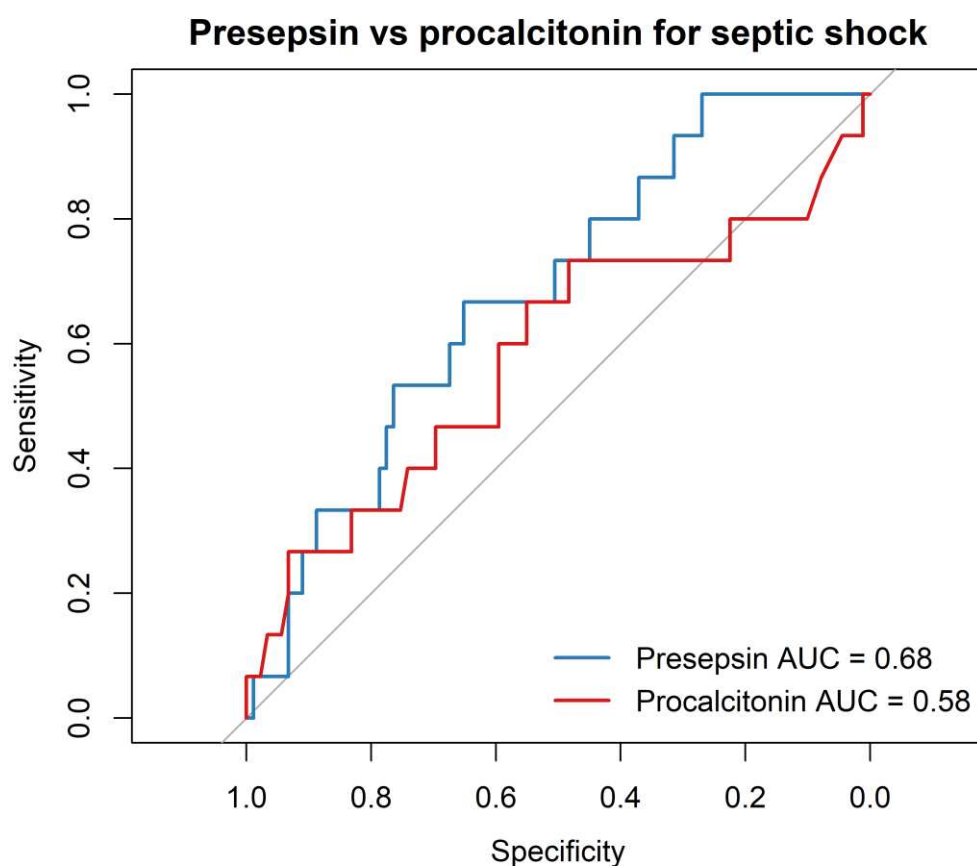


Figura 10. Analisi ROC di presepsina vs procalcitonina nella predizione dello shock settico.

Il grafico di dispersione in Figura 11 mostra la relazione tra i livelli di presepsina e l'eGFR nei pazienti con sepsi. La presepsina è rappresentata su scala logaritmica in base 10, mentre l'eGFR è espresso in mL/min/1.73 m².

Si osservava una correlazione negativa debole ma statisticamente significativa tra eGFR e presepsina, con coefficiente di Spearman pari a $\rho = -0.32$ e $p < 0.001$. La linea di

regressione mostrava una pendenza negativa, coerente con valori di presepsina progressivamente più elevati al ridursi dell'eGFR.

La distribuzione dei punti evidenziava un'ampia variabilità interindividuale, con valori di presepsina dispersi su un intervallo esteso anche per livelli comparabili di funzione renale.

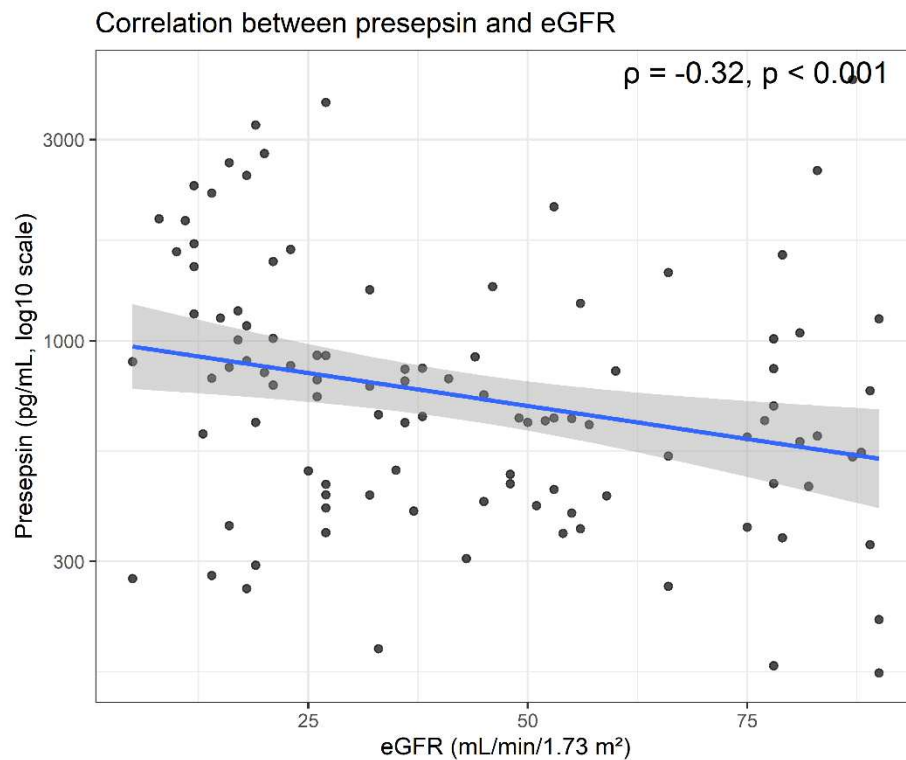


Figura 11. Grafico di dispersione sulla correlazione tra presepsina ed eGFR.

Il grafico di dispersione in Figura 12 mostra la relazione tra i livelli di presepsina e procalcitonina nei pazienti con sepsi. Entrambi i biomarcatori sono rappresentati su scala logaritmica in base 10.

Si osservava una correlazione positiva debole ma statisticamente significativa tra procalcitonina e presepsina, con coefficiente di Spearman pari a $\rho=0.26$ e $p=0.0075$. La linea di

regressione mostrava una pendenza positiva, coerente con un incremento dei valori di presepsina all'aumentare dei livelli di procalcitonina.

La distribuzione dei punti evidenziava un'ampia variabilità interindividuale, con valori di presepsina dispersi su un intervallo esteso anche per livelli comparabili di procalcitonina.

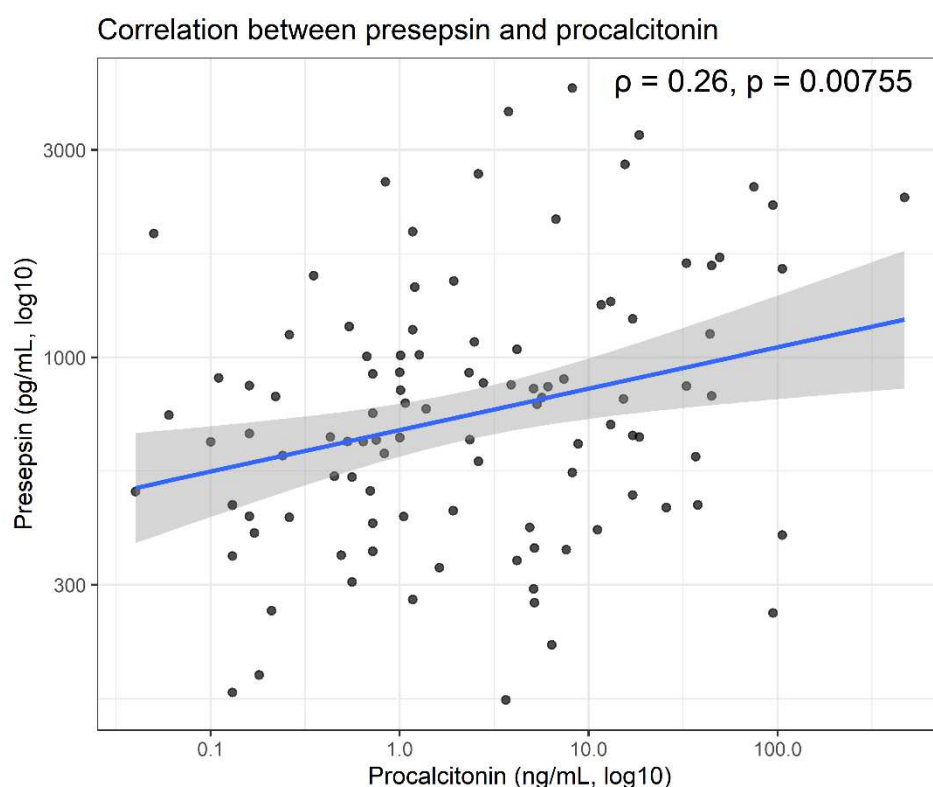


Figura 12. Grafico di dispersione sulla correlazione tra presepsina e procalcitonina.

Il modello lineare multivariato è stato costruito considerando il logaritmo in base 10 della presepsina come variabile dipendente (Tabella 4). Nel modello sono stati inclusi parametri clinici, respiratori, renali, infiammatori e nutrizionali potenzialmente associati ai livelli del biomarcatore.

Tra le variabili considerate, IL-6 risultava l'unico predittore indipendente significativamente associato ai livelli di presepsina, con coefficiente β pari a 0.000 (IC95%: 0.000–0.001; $p=0.033$).

L'eGFR mostrava una tendenza verso un'associazione inversa con i livelli di presepsina, con coefficiente β pari a -0.002 (IC95%: -0.004–0.000; $p=0.082$), senza raggiungere la significatività statistica.

Le restanti variabili incluse nel modello non risultavano significativamente associate ai livelli di presepsina. In particolare, non emergevano associazioni significative per pressione arteriosa sistolica ($\beta=-0.002$; IC95%: -0.006–0.001; $p=0.170$), saturazione periferica di ossigeno ($\beta=0.008$; IC95%: -0.006–0.022; $p=0.258$), NLR ($\beta=0.001$; IC95%: -0.003–0.005; $p=0.508$) e albumina ($\beta=-0.036$; IC95%: -0.153–0.081; $p=0.543$).

Nel complesso, il modello evidenziava che, tra i parametri clinico-laboratoristici analizzati, IL-6 manteneva un'associazione indipendente con i livelli di log-presepsina dopo aggiustamento multivariato.

Variabile	β coefficiente (IC95%)	p
Pressione arteriosa sistolica	-0.002 (-0.006 - 0.001)	0.170
Saturazione O₂	0.008 (-0.006 - 0.022)	0.258
eGFR	-0.002 (-0.004 - 0.000)	0.082
NLR	0.001 (-0.003 - 0.005)	0.508
IL-6	0.000 (0.000 - 0.001)	0.033
Albumina	-0.036 (-0.153 - 0.081)	0.543

Tabella 4. Modello lineare multivariato per i determinanti dei livelli di presepsina. Outcome del modello: $\log_{10}(\text{presepsina})$. β : coefficiente di regressione lineare.

Prima dell'analisi di sopravvivenza (Tabella 5), i biomarcatori innovativi sono stati dicotomizzati in base al cut-off individuato per ciascun marcatore. Per ogni biomarcatore sono stati quindi definiti un gruppo a valori bassi e un gruppo a valori alti, riportando il numero di pazienti e la frequenza degli eventi nei due gruppi.

Per la presepsina, il cut-off individuato era pari a 458.4 pg/mL. Il gruppo con valori bassi comprendeva 29 pazienti (27.9%), con 3 eventi osservati (10.3%), mentre il gruppo con valori alti comprendeva 75 pazienti (72.1%), con 21 eventi (28.0%).

Per NFL, utilizzando un cut-off pari a 194.0 pg/mL, 67 pazienti (64.4%) rientravano nel gruppo a valori bassi, con 11 eventi (16.4%), mentre 37 pazienti (35.6%) rientravano nel gruppo a valori alti, con 13 eventi (35.1%). Per FGF-21, il cut-off era pari a 1692.0 pg/mL: il gruppo basso includeva 80 pazienti (76.9%), con 14 eventi (17.5%), mentre il gruppo alto includeva 24 pazienti (23.1%), con 10 eventi (41.7%).

Per CCL22, il cut-off individuato era pari a 530.0 pg/mL. Il gruppo con valori bassi comprendeva 73 pazienti (70.2%), con 21 eventi (28.8%), mentre il gruppo con valori alti comprendeva 31 pazienti (29.8%), con 3 eventi (9.7%). Per CXCL9, il cut-off era pari a 1233.0 pg/mL: 32 pazienti (30.8%) presentavano valori bassi, con 3 eventi (9.4%), mentre 72 pazienti (69.2%) presentavano valori alti, con 21 eventi (29.2%).

Per la follistatina, il cut-off individuato era pari a 4158.0 pg/mL. Il gruppo basso comprendeva 79 pazienti (76.0%), con 15 eventi (19.0%), mentre il gruppo alto comprendeva 25 pazienti (24.0%), con 9 eventi (36.0%).

Tra i microRNA, per miRNA-21 il cut-off era pari a 213.2: il gruppo basso includeva 86 pazienti (82.7%), con 18 eventi (20.9%), mentre il gruppo alto includeva 18 pazienti (17.3%), con 6 eventi (33.3%). Per miRNA-122, utilizzando un cut-off pari a 0.87, 18

pazienti (17.3%) rientravano nel gruppo basso, con 10 eventi (55.6%), mentre 86 pazienti (82.7%) rientravano nel gruppo alto, con 14 eventi (16.3%).

Per miRNA-146a, il cut-off era pari a 2.95. Il gruppo basso comprendeva 35 pazienti (33.7%), con 10 eventi (28.6%), mentre il gruppo alto comprendeva 69 pazienti (66.3%), con 14 eventi (20.3%). Per miRNA-320b, il cut-off individuato era pari a 18.71: il gruppo basso includeva 88 pazienti (84.6%), con 16 eventi (18.2%), mentre il gruppo alto includeva 16 pazienti (15.4%), con 8 eventi (50.0%). Infine, per miRNA-483-5p, il cut-off era pari a 2.27: il gruppo basso comprendeva 88 pazienti (84.6%), con 15 eventi (17.0%), mentre il gruppo alto comprendeva 16 pazienti (15.4%), con 9 eventi (56.3%).

Nel complesso, le percentuali di eventi risultavano più elevate nei gruppi ad alto livello per presepsina, NFL, FGF-21, CXCL9, follistatina, miRNA-21, miRNA-320b e miRNA-483-5p. Al contrario, per CCL22, miRNA-122 e miRNA-146a, la frequenza degli eventi era maggiore nei gruppi con valori inferiori al cut-off.

Biomarcatore	Cut-off	Gruppo basso n (%)	Eventi, n (%)	Gruppo alto n (%)	Eventi, n (%)
Presepsina	458.4	29 (27.9)	3 (10.3)	75 (72.1)	21 (28.0)
NFL	194.0	67 (64.4)	11 (16.4)	37 (35.6)	13 (35.1)
FGF-21	1692.0	80 (76.9)	14 (17.5)	24 (23.1)	10 (41.7)
CCL22	530.0	73 (70.2)	21 (28.8)	31 (29.8)	3 (9.7)
CXCL9	1233.0	32 (30.8)	3 (9.4)	72 (69.2)	21 (29.2)
Follistatina	4158.0	79 (76.0)	15 (19.0)	25 (24.0)	9 (36.0)
miRNA-21	213.2	86 (82.7)	18 (20.9)	18 (17.3)	6 (33.3)
miRNA-122	0.87	18 (17.3)	10 (55.6)	86 (82.7)	14 (16.3)
miRNA-146a	2.95	35 (33.7)	10 (28.6)	69 (66.3)	14 (20.3)

miRNA-320b	18.71	88 (84.6)	16 (18.2)	16 (15.4)	8 (50.0)
miRNA-483-5p	2.27	88 (84.6)	15 (17.0)	16 (15.4)	9 (56.3)

Tabella 5. Analisi di sopravvivenza. Biomarcatori innovativi dicotomizzati in base al cut-off individuato per ogni marcatore.

Le curve di Kaplan-Meier (Figure 13 e 14) sono state costruite stratificando i pazienti in gruppi a basso e alto livello dei biomarcatori innovativi, sulla base dei cut-off survival-derived. Per comodità di rappresentazione, i biomarcatori proteici e citochinici e i miRNA sono stati riportati in due figure distinte.

Tra i biomarcatori proteici e citochinici, i pazienti con valori elevati di presepsina mostravano una probabilità di sopravvivenza inferiore rispetto ai pazienti con valori bassi, senza tuttavia raggiungere la significatività statistica al test log-rank ($p=0.062$). Per NFL, la sopravvivenza risultava significativamente inferiore nel gruppo con valori elevati rispetto al gruppo con valori bassi ($p=0.024$). Un andamento analogo è stato osservato per FGF-21, per il quale i pazienti con valori superiori al cut-off presentavano una ridotta probabilità di sopravvivenza rispetto ai pazienti con valori inferiori ($p=0.013$).

Per CCL22, la direzione dell'associazione risultava opposta rispetto alla maggior parte degli altri biomarcatori proteici, con una sopravvivenza inferiore nel gruppo con valori bassi rispetto al gruppo con valori elevati; la differenza tra le curve risultava statisticamente significativa ($p=0.031$). Per CXCL9, i valori elevati erano associati a una sopravvivenza significativamente inferiore rispetto ai valori bassi ($p=0.031$). Per follistatina, il gruppo con valori elevati mostrava una sopravvivenza più bassa rispetto al gruppo con valori bassi, ma la differenza tra le curve non raggiungeva la significatività statistica ($p=0.088$).

Tra i microRNA, miRNA-21 non mostrava una differenza statisticamente significativa tra il gruppo a valori bassi e quello a valori elevati, pur in presenza di una sopravvivenza numericamente inferiore nel gruppo con valori più alti ($p=0.22$). Per miRNA-122, i pazienti con valori bassi presentavano una sopravvivenza significativamente inferiore rispetto ai pazienti con valori elevati ($p=0.00054$). Per miRNA-146a, le curve di sopravvivenza dei due gruppi risultavano parzialmente sovrapposte e la differenza non era statisticamente significativa ($p=0.34$). Al contrario, per miRNA-320b i pazienti con valori elevati presentavano una sopravvivenza significativamente inferiore rispetto ai pazienti con valori bassi ($p=0.0016$). Un andamento simile è stato osservato per miRNA-483-5p, con una riduzione significativa della sopravvivenza nel gruppo con valori elevati rispetto al gruppo con valori bassi ($p=0.0027$).

Nel complesso, differenze statisticamente significative nelle curve di sopravvivenza sono state osservate per NFL, FGF-21, CCL22, CXCL9, miRNA-122, miRNA-320b e miRNA-483-5p. Presepsina e follistatina mostravano una separazione delle curve senza raggiungere la significatività statistica, mentre miRNA-21 e miRNA-146a non presentavano differenze significative tra i gruppi definiti dai rispettivi cut-off.

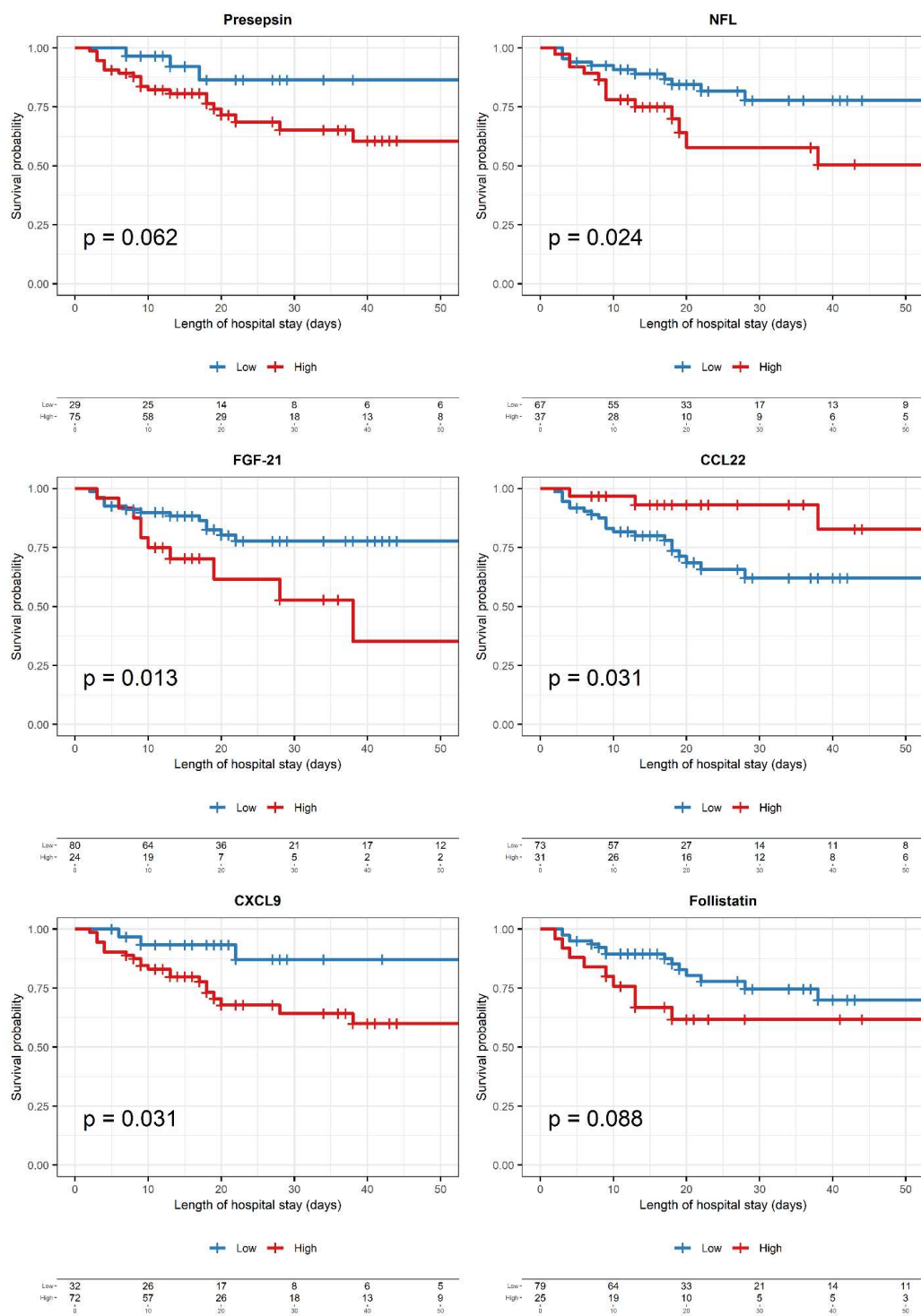


Figura 13. Curve di Kaplan-Meier stratificate secondo i cut-off survival-derived dei biomarcatori proteici e citochinici innovativi.

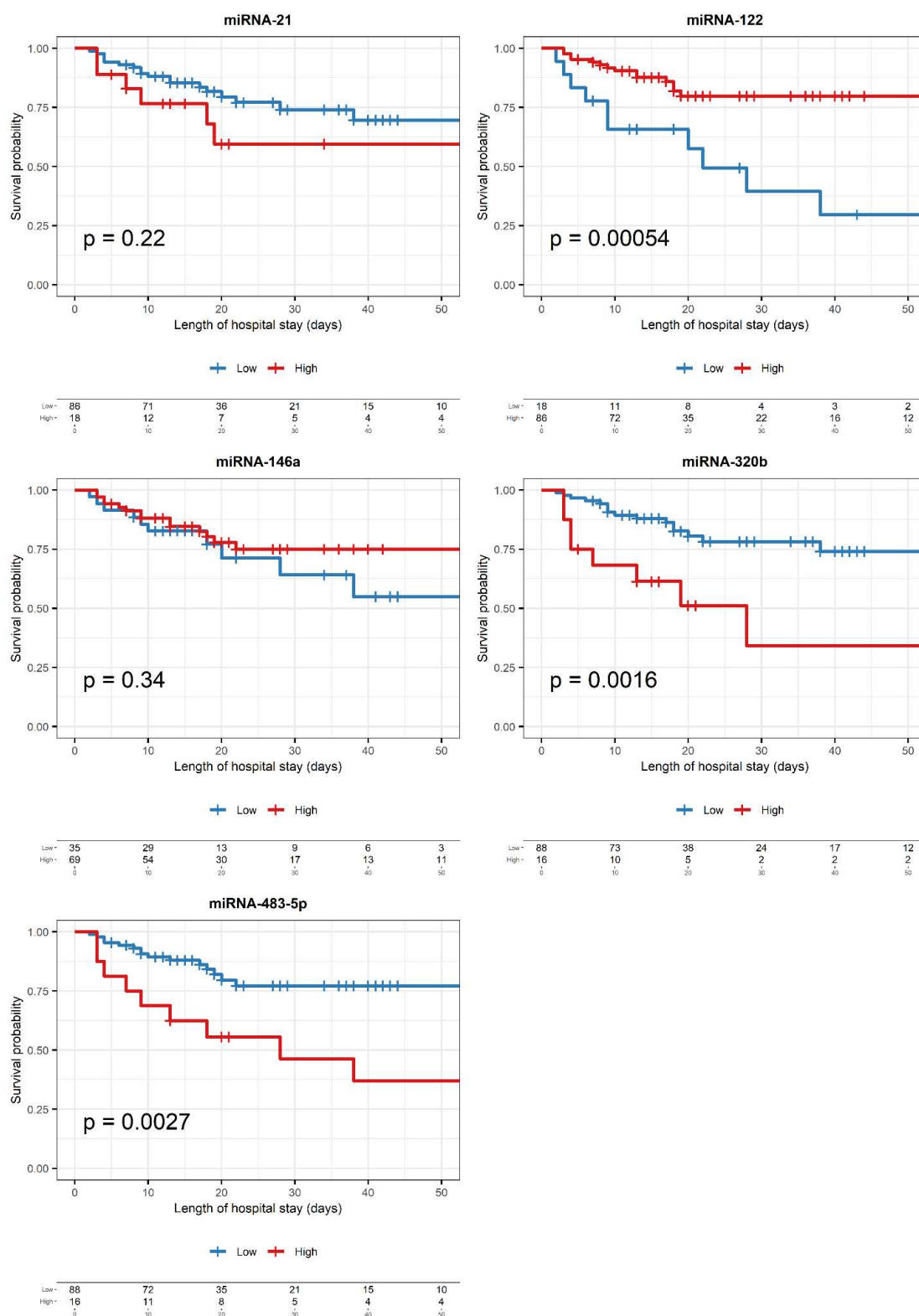


Figura 14. Curve di Kaplan-Meier stratificate secondo i cut-off survival-derived dei miRNA circolanti.

L'associazione tra biomarcatori innovativi dicotomizzati secondo i rispettivi cut-off survival-derived e sopravvivenza intraospedaliera è stata valutata mediante modelli di regressione di Cox a complessità crescente (Tabella 6). Il Modello 1 includeva biomarcatore, età e sesso; il Modello 2 aggiungeva pressione arteriosa sistolica e saturazione periferica di ossigeno; il Modello 3 includeva inoltre albumina, NLR, eGFR ed emoglobina.

Tra i biomarcatori proteici e citochinici, FGF-21 risultava significativamente associato all'outcome in tutti e tre i modelli. In particolare, l'HR era pari a 3.21 nel Modello 1 (IC95%: 1.40–7.37; $p=0.006$), 2.72 nel Modello 2 (IC95%: 1.16–6.38; $p=0.021$) e 2.87 nel Modello 3 (IC95%: 1.00–8.20; $p=0.049$). Anche CXCL9 manteneva un'associazione significativa in tutti i modelli, con HR pari a 4.75 nel Modello 1 (IC95%: 1.39–16.21; $p=0.013$), 4.37 nel Modello 2 (IC95%: 1.26–15.17; $p=0.020$) e 4.06 nel Modello 3 (IC95%: 1.12–14.71; $p=0.033$).

NFL risultava significativamente associato all'outcome nei primi due modelli, con HR pari a 2.33 nel Modello 1 (IC95%: 1.01–5.37; $p=0.046$) e 2.44 nel Modello 2 (IC95%: 1.04–5.71; $p=0.040$), ma non manteneva la significatività nel Modello 3 (HR=1.77; IC95%: 0.69–4.52; $p=0.235$). CCL22 mostrava un'associazione significativa solo nel Modello 2, con HR pari a 0.28 (IC95%: 0.08–0.97; $p=0.044$), mentre non raggiungeva la significatività nel Modello 1 (HR=0.31; IC95%: 0.09–1.06; $p=0.061$) e nel Modello 3 (HR=0.27; IC95%: 0.07–1.01; $p=0.052$). Presepsina e follistatina non risultavano significativamente associate all'outcome nei tre modelli. Per la presepsina, gli HR erano pari a 3.09 nel Modello 1 (IC95%: 0.91–10.46; $p=0.070$), 2.47 nel Modello 2 (IC95%: 0.71–8.59; $p=0.154$) e 2.01 nel Modello 3 (IC95%: 0.55–7.38; $p=0.294$). Per la follistatina, gli HR erano pari a 1.71 (IC95%: 0.73–3.99; $p=0.215$), 1.58 (IC95%: 0.67–3.72; $p=0.294$) e 2.50 (IC95%: 0.94–6.66; $p=0.067$), rispettivamente.

Tra i microRNA, miRNA-320b e miRNA-483-5p risultavano significativamente associati all'outcome in tutti e tre i modelli. Per miRNA-320b, l'HR era pari a 4.58 nel Modello 1 (IC95%: 1.91–11.00; $p<0.001$), 4.45 nel Modello 2 (IC95%: 1.71–11.58; $p=0.002$) e 8.77 nel Modello 3 (IC95%: 2.91–26.43; $p<0.001$). Per miRNA-483-5p, l'HR era pari a 3.26 nel Modello 1 (IC95%: 1.42–7.52; $p=0.005$), 3.05 nel Modello 2 (IC95%: 1.30–7.19; $p=0.011$) e 4.20 nel Modello 3 (IC95%: 1.69–10.41; $p=0.002$).

miRNA-122 mostrava un'associazione significativa nei primi due modelli, con HR inferiore a 1: 0.27 nel Modello 1 (IC95%: 0.12–0.61; $p=0.002$) e 0.25 nel Modello 2 (IC95%: 0.11–0.58; $p=0.001$). Nel Modello 3, l'associazione non raggiungeva la significatività statistica (HR=0.43; IC95%: 0.16–1.16; $p=0.096$). miRNA-21 risultava significativamente associato all'outcome solo nel Modello 3, con HR pari a 4.40 (IC95%: 1.38–14.05; $p=0.012$), mentre non era significativo nei Modelli 1 e 2. miRNA-146a non mostrava associazioni significative in nessuno dei modelli analizzati.

Nel complesso, nel modello completamente aggiustato, i biomarcatori che mantenevano un'associazione significativa con l'outcome erano FGF-21, CXCL9, miRNA-21, miRNA-320b e miRNA-483-5p.

Biomarcatore	Cut-off	Model 1 HR (IC95%)	p	Model 2 HR (IC95%)	p	Model 3 HR (IC95%)	p
Presepsina	458.4	3.09 (0.91–10.46)	0.070	2.47 (0.71–8.59)	0.154	2.01 (0.55–7.38)	0.294
NFL	194.0	2.33 (1.01–5.37)	0.046	2.44 (1.04–5.71)	0.040	1.77 (0.69–4.52)	0.235
FGF-21	1692.0	3.21 (1.40–7.37)	0.006	2.72 (1.16–6.38)	0.021	2.87 (1.00–8.20)	0.049

CCL22	530.0	0.31 (0.09– 1.06)	0.061	0.28 (0.08– 0.97)	0.044	0.27 (0.07– 1.01)	0.052
CXCL9	1233.0	4.75 (1.39– 16.21)	0.013	4.37 (1.26– 15.17)	0.020	4.06 (1.12– 14.71)	0.033
Follista- tina	4158.0	1.71 (0.73– 3.99)	0.215	1.58 (0.67– 3.72)	0.294	2.50 (0.94– 6.66)	0.067
miRNA-21	213.2	1.89 (0.75– 4.80)	0.179	1.55 (0.57– 4.22)	0.391	4.40 (1.38– 14.05)	0.012
miRNA- 122	0.9	0.27 (0.12– 0.61)	0.002	0.25 (0.11– 0.58)	0.001	0.43 (0.16– 1.16)	0.096
miRNA- 146a	3.0	0.69 (0.30– 1.55)	0.365	0.68 (0.30– 1.58)	0.373	1.04 (0.43– 2.53)	0.924
miRNA- 320b	18.7	4.58 (1.91– 11.00)	<0.001	4.45 (1.71– 11.58)	0.002	8.77 (2.91– 26.43)	<0.001
miRNA- 483-5p	2.3	3.26 (1.42– 7.52)	0.005	3.05 (1.30– 7.19)	0.011	4.20 (1.69– 10.41)	0.002

Tabella 6. Analisi di Cox dei biomarcatori innovativi dicotomizzati secondo i cut-off survival-derived. Model 1: biomcatore + età + sesso. Model 2: Model 1 + pressione arteriosa sistolica + saturazione O₂. Model 3: Model 2 + albumina + NLR + eGFR + emoglobina. I cut-off dei miRNA sono espressi come relative expression $\times 10^3$.

A partire dai biomarcatori risultati significativamente associati all'outcome nel modello di Cox completamente aggiustato, è stato costruito un group score attribuendo un punto per ciascun biomcatore alterato in senso prognostico sfavorevole. Il punteggio complessivo poteva variare da 0 a 5 ed è stato successivamente suddiviso in tre categorie: score basso, pari a 0–1; score intermedio, pari a 2–3; e score alto, pari a 4–5.

La distribuzione dello score nella popolazione in studio è riportata nella Tabella 7. Il gruppo con score basso comprendeva 68 pazienti e presentava 10 eventi, corrispondenti a un tasso di eventi del 14.7%. Il gruppo con score intermedio includeva 26 pazienti, con 7 eventi osservati e un tasso di eventi pari al 26.9%. Il gruppo con score alto comprendeva 10 pazienti, tra i quali si sono verificati 7 eventi, corrispondenti a un tasso di eventi del 70.0%.

Nel complesso, il tasso di eventi aumentava progressivamente all'aumentare della categoria di score, passando dal 14.7% nel gruppo a basso punteggio al 26.9% nel gruppo intermedio, fino al 70.0% nel gruppo con score elevato.

Gruppo di score	N	Eventi	Tasso di eventi (%)
Score basso (0-1)	68	10	14.7
Score intermedio (2-3)	26	7	26.9
Score alto (4-5)	10	7	70

Tabella 7. Distribuzione del group score dei biomarcatori.

L'UpSet plot (Figura 15) mostra la distribuzione dei pazienti in base alle diverse combinazioni di biomarcatori classificati come alti o bassi secondo i rispettivi cut-off. Sono rappresentati i cinque biomarcatori inclusi nello score integrato: CXCL9, FGF-21, miRNA-21, miRNA-483-5p e miRNA-320b.

Le combinazioni più frequenti erano costituite da pattern con singolo biomarcatore alterato, con intersezioni pari a 40, 21 e 15 soggetti. Le combinazioni multiple risultavano meno rappresentate. La contemporanea alterazione dei cinque biomarcatori era osservata in 5 soggetti.

Le restanti combinazioni erano caratterizzate da numerosità ridotte, generalmente comprese tra 1 e 3 soggetti per ciascuna intersezione. Nel complesso, il grafico evidenziava una distribuzione eterogenea dei profili biomolecolari, con poche combinazioni relativamente frequenti e numerose combinazioni rare di co-occorrenza dei biomarcatori inclusi nello score.

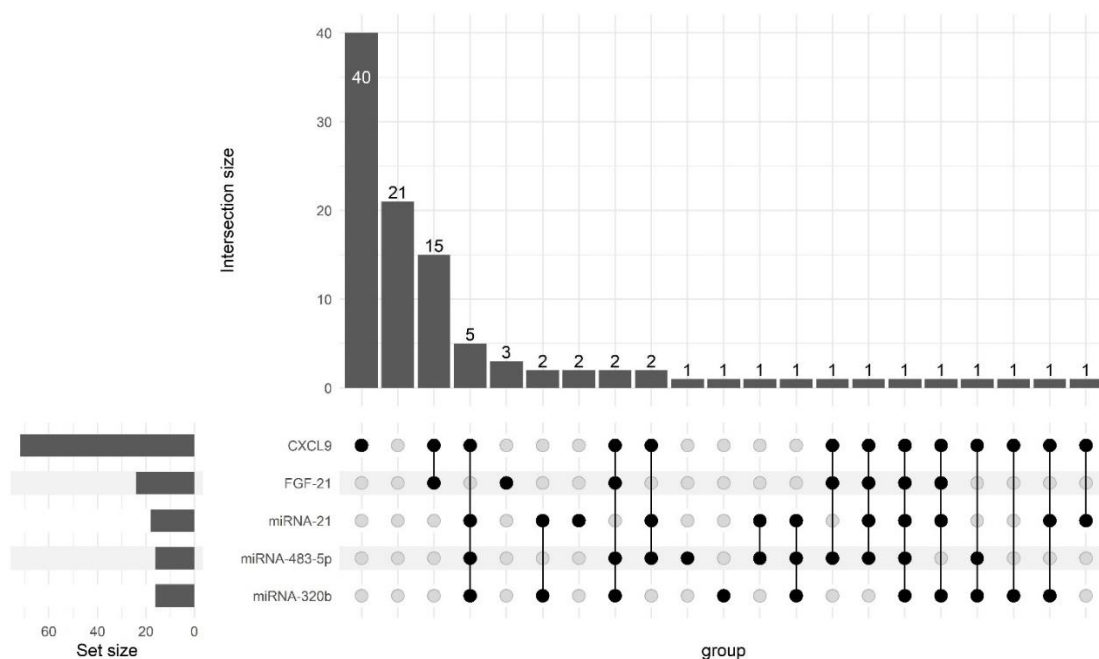


Figura 15. UpSet plot della distribuzione delle combinazioni dei biomarcatori inclusi nel group score.

L'associazione tra group score e sopravvivenza intraospedaliera è stata valutata mediante analisi di Cox (Tabella 8), considerando sia lo score come variabile continua sia le classi di score precedentemente definite.

Nell'analisi con score continuo, ogni incremento di un punto dello score risultava associato a un aumento significativo del rischio di evento, con HR pari a 2.53 (IC95%: 1.88–3.42; $p < 0.001$).

Considerando le classi di score, il gruppo con score basso pari a 0–1 è stato utilizzato come riferimento. Rispetto a tale gruppo, i pazienti con score intermedio, pari a 2–3, presentavano un HR di 2.91 (IC95%: 1.02–8.32; $p = 0.046$), mentre i pazienti con score alto, pari a 4–5, presentavano un HR di 6.35 (IC95%: 2.16–18.64; $p < 0.001$).

Nel modello aggiustato, comprendente età, sesso maschile, pressione arteriosa sistolica, saturazione periferica di ossigeno, albumina, NLR, eGFR ed emoglobina, lo score

continuo manteneva un'associazione significativa con l'outcome. In particolare, ogni incremento di un punto dello score era associato a un HR pari a 2.26 (IC95%: 1.58–3.24; $p<0.001$).

Tra le covariate incluse nel modello aggiustato, l'albumina risultava significativamente associata all'outcome, con HR pari a 0.42 (IC95%: 0.20–0.88; $p=0.022$), mentre NLR mostrava un'associazione positiva significativa, con HR pari a 1.03 (IC95%: 1.00–1.06; $p=0.041$). Le altre variabili incluse nel modello non raggiungevano la significatività statistica.

Variabile	HR (IC95%)	p
Score continuo (HR per incremento di un punto)	2.53 (1.88–3.42)	<0.001
Classi di score		
Score intermedio (2–3) vs basso (0–1)	2.91 (1.02–8.32)	0.046
Score alto (4–5) vs basso (0–1)	6.35 (2.16–18.64)	<0.001
Modello aggiustato*		
Score continuo	2.26 (1.58–3.24)	<0.001
Età	1.04 (0.99–1.09)	0.091
Sesso maschile	1.38 (0.61–3.15)	0.441
Pressione arteriosa sistolica	0.98 (0.96–1.00)	0.073
Saturazione O ₂	0.95 (0.88–1.02)	0.161
Albumina	0.42 (0.20–0.88)	0.022
NLR	1.03 (1.00–1.06)	0.041
eGFR	0.99 (0.97–1.01)	0.267
Emoglobina	0.91 (0.76–1.10)	0.339

Tabella 8. Analisi di sopravvivenza in base al group score.

Le curve di Kaplan-Meier (Figura 16) mostrano la sopravvivenza intraospedaliera dei pazienti stratificati in base alle tre classi del group score: score basso (0–1), score intermedio (2–3) e score alto (4–5).

La probabilità di sopravvivenza risultava progressivamente inferiore all'aumentare della classe di score. Il gruppo con score basso mostrava la sopravvivenza più elevata durante l'intero periodo di osservazione, seguito dal gruppo con score intermedio. Il gruppo con score alto presentava invece la riduzione più marcata della probabilità di sopravvivenza, con una separazione precoce e persistente rispetto agli altri due gruppi.

La differenza tra le curve risultava statisticamente significativa al test log-rank ($p=0.00018$). Alla tabella dei soggetti a rischio, i pazienti inizialmente inclusi erano 68 nel gruppo con score basso, 26 nel gruppo con score intermedio e 10 nel gruppo con score alto. A 50 giorni di ricovero, risultavano ancora a rischio 9 pazienti nel gruppo con score basso, 4 nel gruppo con score intermedio e 1 nel gruppo con score alto.

Nel complesso, la rappresentazione Kaplan-Meier evidenziava una progressiva riduzione della sopravvivenza intraospedaliera al crescere del group score.

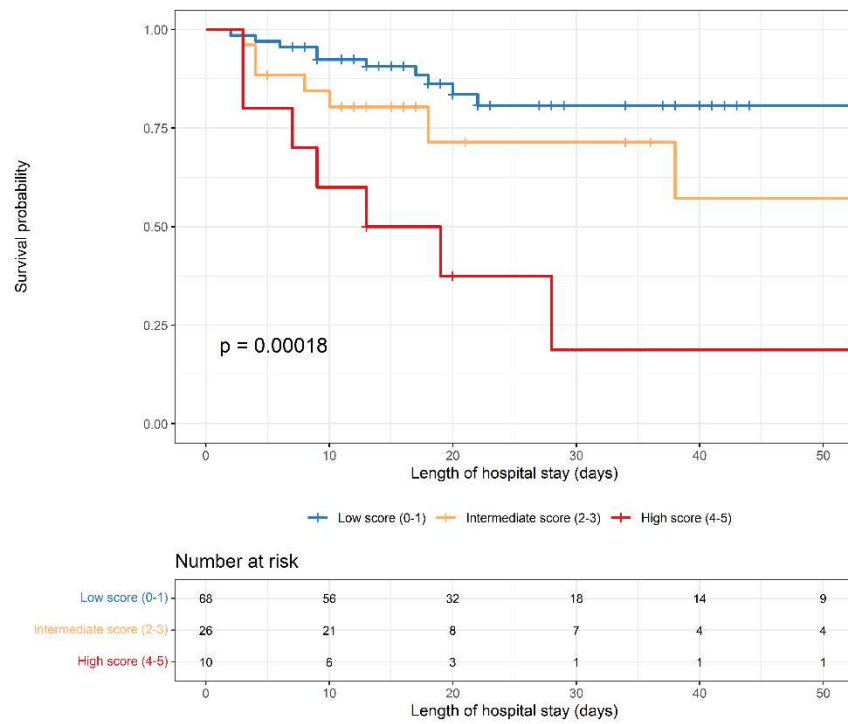


Figura 16. Curve di Kaplan-Meier in base al group score.

5. DISCUSSIONE

Il presente studio ha valutato il ruolo prognostico di biomarcatori convenzionali e innovativi in una coorte di pazienti ospedalizzati con diagnosi di sepsi, con l'obiettivo di esplorare se un approccio integrato potesse migliorare la stratificazione del rischio di mortalità intraospedaliera rispetto alla valutazione dei singoli parametri. La popolazione analizzata era costituita da pazienti anziani, con età mediana elevata, coerentemente con l'epidemiologia della sepsi nei reparti internistici e con il noto incremento di suscettibilità alla disfunzione immunitaria e multiorgano nelle fasce di età avanzata (Pei et al., 2020). La mortalità intraospedaliera osservata è risultata clinicamente rilevante e in linea con il peso prognostico della sepsi in ambito ospedaliero, confermando la necessità di strumenti semplici ma più accurati per identificare precocemente i pazienti a maggior rischio (Fleischmann-Struzek et al., 2020).

Tra le caratteristiche cliniche iniziali, i pazienti deceduti presentavano una più alta frequenza di shock settico e valori inferiori di pressione arteriosa sistolica. Questo dato è coerente con la definizione fisiopatologica dello shock settico come condizione caratterizzata da compromissione emodinamica persistente, necessità di vasopressori, ipoperfusione tissutale e aumentato rischio di mortalità (Singer et al., 2016). La durata del ricovero è risultata inferiore nei pazienti deceduti rispetto ai sopravvissuti, un risultato interpretabile come espressione di una maggiore gravità clinica precoce, con evoluzione sfavorevole durante le prime fasi dell'ospedalizzazione.

Per quanto riguarda i biomarcatori convenzionali, albumina, rapporto neutrofili/linfociti e conta piastrinica hanno mostrato differenze significative tra sopravvissuti e deceduti. In particolare, l'ipoalbuminemia nei pazienti deceduti suggerisce il ruolo della

compromissione dello stato nutrizionale, dell'infiammazione sistemica e dell'aumentata permeabilità vascolare nella prognosi della sepsi. L'albumina, pur non essendo un biomarcatore specifico di infezione, riflette diversi processi rilevanti nella fisiopatologia settica, tra cui infiammazione, fragilità biologica, disfunzione endoteliale e alterazioni dello stato metabolico. Anche nel modello aggiustato relativo allo score integrato, l'albumina manteneva un'associazione significativa con l'outcome, confermandone il valore come indicatore clinico-prognostico generale.

Il rapporto neutrofili/linfociti è risultato più elevato nei pazienti deceduti e ha mantenuto una relazione positiva con l'outcome nel modello aggiustato. Tale dato è coerente con il significato biologico del NLR, che integra due componenti fondamentali della risposta immunitaria alla sepsi: da un lato l'attivazione neutrofila, coinvolta nell'infiammazione acuta, nella produzione di specie reattive dell'ossigeno, nella formazione di NET e nel danno endoteliale; dall'altro la linfopenia, possibile espressione di immunoparalisi e compromissione della risposta adattativa (Farkas, 2020; Gao et al., 2025). L'aumento del NLR può quindi rappresentare un indicatore sintetico della disregolazione immunitaria tipica della sepsi.

La conta piastrinica è risultata inferiore nei pazienti deceduti. Questo dato è coerente con il ruolo delle piastrine nell'immunotrombosi, nella disfunzione microcircolatoria e nella coagulopatia associata alla sepsi. La trombocitopenia può riflettere consumo periferico, attivazione piastrinica, danno endoteliale e formazione di microtrombi, tutti processi implicati nella progressione verso la disfunzione multiorgano (Maneta et al., 2023). Al contrario, parametri tradizionalmente utilizzati nella pratica clinica, come PCR e procalcitonina, non hanno mostrato differenze significative tra sopravvissuti e deceduti. Questo risultato conferma i limiti dei biomarcatori convenzionali quando utilizzati isolatamente,

soprattutto in una popolazione anziana e clinicamente complessa, nella quale l'infiammazione sistemica, le comorbidità e la disfunzione d'organo possono ridurne la specificità prognostica (Ghatak et al., 2025; Silvinato et al., 2025).

Tra i mediatori infiammatori, IL-6 è risultata significativamente più elevata nei pazienti deceduti. Questo dato è in accordo con il ruolo centrale di IL-6 nella risposta infiammatoria sistemica e nella tempesta citochinica. L'aumento di IL-6 nei pazienti con esito sfavorevole conferma che l'intensità della risposta infiammatoria conserva un valore prognostico nella sepsi. Tuttavia, il suo impiego come singolo biomarcatore rimane complesso, perché i livelli circolanti possono essere influenzati dall'età, dal contesto clinico, dalle comorbidità, dal profilo genetico e dalla fase temporale della risposta settica (Varga et al., 2025). In questo senso, i risultati dello studio supportano l'idea che IL-6 possa essere utile soprattutto se interpretata insieme ad altri indicatori clinici e laboratoristici.

Un risultato rilevante riguarda la presepsina. Pur non essendo risultata significativamente diversa tra sopravvissuti e deceduti e pur non mantenendo un'associazione indipendente con la mortalità nei modelli di Cox, la presepsina ha mostrato correlazioni significative con numerosi parametri di severità clinica e laboratoristica. In particolare, essa era correlata inversamente con pressione arteriosa sistolica, saturazione periferica di ossigeno, albumina ed eGFR, e positivamente con NLR, IL-6, PCR e procalcitonina. Inoltre, nell'analisi ROC, la presepsina ha mostrato una capacità discriminativa numericamente superiore rispetto alla procalcitonina nell'identificazione dello shock settico. Questi dati suggeriscono che la presepsina possa rappresentare più un indicatore di gravità clinico-infiammatoria e disfunzione d'organo che un predittore indipendente di mortalità intraospedaliera. L'associazione indipendente tra IL-6 e livelli di presepsina nel modello multivariato rafforza l'ipotesi che questo biomarcatore sia strettamente legato all'attivazione

infiammatoria sistemica. Tale interpretazione è coerente con la letteratura più recente, che considera la presepsina un biomcatore promettente ma da contestualizzare rispetto alla funzione renale, alla gravità clinica e agli altri indici infiammatori (Li et al., 2026a).

L'analisi dei biomcatore innovativi ha evidenziato risultati particolarmente interessanti. Nelle analisi di sopravvivenza, diversi marcatori proteici, citochinici e microRNA sono risultati associati a una riduzione della sopravvivenza intraospedaliera. In particolare, FGF-21, CXCL9, miRNA-21, miRNA-320b e miRNA-483-5p hanno mantenuto un'associazione significativa con l'outcome nel modello di Cox completamente aggiustato. Questo dato suggerisce che tali biomcatore possano cogliere dimensioni fisiopatologiche complementari della sepsi, non completamente rappresentate dai parametri convenzionali.

FGF-21 è un mediatore associato allo stress metabolico e mitocondriale. La sua associazione con la mortalità è coerente con il ruolo della disfunzione mitocondriale nella sepsi, nella quale le cellule possono perdere la capacità di utilizzare in modo efficace l'ossigeno disponibile, contribuendo a ipossia citopatica, alterazione della produzione di ATP e progressione verso la disfunzione multiorgano (Nedel et al., 2023). L'aumento di FGF-21 nei pazienti a prognosi peggiore può quindi riflettere una risposta adattativa o maladattativa allo stress bioenergetico sistemico, in un contesto in cui la sepsi è sempre più interpretata anche come sindrome immunometabolica (Saavedra-Torres et al., 2025).

CXCL9, chemochina indotta dall'interferone gamma, è risultata anch'essa associata all'outcome. Questo risultato è coerente con il possibile ruolo di un endotipo di sepsi caratterizzato da attivazione dell'asse IFN- γ /CXCL9. L'incremento di CXCL9 potrebbe identificare un sottogruppo di pazienti con maggiore attivazione immunitaria,

infiammazione persistente e rischio più elevato di evoluzione sfavorevole. La sua associazione con la mortalità anche dopo aggiustamento suggerisce che CXCL9 possa avere un valore prognostico autonomo rispetto ai principali parametri clinici e laboratoristici considerati. Tale dato appare coerente con recenti evidenze che hanno proposto CXCL9 come elemento utile alla caratterizzazione di un possibile endotipo di sepsi IFN- γ -driven (Giamarellos-Bourboulis et al., 2024).

Per quanto riguarda i microRNA, miRNA-320b e miRNA-483-5p sono risultati tra i biomarcatori più fortemente associati all'outcome. Entrambi hanno mostrato una riduzione significativa della sopravvivenza nei pazienti con valori elevati e hanno mantenuto l'associazione con la mortalità nel modello completamente aggiustato. I microRNA sono regolatori post-trascrizionali dell'espressione genica e possono riflettere processi biologici complessi, inclusi infiammazione, apoptosi, danno cellulare, stress ossidativo e disfunzione immunitaria. Il risultato ottenuto suggerisce che questi marcatori possano intercettare alterazioni molecolari precoci o persistenti non rilevate dai biomarcatori convenzionali, in linea con il crescente interesse per i biomarcatori multi-omici nella stratificazione prognostica della sepsi (Chaithanya and Meshram, 2023).

miRNA-21 è risultato significativo nel modello completamente aggiustato, pur non mostrando una separazione statisticamente significativa delle curve di sopravvivenza nell'analisi non aggiustata. Questo apparente contrasto può dipendere dall'interazione con variabili cliniche e laboratoristiche incluse nel modello multivariato e suggerisce che il significato prognostico di miRNA-21 possa emergere soprattutto quando viene considerato nel contesto complessivo del paziente. Al contrario, miRNA-146a non ha mostrato un'associazione significativa con l'outcome, indicando che non tutti i microRNA analizzati hanno lo stesso potenziale prognostico nella popolazione studiata.

Un ulteriore dato di interesse riguarda miRNA-122 e CCL22, per i quali valori inferiori erano associati a prognosi peggiore nelle analisi di sopravvivenza. Questo andamento, opposto rispetto alla maggior parte degli altri biomarcatori, suggerisce che alcuni marcatori possano avere un significato protettivo o riflettere risposte biologiche preservate nei pazienti con prognosi migliore. Tuttavia, miRNA-122 e CCL22 non hanno mantenuto la significatività nel modello completamente aggiustato, per cui il loro ruolo prognostico deve essere interpretato con cautela e richiede ulteriori conferme.

La heatmap delle correlazioni ha mostrato un cluster di associazioni positive tra i microRNA, mentre le correlazioni tra biomarcatori convenzionali, proteici, infiammatori e metabolici erano prevalentemente deboli o moderate. Questo risultato suggerisce che i diversi biomarcatori esplorino aspetti parzialmente distinti della fisiopatologia settica. In particolare, la debole-moderata correlazione tra marcatori innovativi e convenzionali rappresenta un elemento importante, perché indica che i nuovi biomarcatori potrebbero aggiungere informazioni non ridondanti rispetto agli esami già disponibili nella pratica clinica. La presenza di correlazioni più strette tra i microRNA, invece, potrebbe riflettere una regolazione coordinata di vie molecolari comuni.

Il principale risultato dello studio è rappresentato dalla costruzione di uno score integrato basato sui cinque biomarcatori risultati indipendentemente associati all'outcome nel modello completamente aggiustato: FGF-21, CXCL9, miRNA-21, miRNA-320b e miRNA-483-5p. Lo score ha mostrato una chiara relazione dose-risposta con la mortalità intraospedaliera: il tasso di eventi aumentava progressivamente dal gruppo a basso punteggio al gruppo intermedio, fino a raggiungere il valore più elevato nel gruppo con score alto. Anche le curve di Kaplan-Meier hanno evidenziato una progressiva riduzione della

sopravvivenza al crescere della categoria di score, con separazione precoce e persistente del gruppo ad alto rischio.

L'associazione tra score e outcome è rimasta significativa anche dopo aggiustamento per variabili cliniche e laboratoristiche rilevanti, incluse età, sesso, pressione arteriosa sistolica, saturazione periferica di ossigeno, albumina, NLR, eGFR ed emoglobina. Questo dato suggerisce che lo score integrato non si limiti a riflettere la gravità clinica basale, ma possa fornire un'informazione prognostica aggiuntiva. L'approccio multiparametrico appare quindi più promettente rispetto all'impiego di singoli biomarcatori, poiché la sepsi è una sindrome eterogenea e dinamica, nella quale immunità, metabolismo, danno endoteliale, stress mitocondriale e regolazione genica concorrono in modo variabile alla prognosi individuale. Tale interpretazione è coerente con studi recenti che sottolineano la maggiore utilità di pannelli integrati rispetto alla misurazione isolata di singoli biomarcatori, soprattutto quando questi vengono associati a variabili cliniche o score prognostici (Chaithanya and Meshram, 2023; Davoulos et al., 2025; Li et al., 2026a; Lu et al., 2025; Tong-Minh et al., 2021; Varga et al., 2025).

Dal punto di vista clinico, questi risultati sostengono il possibile sviluppo di strumenti di stratificazione prognostica basati su pannelli biomolecolari. In un contesto come quello della sepsi, caratterizzato da elevata eterogeneità, la combinazione di biomarcatori appartenenti a domini biologici differenti potrebbe consentire una migliore identificazione dei pazienti ad alto rischio, favorendo un monitoraggio più stretto, una maggiore tempestività terapeutica e, in prospettiva, una medicina più personalizzata. Tuttavia, l'applicabilità clinica di uno score di questo tipo richiede ulteriori passaggi di validazione, standardizzazione dei cut-off e valutazione della fattibilità laboratoristica.

5.1 Punti di forza e limiti dello studio

Il presente studio presenta alcune limitazioni. In primo luogo, la numerosità campionaria è relativamente contenuta, con 104 pazienti e 24 eventi, aspetto che può limitare la potenza statistica e la stabilità delle stime, soprattutto nei modelli multivariati e nelle analisi dei sottogruppi. In particolare, il numero limitato di pazienti nel gruppo ad alto score impone cautela nell'interpretazione dell'entità dell'effetto, potenzialmente sovrastimata. In secondo luogo, lo studio è stato condotto in un singolo centro e in una popolazione prevalentemente anziana, per cui la generalizzabilità dei risultati ad altri contesti clinici, come terapie intensive, reparti chirurgici o popolazioni più giovani, deve essere verificata. Data la natura esplorativa dello studio e l'elevato numero di confronti eseguiti, non è stata applicata una correzione formale per test multipli; i risultati devono pertanto essere interpretati come generatori di ipotesi. Inoltre, i biomarcatori sono stati valutati principalmente al momento dell'ingresso o in una singola fase del ricovero; non è stato quindi possibile analizzare in modo completo il valore prognostico delle variazioni dinamiche nel tempo, che nella sepsi potrebbero avere particolare rilevanza. Tale aspetto è importante perché, per alcuni biomarcatori, la variazione temporale può fornire informazioni prognostiche superiori rispetto al singolo valore statico, come già osservato per lattato e IL-6 (Lu et al., 2025; Varga et al., 2025).

Un'altra limitazione riguarda l'uso di cut-off derivati dalla stessa popolazione studiata. Sebbene questo approccio sia utile in fase esplorativa, può aumentare il rischio di overfitting e richiede validazione esterna in coorti indipendenti. Inoltre, alcuni biomarcatori innovativi, in particolare i microRNA, necessitano di metodiche analitiche più complesse rispetto agli esami di routine, con possibili difficoltà di implementazione nella pratica clinica quotidiana. Infine, non è possibile escludere la presenza di fattori confondenti non

misurati, come comorbidità specifiche, fonte dell'infezione, tempistica della terapia antibiotica, grado di fragilità, stato nutrizionale preesistente e trattamenti ricevuti durante il ricovero.

Accanto a tali limiti, lo studio presenta anche diversi punti di forza. La coorte è rappresentativa di una popolazione internistica reale, anziana e clinicamente complessa, nella quale la stratificazione prognostica della sepsi è particolarmente difficile. Lo studio ha inoltre integrato biomarcatori convenzionali e innovativi, includendo mediatori proteici, chemochine e microRNA, e ha utilizzato modelli di sopravvivenza progressivamente aggiustati per variabili cliniche e laboratoristiche rilevanti. Un ulteriore punto di forza è rappresentato dalla costruzione di uno score integrato semplice, basato su biomarcatori indipendentemente associati all'outcome, capace di identificare categorie di rischio con sopravvivenza progressivamente differente.

In conclusione, i risultati del presente studio confermano che la prognosi della sepsi non può essere adeguatamente descritta da un singolo biomarcatore, soprattutto in pazienti anziani e complessi. Albumina, NLR e IL-6 si confermano indicatori rilevanti della gravità clinico-infiammatoria, in accordo con il ruolo prognostico attribuito a parametri immuno-infiammatori come il NLR e IL-6 nella letteratura recente (Farkas, 2020; Varga et al., 2025). Al contrario, PCR e procalcitonina mostrano limiti come predittori isolati di mortalità, coerentemente con le evidenze che ne sottolineano l'utilità soprattutto come biomarcatori da interpretare nel contesto clinico e in associazione ad altri parametri (Ghatak et al., 2025; Silvinato et al., 2025). La presepsina ha mostrato una correlazione significativa con la procalcitonina e con l'eGFR e, nell'analisi ROC, un'AUC numericamente superiore rispetto alla procalcitonina per l'identificazione dello shock settico. Tuttavia, non è emersa un'associazione significativa con la mortalità intraospedaliera nei

modelli multivariati. Questo risultato si inserisce nel quadro della letteratura recente, che evidenzia il potenziale dei pannelli multimarker nella stratificazione dei pazienti con sepsi e shock settico (Li et al., 2026a).

5.2. Conclusioni

Tra i biomarcatori innovativi, FGF-21, CXCL9, miRNA-21, miRNA-320b e miRNA-483-5p hanno mostrato un'associazione indipendente con l'outcome e, combinati in uno score integrato, hanno consentito, nella coorte studiata, una stratificazione progressiva del rischio di mortalità intraospedaliera. Questi risultati supportano il razionale di un approccio multiparametrico alla prognosi della sepsi, capace di riflettere la complessità biologica della sindrome e di aggiungere informazioni rispetto ai parametri tradizionali. Ulteriori studi prospettici, multicentrici e con coorti più ampie saranno necessari per validare lo score proposto, definirne l'utilità clinica e valutarne l'integrazione nei percorsi decisionali di gestione del paziente settico.

BIBLIOGRAFIA

- Biomarkers Definitions Working, G., 2001. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 69, 89–95.
- Bone, R.C., Balk, R.A., Cerra, F.B., Dellinger, R.P., Fein, A.M., Knaus, W.A., Schein, R.M. and Sibbald, W.J., 1992. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest.* 101, 1644–55.
- Candelli, M., Sacco Fernandez, M., Rozzi, G., Sodero, G., Piccioni, A., Pignataro, G., Rigante, D. and Franceschi, F., 2025. The Interleukin Network in Sepsis: From Cytokine Storm to Clinical Applications. *Diagnostics (Basel).* 15.
- Casserly, B., Phillips, G.S., Schorr, C., Dellinger, R.P., Townsend, S.R., Osborn, T.M., Reinhart, K., Selvakumar, N. and Levy, M.M., 2015. Lactate measurements in sepsis-induced tissue hypoperfusion: results from the Surviving Sepsis Campaign database. *Crit Care Med.* 43, 567–73.
- Chaithanya, P., Jr. and Meshram, R.J., 2023. Chemo Markers as Biomarkers in Septic Shock: A Comprehensive Review of Their Utility and Clinical Applications. *Cureus.* 15, e42558.
- Chang, D., Xing, Q., Su, Y., Zhao, X., Xu, W., Wang, X. and Dong, C., 2020. The Conserved Non-coding Sequences CNS6 and CNS9 Control Cytokine-Induced Rorc Transcription during T Helper 17 Cell Differentiation. *Immunity.* 53, 614–626 e4.
- Charoensappakit, A., Sae-Khow, K., Rattanaliam, P., Vutthikraivit, N., Pecheenbuvan, M., Udomkamjananun, S. and Leelahavanichkul, A., 2023. Cell-free DNA as diagnostic and prognostic biomarkers for adult sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 13, 19624.
- Chechulina, V., Sheikh, F., Loser, M., Englesakis, M., Barrett, K. and Sepsis, C., 2025. Healthcare costs after sepsis: a systematic review. *Crit Care.* 29, 381.
- Cicchinelli, S., Pignataro, G., Gemma, S., Piccioni, A., Picozzi, D., Ojetti, V., Franceschi, F. and Candelli, M., 2024. PAMPs and DAMPs in Sepsis: A Review of Their Molecular Features and Potential Clinical Implications. *Int J Mol Sci.* 25.
- Daniyarova, K.R., Sarkulova, Z.N., Tamadon, A., Tokshilykova, A.B., Sarkulov, M.N., Kalieva, B.M., Mussin, N.M. and Safarzoda Sharoffidin, R., 2025. Glycocalyx and Endothelial Biomarkers as Prognostic Indicators in Sepsis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Microbiologyopen.* 14, e70155.
- Davoulos, C., Giamarellos-Bourboulis, E.J., Koufargyris, P., Gogos, C. and Velissaris, D., 2025. Prognostic Value of SIRS, SOFA, qSOFA, and LqSOFA in Emergency Department Sepsis Patients and Correlation of Cytokine Patterns With In-Hospital Mortality. *J Clin Med Res.* 17, 663–675.
- de Montmollin, E. and Annane, D., 2011. Year in review 2010: Critical Care--Multiple organ dysfunction and sepsis. *Crit Care.* 15, 236.

- Deinhardt-Emmer, S., Chousterman, B.G., Schefold, J.C., Flohe, S.B., Skirecki, T., Kox, M., Winkler, M.S., Cossarizza, A., Wiersinga, W.J., van der Poll, T., Weigand, M.A., Cajander, S., Giamarellos-Bourboulis, E.J., Lachmann, G., Girardis, M., Scicluna, B.P., Ferrer, R., Payen, D., Weis, S., Torres, A., Bermejo-Martin, J.F., Osuchowski, M.F., Rubio, I. and Bouma, H.R., 2025. Sepsis in patients who are immunocompromised: diagnostic challenges and future therapies. *Lancet Respir Med.* 13, 623–637.
- Di Meo, S., Reed, T.T., Venditti, P. and Victor, V.M., 2016. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxid Med Cell Longev.* 2016, 1245049.
- Ehler, J., Petzold, A., Wittstock, M., Kolbaske, S., Gloger, M., Henschel, J., Heslegrave, A., Zetterberg, H., Lunn, M.P., Rommer, P.S., Grossmann, A., Sharshar, T., Richter, G., Noldge-Schomburg, G. and Sauer, M., 2019. The prognostic value of neurofilament levels in patients with sepsis-associated encephalopathy - A prospective, pilot observational study. *PLoS One.* 14, e0211184.
- Fan, J.B., Li, Q.Y., Feng, X.F., Huang, S.Y., Wang, R., Liao, F.Y., Liu, D., Liu, W.Y., Sun, J.H., Zhang, H.C., Zhou, H.T., Jiang, J.X., Wang, Z. and Zeng, L., 2026. The "cytokine storm" in infection and sepsis: win the battle but lose the war. *Mil Med Res.* 12, 95.
- Farkas, J.D., 2020. The complete blood count to diagnose septic shock. *J Thorac Dis.* 12, S16–S21.
- Fleischmann-Struzek, C., Goldfarb, D.M., Schlattmann, P., Schlapbach, L.J., Reinhart, K. and Kissoon, N., 2018. The global burden of paediatric and neonatal sepsis: a systematic review. *Lancet Respir Med.* 6, 223–230.
- Fleischmann-Struzek, C., Mellhammar, L., Rose, N., Cassini, A., Rudd, K.E., Schlattmann, P., Allegranzi, B. and Reinhart, K., 2020. Incidence and mortality of hospital- and ICU-treated sepsis: results from an updated and expanded systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* 46, 1552–1562.
- Gao, X., Cai, S., Li, X. and Wu, G., 2025. Sepsis-induced immunosuppression: mechanisms, biomarkers and immunotherapy. *Front Immunol.* 16, 1577105.
- Ghatak, T., Sajjad, S.A., Das, A., Kumar, A., Halemani, K. and Rochweg, B., 2025. The Diagnostic Accuracy of Serum Procalcitonin for Sepsis in Adult Patients in the Emergency Department: A Systematic Review and Meta-Analysis. *CHEST Critical Care.* 3.
- Giamarellos-Bourboulis, E.J., Antonelli, M., Bloos, F., Kotsamidi, I., Psarrakis, C., Dakou, K., Thomas-Ruddel, D., Montini, L., Briegel, J., Damoraki, G., Koufargyris, P., Anisoglou, S., Antoniadou, E., Vlachogianni, G., Tsiantas, C., Masullo, M., Ioakeimidou, A., Kondili, E., Ntaganou, M., Gkeka, E., Papaioannou, V., Polyzogopoulou, E., Reininger, A.J., De Pascale, G., Kiehntopf, M., Mouloudi, E. and Bauer, M., 2024. Interferon-gamma driven elevation of CXCL9: a new sepsis endotype independently associated with mortality. *EBioMedicine.* 109, 105414.
- Gourd, N.M. and Nikitas, N., 2020. Multiple Organ Dysfunction Syndrome. *J Intensive Care Med.* 35, 1564–1575.
- Greaney, A.J., Leppla, S.H. and Moayeri, M., 2015. Bacterial Exotoxins and the Inflammasome. *Front Immunol.* 6, 570.

- He, R.R., Yue, G.L., Dong, M.L., Wang, J.Q. and Cheng, C., 2024. Sepsis Biomarkers: Advancements and Clinical Applications-A Narrative Review. *Int J Mol Sci.* 25.
- Herzig, D.S., Luan, L., Bohannon, J.K., Toliver-Kinsky, T.E., Guo, Y. and Sherwood, E.R., 2014. The role of CXCL10 in the pathogenesis of experimental septic shock. *Crit Care.* 18, R113.
- Hibbert, J.E., Currie, A. and Strunk, T., 2018. Sepsis-Induced Immunosuppression in Neonates. *Front Pediatr.* 6, 357.
- Jin, Y., Zhang, Y., Li, Y. and Zheng, X., 2025. Significances of miRNAs for predicting sepsis mortality: a meta-analysis. *Front Microbiol.* 16, 1472124.
- Joosten, S.C.M., Wiersinga, W.J. and Poll, T.V., 2024. Dysregulation of Host-Pathogen Interactions in Sepsis: Host-Related Factors. *Semin Respir Crit Care Med.* 45, 469–478.
- La Via, L., Sangiorgio, G., Stefani, S., Marino, A., Nunnari, G., Cocuzza, S., La Mantia, I., Cacopardo, B., Stracquadanio, S., Spampinato, S., Lavalle, S. and Maniaci, A., 2024. The Global Burden of Sepsis and Septic Shock. *Epidemiologia (Basel).* 5, 456–478.
- Levy, M.M., Fink, M.P., Marshall, J.C., Abraham, E., Angus, D., Cook, D., Cohen, J., Opal, S.M., Vincent, J.L., Ramsay, G. and Sccm/Esicm/Accp/Ats/Sis, 2003. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med.* 31, 1250–6.
- Li, J., Jia, Q., Yang, L., Wu, Y., Peng, Y., Du, L., Fang, Z. and Zhang, X., 2025. Sepsis-associated encephalopathy: Mechanisms, Diagnosis, and Treatments update. *Int J Biol Sci.* 21, 3214–3228.
- Li, J., Zhao, Q., Gao, H., Wang, H., Guo, C. and Feng, X., 2026a. Early biomarkers for predicting sepsis-induced shock: insights from inflammatory pathways and immune response. *Front Pharmacol.* 17, 1751781.
- Li, P., Wang, C. and Pang, S., 2021. The diagnostic accuracy of mid-regional pro-adrenomedullin for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Minerva Anesthesiol.* 87, 1117–1127.
- Li, W., Li, Y., Wang, Y., Wu, Z., Cui, J., Wang, J. and Yu, X., 2026b. Elevated growth differentiation factor-15 in sepsis: clinical associations and immune cell context. *Front Cell Dev Biol.* 14, 1789747.
- Liang, J., Cai, Y. and Shao, Y., 2023. Comparison of presepsin and Mid-regional pro-adrenomedullin in the diagnosis of sepsis or septic shock: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 23, 288.
- Lin, Y., Alhaskawi, A., Chen, L. and Moqbel, S.A.A., 2025. Recent advances in understanding oxidative stress in sepsis: pathogenic roles and antioxidant therapeutic prospects - a narrative review. *Front Pharmacol.* 16, 1695992.
- Lopetuso, L.R., Cuomo, C., Mignini, I., Gasbarrini, A. and Papa, A., 2023. Focus on Anti-Tumour Necrosis Factor (TNF)-alpha-Related Autoimmune Diseases. *Int J Mol Sci.* 24.

- Lu, J., Dong, Z., Ye, L., Gao, Y. and Zheng, Z., 2025. Predictive value of SOFA, PCT, Lactate, qSOFA and their combinations for mortality in patients with sepsis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 20, e0332525.
- Maneta, E., Aivalioti, E., Tual-Chalot, S., Emini Veseli, B., Gatsiou, A., Stamatelopoulos, K. and Stellos, K., 2023. Endothelial dysfunction and immunothrombosis in sepsis. *Front Immunol*. 14, 1144229.
- Marik, P.E., 2014. Don't miss the diagnosis of sepsis! *Crit Care*. 18, 529.
- Mills, K.H.G., 2023. IL-17 and IL-17-producing cells in protection versus pathology. *Nat Rev Immunol*. 23, 38–54.
- Miranda, M., Balarini, M., Caixeta, D. and Bouskela, E., 2016. Microcirculatory dysfunction in sepsis: pathophysiology, clinical monitoring, and potential therapies. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 311, H24–35.
- Molano-Franco, D., Arevalo-Rodriguez, I., Muriel, A., Del Campo-Albendea, L., Fernandez-Garcia, S., Alvarez-Mendez, A., Simancas-Racines, D., Viteri, A., Sanchez, G., Fernandez-Felix, B., Lopez-Alcalde, J., Sola, I., Osorio, D., Khan, K.S., Nuvials, X., Ferrer, R., Zamora, J. and Collaborators, S.-B., 2023. Basal procalcitonin, C-reactive protein, interleukin-6, and presepsin for prediction of mortality in critically ill septic patients: a systematic review and meta-analysis. *Diagn Progn Res*. 7, 15.
- Mussbacher, M., Salzmann, M., Brostjan, C., Hoesel, B., Schoergenhofer, C., Datler, H., Hohensinner, P., Basilio, J., Petzelbauer, P., Assinger, A. and Schmid, J.A., 2019. Cell Type-Specific Roles of NF-kappaB Linking Inflammation and Thrombosis. *Front Immunol*. 10, 85.
- Nagar, H., Piao, S. and Kim, C.S., 2018. Role of Mitochondrial Oxidative Stress in Sepsis. *Acute Crit Care*. 33, 65–72.
- Nedel, W., Deutschendorf, C. and Portela, L.V.C., 2023. Sepsis-induced mitochondrial dysfunction: A narrative review. *World J Crit Care Med*. 12, 139–152.
- Orhun, G., Esen, F., Yilmaz, V., Ulusoy, C., Sanli, E., Yildirim, E., Gurvit, H., Ergin Ozcan, P., Sencer, S., Bebek, N. and Tuzun, E., 2023. Elevated sTREM2 and NFL levels in patients with sepsis associated encephalopathy. *Int J Neurosci*. 133, 327–333.
- Osuchowski, M.F., Welch, K., Siddiqui, J. and Remick, D.G., 2006. Circulating cytokine/inhibitor profiles reshape the understanding of the SIRS/CARS continuum in sepsis and predict mortality. *J Immunol*. 177, 1967–74.
- Pandey, A., Li, Z., Gautam, M., Ghosh, A. and Man, S.M., 2025. Molecular mechanisms of emerging inflammasome complexes and their activation and signaling in inflammation and pyroptosis. *Immunol Rev*. 329, e13406.
- Paver, E.C. and Morey, A.L., 2024. Biomarkers and biomarker validation: a pathologist's guide to getting it right. *Pathology*. 56, 147–157.
- Pei, F., Zhang, G.R., Zhou, L.X., Liu, J.Y., Ma, G., Kou, Q.Y., He, Z.J., Chen, M.Y., Nie, Y., Wu, J.F., Guan, X.D. and China Critical Care Immunotherapy Research, G., 2020. Early

Immunoparalysis Was Associated with Poor Prognosis in Elderly Patients with Sepsis: Secondary Analysis of the ETASS Study. *Infect Drug Resist.* 13, 2053–2061.

- Peng, K., Zhang, X., Li, Q. and Luo, Z., 2025. Presepsin as a diagnostic biomarker for sepsis across neonates, children, and adults: A meta-analysis. *Biomol Biomed.* 26, 307–319.
- Prescott, H.C., Antonelli, M., Alhazzani, W., Moller, M.H., Alshamsi, F., Azevedo, L.C.P., Belley-Cote, E., De Waele, J., Derde, L., Dionne, J.C., Evans, L., Gershengorn, H.B., Hodgson, C.L., Honarmand, K., Kesecioglu, J., McIntyre, L., Mer, M., Nunnally, M.E., Oczkowski, S.J.W., Rochwerf, B., Akinola, O.O., Akuamoah-Boateng, K.A., Alberto, L., Angus, D.C., Arabi, Y.M., Azoulay, E., Cecconi, M., Convocar, P.F., De Pascale, G., Doi, K., Du, B., Egi, M., Elie-Turenne, M.C., Ferrer, R., Fox-Robichaud, A., French, C., Freund, Y., Gong, M.N., Hale, C.P., Hammond, N.E., Hashmi, M., Heunks, L., Iwashyna, T.J., Jacob, S.T., Klompas, M., Kwizera, A., Leeies, M., Lejniaks, J.D., Levy, M.M., Machado, F.R., Maia, M.O., Masur, H., Maves, R.C., McGloughlin, S., McPeake, J., Mohr, N.M., Myatra, S.N., Ostermann, M., Peake, S.L., Pletz, M.W., Roberts, J.A., Rosa, R.G., Sawyer, R.G., Schorr, C.A., Simpson, S.Q., Weng, L., Wiersinga, W.J., Rhodes, A. and Coopersmith, C.M., 2026. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2026. *Crit Care Med.* 54, 725–812.
- Saavedra-Torres, J.S., Pinzon-Fernandez, M.V., Nati-Castillo, H.A., Cadena Correa, V., Lopez Molina, L.C., Gaitan, J.E., Tenorio-Castro, D., Lucero Guanga, D.A., Arias-Intriago, M., Tello-De-la-Torre, A., Gaibor-Pazmino, A. and Izquierdo-Condoy, J.S., 2025. Immunodynamic Disruption in Sepsis: Mechanisms and Strategies for Personalized Immunomodulation. *Biomedicines.* 13.
- Scherger, S., Henao-Martinez, A.F., Franco-Paredes, C., Ngo, B.T., Grimshaw, A., Sah, R., Shah, S., Sillau, S., Bastias, A.G., Corbisiero, M.F., Kylo, H.M., Stellern, J. and Shapiro, L., 2025. Circulating TNF-alpha levels in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis and comparison to TNF-alpha levels in sepsis. *Ther Adv Infect Dis.* 12, 20499361251368006.
- Scicluna, B.P., van 't Veer, C., Nieuwdorp, M., Felsmann, K., Wlotzka, B., Stroes, E.S. and van der Poll, T., 2013. Role of tumor necrosis factor-alpha in the human systemic endotoxin-induced transcriptome. *PLoS One.* 8, e79051.
- Seigel, T.A., Cocchi, M.N., Saliccioli, J., Shapiro, N.I., Howell, M., Tang, A. and Donnino, M.W., 2012. Inadequacy of temperature and white blood cell count in predicting bacteremia in patients with suspected infection. *J Emerg Med.* 42, 254–9.
- Silvinato, A., Lucato Dos Santos, C., Amorim, E., Floriano, I., Paciencia, L.E.M., Tristao, L.S. and Bernardo, W.M., 2025. C-reactive protein in adult sepsis: systematic review and meta-analysis. *Clinics (Sao Paulo).* 81, 100848.
- 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., Hotchkiss, R.S., Levy, M.M., Marshall, J.C., Martin, G.S., Opal, S.M., Rubenfeld, G.D., van der Poll, T., Vincent, J.L. and Angus, D.C., 2016. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 315, 801–10.
- Song, J.L., Fan, B., Qiu, L.Q., Li, Q. and Chen, G.Y., 2024. Brain natriuretic peptide as a predictive marker of mortality in sepsis: an updated systematic review and meta-analysis. *BMC Anesthesiol.* 24, 276.

- Srdic, T., Durasevic, S., Lakic, I., Ruzicic, A., Vujovic, P., Jevdovic, T., Dakic, T., Dordevic, J., Tosti, T., Glumac, S., Todorovic, Z. and Jasnic, N., 2024. From Molecular Mechanisms to Clinical Therapy: Understanding Sepsis-Induced Multiple Organ Dysfunction. *Int J Mol Sci.* 25.
- Tamayo, E., Fernandez, A., Almansa, R., Carrasco, E., Heredia, M., Lajo, C., Goncalves, L., Gomez-Herreras, J.I., de Lejarazu, R.O. and Bermejo-Martin, J.F., 2011. Pro- and anti-inflammatory responses are regulated simultaneously from the first moments of septic shock. *Eur Cytokine Netw.* 22, 82–7.
- Tong-Minh, K., Welten, I., Endeman, H., Hagenaars, T., Ramakers, C., Gommers, D., van Gorp, E. and van der Does, Y., 2021. Predicting mortality in adult patients with sepsis in the emergency department by using combinations of biomarkers and clinical scoring systems: a systematic review. *BMC Emerg Med.* 21, 70.
- Valsamaki, A., Vazgiourakis, V., Mantzaris, K., Manoulakas, E. and Makris, D., 2025. Immune Dysregulation in Sepsis. A Narrative Review for the Clinicians. *Biomedicines.* 13.
- Varga, N.I., Bagiu, I.C., Vulcanescu, D.D., Lazureanu, V., Turaiche, M., Rosca, O., Bota, A.V. and Horhat, F.G., 2025. IL-6 Baseline Values and Dynamic Changes in Predicting Sepsis Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomolecules.* 15.
- Vella, R., Panci, D., Carini, F., Malta, G., Vieni, S., David, S., Albano, G.D., Puntarello, M., Zerbo, S. and Argo, A., 2025. Cytokines in sepsis: a critical review of the literature on systemic inflammation and multiple organ dysfunction. *Front Immunol.* 16, 1682306.
- Yang, X., Meegan, J.E., Jannaway, M., Coleman, D.C. and Yuan, S.Y., 2018. A disintegrin and metalloproteinase 15-mediated glycoalyx shedding contributes to vascular leakage during inflammation. *Cardiovasc Res.* 114, 1752–1763.
- Yigit, E., Simsek, M.A., Huner Yigit, M., Akca, G., Sonmez, B. and Uzun, H., 2025. Is GDF15 a Feasible Biomarker in Sepsis? *Diagnostics (Basel).* 15.
- Zhang, N., Liu, Y., Yang, C. and Li, X., 2024. Review of the Predictive Value of Biomarkers in Sepsis Mortality. *Emerg Med Int.* 2024, 2715606.
- Zhuo, M., Fu, S., Chi, Y., Li, X., Li, S., Ma, X. and Li, X., 2024. Angiopoietin-2 as a prognostic biomarker in septic adult patients: a systemic review and meta-analysis. *Ann Intensive Care.* 14, 169.