

Systemisk inflammasjon etter traume:

Alarminer som aktivatorer av
immunresponsen – med fokus på HMGB1

- *en litteraturstudie* -



Prosjektoppgave på profesjonsstudiet i medisin

Forfatter: Stud.med. Erlend Skaga, kull V09, Universitetet i Oslo

Veileder: Seniorforsker overlege dr.med. Torsten Eken, Avd. for anesthesiologi, OUS, Ullevål

Institutt: Det medisinske fakultetet, Universitetet i Oslo

UiO : Det medisinske fakultet

ABSTRACT

Objectives: Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) is commonly seen after sterile traumatic injury and may lead to multiple organ failure and death. Endogenous molecules termed alarmins are released following cellular stress or injury and activate the response. This literature review will discuss the mechanisms in immune system activation after trauma and compare to similar mechanisms in sepsis, with special focus on High mobility group box 1 (HMGB1). Possible future treatment options will also be briefly discussed.

Methods: The review is based on (1) papers identified from search in PubMed, (2) papers received from my supervisor of the review, and (3) papers identified from citation lists from the papers after (1) and (2).

Results: Activation and maintenance of the immune response after trauma and in sepsis involves the same receptors and signalling pathways, but different initial activators. Several endogenous molecules have shown alarmin characteristics both *in vitro* and *in vivo*, and preclinical studies with blockade of specific alarmins have shown promising results in reducing morbidity and mortality.

Conclusion: Our understanding of mechanisms in the immune activation after trauma is insufficient, but improving. Identification of alarmins and their role in post-traumatic SIRS opens possibilities for future immune modulation also after traumatic injury, hopefully reducing the extent of inflammation, multiple organ failure, and death.

INNHALDSFORTEGNELSE

1. Innledning	s. 4 – 7
1.1 Valg av oppgave	s. 4
1.2 Introduksjon	s. 4 – 7
2. Materiale og metode	s. 7 – 8
3. Teoridel	s. 8 – 30
3.1 SIRS	s. 8 – 9
3.2 Sepsis	s. 9 – 10
3.3 Aktivering av immunforsvaret ved sepsis	s. 10 – 11
3.4 SIRS og flerorgansvikt ved traume sammenlignet med sepsis	s. 12 – 15
3.5 The Danger Model	s. 15 – 17
3.6 Alarminer	s. 17 – 18
3.7 Aktivering av immunforsvaret ved traume	s. 18 – 20
3.8 HMGB1	s. 20 – 25
3.9 Andre alarminer	s. 25 – 30
3.9.1 Mitokondrielle DAMPs	s. 25 – 26
3.9.2 Histoner	s. 26 – 27
3.9.3 S100-proteiner	s. 28
3.9.4 IL-33	s. 28 – 29
3.9.5 Heat shock proteiner	s. 29 – 30
4. Konklusjon	s. 30 – 32
5. Referanser	s. 32 – 35

1. INNLEDNING

1.1 Valg av oppgave

Jeg er interessert i fagfeltene traumemedisin, intensivmedisin og biokjemi, som alle er sentrale temaer i denne oppgaven. Teorien om endogene molekyler som aktivatorer av immunforsvaret er et ganske nytt felt der kunnskapen om molekylære mekanismer i aktiveringen er raskt økende. Å skrive oppgave om dette gir meg mulighet til et dykk ned i kunnskapsmaterialet innen patofysiologiske mekanismer for en systemisk inflammasjonsrespons hos den hardt skadde pasienten. Denne responsen er en steril inflammasjon som kan lede til flerorgansvikt, som er den viktigste årsaken til død på en intensivavdeling. Nærmere forståelse om kroppens egne substanser som potente aktivatorer av immunforsvaret gir en mulighet for at de endogene molekylerne kan bli terapeutiske mål i modulering av immunresponsen etter et traume. Det kan gi nye behandlingsmetoder og forhåpentligvis bidra til at flere traumepasienter kan overleve i sykdomsforløpet etter skade. Målet med oppgaven er å gi en liten oversikt over systemisk inflammasjon etter traume og kunnskapsgrunnlaget rundt alarminers rolle i aktiveringen av immunforsvaret. Arbeidet med oppgaven har vært meget interessant. Takk til min veileder, Torsten Eken, for bidrag med litteraturgrunnlag til oppgaven og verdifulle innspill i utforming og innhold.

1.2 Introduksjon

Traume er en av hovedårsakene til tidlig død, både i Norge og internasjonalt. I Norge er voldsomme dødsfall hovedårsaken til død i aldersgruppen 0–44 år ². Selv om den hardt skadde pasienten overlever de direkte skadene forårsaket av traumet (organskade, forblødning), og kommer levende til sykehus, har pasienten en betydelig mortalitet grunnet en massiv post-traumatisk inflammasjonsrespons og risiko for flerorgansvikt. I forløpet av en traumatisk skade er en slik systemisk inflammasjonsrespons (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS) vanlig og skyldes en aktivering av det medfødte immunforsvaret ^{6, 8, 42}. Fysiologisk er formålet med en inflammasjonsrespons å redusere ytterligere skade og fremskynde tilheling ^{8, 13}. Hos alvorlig skadde pasienter kan denne immunologiske ertsresponsen imidlertid brikke over til en massiv og overveldende inflammasjonsrespons som leder til skade på organer som ikke var skadet ved selve traumet ⁵, organsvikt og død. En dysfunksjonell systemisk inflammasjonsrespons er en sentral del i patofysiologien rundt flerorgansvikt ^{7, 17}. Flerorgansvikt er ansvarlig for opp mot 80% av alle dødsfall på en intensivavdeling og er den ledende årsaken til død hos den hardt skadde pasienten som

overlever de første timene etter et traume^{5, 10}. SIRS forårsaket av traume har mange kliniske fellestrekk med SIRS forårsaket av en infeksjon som ses ved sepsis. Mekanismene bak immunaktiveringen ved bakteriell sepsis er nøye studert¹⁴, men foreløpig er mekanismene bak post-traumatisk SIRS ukjente. Tilstedeværelse av systemisk inflammasjon etter traume, i fravær av en mikrobiell årsak til immunaktiveringen, har medført at man leter etter endogene molekyler som frigis ved vevsskade og som kan aktivere kroppens medfødte immunforsvar og dermed lede til den massive systemiske inflammasjonen, kalt steril SIRS. Flere endogene molekyler, benevnt alarminer, er beskrevet, men deres eksakte rolle i post-traumatisk systemisk inflammasjonsrespons er ikke fullstendig klarlagt^{8, 13, 15, 16}.

Epidemiologi av traumatiske dødsfall

I Norge døde 2 424 av voldsomme dødsfall (ulykker, selvmord, drap) i 2012¹. I 2000 ble det estimert at ca 5 millioner mennesker i verden døde grunnet traume, i andre tall: ca 13 700 per dag³. Voldsom død er den ledende årsaken til død for personer under 44 år i Norge og USA^{2, 4} og i verden dør flere personer mellom 0–40 år av traumer enn av alle andre sykdommer⁵. Traumer står for 9% av antall dødsfall i verden per år. Voldstraumer står bak ca 50% av traumatiske dødsfall, veitrafikkulykker ca 25%, selvforskyldt vold ca 16%, fallulykker ca 6% og brannskader ca 5%^{3, 6}. De fleste av disse skjer i utviklingsland, men voldsomme dødsfall er blant de 10 viktigste dødsårsakene i industrialiserte land^{1, 4}.

Inndeling av dødsårsak etter traume

Selv om den hardt skadde pasienten ankommer sykehus i live, har pasienten en betydelig mortalitetsrisiko. Den samlede mortalitet for traumepasienter i Traumeregisteret ved Oslo universitetssykehus Ullevål er på 6,6%³⁴. Årsaker til død hos traumepasienter kan deles inn i to hovedkategorier; 1) direkte relatert til traumet/primære årsaker (stor organskade, forblødning eller massiv traumatisk hjerneskade/hjernestammeskade) eller 2) senere/sekundære årsaker grunnet en massiv systemisk inflammatorisk reaksjon (SIRS), forstyrret mikrosirkulasjon og flerorgansvikt (multiple organ failure, MOF)⁵.

Tidsfordeling av dødsfall

Død etter traume er historisk beskrevet i en tredelt distribusjon som funksjon av tid etter skadetidspunktet⁷⁶. I denne tredelingen skjer over 50% av dødsfall innen en time fra skadetidspunkt ("immediate deaths") og ytterligere 10–30% i løpet av noen timer etter skade ("early deaths"). Noen trekker denne tidsperioden inntil ett døgn etter skade⁸. Mekanismer

for død i de to første fasene er de primære årsaker/direkte relatert til traumet. Resterende dødsfall (20–40%) er traumepasientene som initialt overlever de første fasene, men som så dør av senere/sekundære årsaker og store komplikasjoner som immunologisk dysfunksjon og flerorgansvikt^{8,24}. En topp av sene dødsfall er historisk omtalt som "late deaths" og ses flere dager/uker etter selve traumet⁷⁶. Med bedre behandling av pasientene har denne tredelte distribusjonen av død etter traume vist seg å ikke være fremtredende i moderne traumemedisin^{12,74}. Det er fortsatt en initial topp av dødsfall (ca 50%) som representerer død hos den hardt skadde pasienten innen en time fra skadetidspunkt, men deretter er det en raskt fallende kurve som ikke har tydelig nye "topper" av dødsfall. Dødsfall > 1 time fra skadetidspunkt sprer seg dermed utover tidsaksen. Død etter traume viser også forskjeller avhengig av hvilke organer som er skadet i selve traumet, traumets omfang, pasientens alder og skademekanisme. For pasienter som overlever første døgn etter skade er flerorgansvikt den ledende dødsårsaken på intensivavdelingen^{5,8}. Insidens og mortalitet ved flerorgansvikt hos multitraumatiserte pasienter varierer i ulike studier. Insidenser er rapportert fra under 10% til over 60%^{9,13}, mens mortalitet ved flerorgansvikt er rapport fra 35% opp til 83%^{5,11}. Flere studier har en mortalitet rundt 35–40%¹¹. Generelt kan man si at mortalitet ved organsvikt øker jo flere organer som affiseres^{9,10}.

Hvorfor er kunnskap om dette viktig?

For å redusere traumerelaterte dødsfall må forebyggende tiltak iverksettes (midtdeler av veier, forebygging av vold). Videre vil skadebegrensende tiltak (bedre kollisjonssikring av kjøretøy m.v) redusere den initiale toppen av død. For å redusere dødsfall etter den initiale fasen må behandlinglingskvaliteten i hele redningskjeden fra skadested til intensivbehandling bedres. Det er sannsynlig at tidlig iverksatt aggressiv resuscitering og optimalisering av oksygentransport vil redusere antall dødsfall på intensivavdeling senere i forløpet (10). For å bedre intensivbehandlingen er kunnskap om mekanismene bak den sterile immunaktivering etter traume viktig. Økt kunnskap om de patofysiologiske mekanismene som ligger bak utviklingen av disse sene årsakene til død kan medføre muligheter til å kunne modulere immunresponsen på intensivavdelingen. Alarminer ser ut til å være sentrale molekyler i utviklingen av inflammasjonsresponsen. Ytterligere kunnskap om alarminers molekylære effekter og deres rolle i aktiveringen av vertens immunforsvar, eventuelt med SIRS og flerorgansvikt som konsekvens, kan medføre nye og bedre behandlingsstrategier og mulig økt overlevelse ved å redusere, eller om mulig unngå, de sene/sekundære årsakene til død hos traumepasienter.

Hva vil denne oppgaven handle om?

Oppgaven vil ta for seg noe av kunnskapsgrunnlaget rundt utviklingen av SIRS etter traume. Jeg vil sammenligne mekanismer bak immunaktivering ved sepsis med mekanismer bak immunaktivering ved traume. Videre vil oppgaven gå inn på det teoretiske grunnlaget for at alarminer kan aktivere immunforsvaret, samt gå inn på noen alarminer som ser ut til å spille en viktig rolle i aktiveringen av immunforsvaret etter traume.

2. MATERIALE OG METODE

Oversikt:

Prosjektoppgaven er en litteraturstudie som inkluderer fagfeltene biokjemi, immunologi, intensivmedisin og traumatologi. Oppgaven er basert på en gjennomgang av relevant norsk- og engelskspråklig medisinsk litteratur etter søk i medisinske databaser.

Kunnskapsgrunnlag:

Kunnskapsgrunnlaget for oppgaven er innhentet på fire ulike måter:

- 1) Usystematiske søk i PubMed i perioden juni 2012 til februar 2014.
- 2) Artikler anbefalt av veileder Torsten Eken
- 3) Relevante referanser fra artiklene etter 1) og 2).
- 4) Pyramidesøk i McMaster Plus via www.helsebiblioteket.no

Valg av litteratur etter usystematiske søk ble gjort på bakgrunn av overskrift og abstrakt, der relevante artikler ble inkludert etter en skjønnsmessig vurdering. De inkluderte arbeidene er både originalartikler og oversiktsartikler. Det er søkt i PubMed og Tidsskrift for Den norske legeforening.

Definisjoner av sepsis og SIRS er hentet fra UpToDate etter pyramidesøk via [helsebiblioteket.no](http://www.helsebiblioteket.no). Tallmateriale er hentet fra Statistisk sentralbyrå (SSB), helse rapporter, Traumemanualen for Oslo universitetssykehus, Ullevål og primærstudier. Alle kilder er oppgitt der de er brukt.

Søkestrategi i PubMed:

I PubMed ble mange ulike søkeord er benyttet. Alle søkeordene under er søkt enkeltvis samt med forbindelsesord "AND" sammen med ordet "trauma", eksempelvis "Alarmins AND Trauma".

Søkeord benyttet i PubMed er:

"Alarmins", "SIRS", "MOF", "Multi organ failure", "SIRS AND MOF", "Alarmins AND SIRS", "DAMPs", "HMGB1", "High mobility group box 1", "mtDNA", "S100", "S100B", "S100B AND TBI", "Heat shock proteins", "HSP", "Interleukin-33", "IL-33", "histones".

Søkeord som omfattet de andre alarminene som omtales i oppgaven (HSP, IL-33, S100, histoner, mtDNA) er søkt opp i februar 2014, siste søk utført 24/2-2014. Det er ikke ført protokoll over antall treff i PubMed under de enkelte søkene. I etterkant har jeg sett at noen av søkene har vært litt smale (eksempelvis (1) søkt på "alarmins" og ikke "alarmin", der jeg i etterkant har sett at søket på "alarmins" ikke gir treff på artikler som har "alarmin" i tittelen; (2) "Multi organ failure" gir langt færre treff enn "multiple organ failure").

Totalt sett mener jeg likevel at utvalgte artikler etter søk sammen med anbefalte artikler fra veileder og relevante referanseartikler utgjør et godt litteraturgrunnlag til å kunne gi en oversikt over temaene jeg har hatt som mål å omtale i oppgaven.

Totalt er 115 *artikler* inkludert i litteraturstudien. Av disse er 46 valgt ut etter usystematisk søk i medisinske databaser, 19 er anbefalt av veileder og 50 artikler er valgt ut fra referansegjennomgang. Resterende referanser er fra SSB, UpToDate og helse rapporter.

3. TEORIDEL

3.1 Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)

I forløpet av blant annet infeksjoner, traumer, brannskader og kirurgi kan det oppstå en massiv systemisk inflammasjonsrespons som betegnes som Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS. SIRS er et syndrom som er en konsekvens av en dysregulert inflammatorisk respons på en infeksiøs eller non-infeksiøs trussel ²⁰. Den klassiske definisjonen av SIRS stammer fra 1992 da *Bone et al.* ¹⁸ i et samarbeidet med American College of Chest Physicians (ACCP) og Society of Critical Care Medicine (SCCM) definerte sepsis og flerorgansvikt. De definerte at en pasient har SIRS dersom minst to av følgende kriterier er oppfylt;

- Høy eller lav temperatur, $>38\text{ }^{\circ}\text{C}$ eller $<36\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Takykardi, $>90/\text{min}$
- Takypne, frekvens $>20/\text{min}$ eller $\text{PaCO}_2 <4,3\text{ kPa}$
- Høye eller lave hvite blodlegemer, $>12 \times 10^9/\text{l}$ eller $<4 \times 10^9/\text{l}$, eller $>10\%$ umodne nøytrofile (stavkjernede)

Tanken bak definisjonen av SIRS var å lage et sett av kliniske parametre som var lette å måle for tidlig å kunne sortere ut potensielle pasienter til deltakelse i kliniske utprøvningsprosesser av nye behandlinger av sepsis. Definisjonen var derfor basert på basale kliniske og laboratoriemessige avvik som var tilgjengelige i de fleste kliniske settinger. Definisjonen skulle ha en høy grad av sensitivitet sammen med en akseptabel grad av spesifisitet ¹⁹.

3.2 Sepsis

Sepsis er etter *Bone et al.*¹⁸ definert som SIRS med klinisk infeksjon. Dette omtales som den klassiske definisjonen av sepsis. Definisjonen har høstet en del kritikk grunnet for lav spesifisitet. De patologiske måleresultatene på de kliniske parametrene i SIRS-definisjonen ses ved en rekke kliniske tilstander og er ikke spesielt særegne for sepsis ¹⁹. Definisjonene av sepsis ble i 2001 revurdert og endret ved representanter fra ACCP, SCCM, American Thoracic Society (ATS), European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) og Surgical Infection Society (SIS) ^{19,21}. Men den klassiske definisjonen av sepsis benyttes fortsatt, der SIRS-kriteriene anses som et funksjonelt verktøy for tidlig identifisering av den pasientpopulasjonen som står i fare for å utvikle sepsis og potensielle komplikasjoner til dette ^{19,35}.

Det kliniske forløpet av sepsis er et kontinuum med økende alvorlighetsgrad fra systemisk inflammasjon (SIRS) til flerorgansvikt (Multiple organ failure, MOF). Er det sepsis med tillegg av organdysfunksjon, hypoperfusjon eller hypotensjon blir det betegnet alvorlig sepsis. Dersom det i tillegg til alvorlig sepsis er volumresistent hypotensjon blir det betegnet septisk sjokk. Siste stadium i "sepsis-kaskaden" omtales som flerorgans dysfunksjonssyndrom (Multiple organ dysfunction syndrome, MODS) eller flerorgansvikt (MOF) og defineres som progressiv reduksjon av organfunksjon i en akutt syk pasient slik at homøostase ikke kan opprettholdes uten intervensjon ^{19,20}.

Mortalitet ved sepsis

Dødeligheten øker gradvis med økende alvorlighetsgrad av sepsis. I en studie var mortaliteten av SIRS, sepsis, alvorlig sepsis og septisk sjokk henholdsvis 7, 16, 20 og 46%²². En annen prospektiv mutisenterstudie har vist samme trend med dødelighet for sepsis, alvorlig sepsis og septisk sjokk på henholdsvis 27, 32 og 54%²³. Generelt anses septisk sjokk å ha en mortalitet på 50% eller høyere¹⁴. Flerorgansvikt er den ledende årsaken til død i en intensivavdeling^{5,10}.

3.3 Mekanisme for aktivering av immunforsvaret ved sepsis

For bakteriell sepsis er mekanismene bak aktiveringen av kroppens medfødte immunforsvar nøyere studert. Strukturelle bakterielle komponenter interagerer med reseptorer (Pattern Recognition Receptors, PRR) på celler (endotelceller, nøytrofile granulocytter og monocytter) eller andre komponenter (komplementsystemet) i det medfødte immunforsvaret. Disse bakterielle komponentene som gjenkjennes av immunforsvaret kalles pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)¹⁴. Flere PAMPs er identifisert som lipopolysakkarider (LPS, også kalt endotoksin) fra Gram-negative bakterier, peptidoglykan og lipoteikoinisyre (LTA) fra Gram-positive bakterier, flagellin og spesielle komponenter i bakterielt DNA^{14,25}. PRRs er en fellesbetegnelse for reseptorer hos det medfødte immunforsvarets effektorceller (makrofager, nøytrofile granulocytter, dendrittiske celler) som gjenkjenner PAMPs. Toll-like reseptorer (TLR) er en gruppe membranbundne PRRs som gjenkjenner PAMPs med etterfølgende syntese av cytokiner og aktivering av det medfødte immunforsvaret. TLRs er også sentrale i aktiveringen av de adaptive immunresponsene. TLR representerer dermed en essensiell del i vertens "førstelinjeforsvar" mot patogener samtidig som de har viktige roller både i aktiveringen av den medfødte og den adaptive immunresponsen³⁹. 11 ulike TLRs er identifisert hos mennesker³⁹ og de har et bredt spektrum av ligandspesifisitet for ulike komponenter fra bakterier, virus og sopp. Som en forenklet inndeling kan man si at TLR4 er reseptoren som gjenkjenner LPS, TLR2 hovedsakelig gjenkjenner celleveggstrukturer i Gram-positive bakterier, TLR5 gjenkjenner flagellin og TLR9 gjenkjenner spesielle strukturer i bakterielt DNA¹⁴. Binding mellom ulike PAMPs og ulike TLRs aktiverer mange forskjellige intracellulære signalveier, men felles for dem (unntak: TLR3) er at de har en felles aktivator i MyD88 som medfører translokasjon i kjernen av nuclear factor- κ B (NF- κ B) og aktivering av cytokinproduksjon i cellen via mitogen-aktivert protein kinase (MAPK), tumor nekrose-faktor (TNF) reseptor-assosiert faktor 6 (TRAF6) og IL-1 reseptor-assosiert kinase (IRAK)^{39,41}. Det leder til utslipp av klassiske pro-inflammatoriske cytokiner som IL-1, IL-6 og TNF- α , samt

flere andre (IL-12, IL-15 og IL-18) som videre aktiverer både det medfødte og adaptive immunforsvaret og medierer sekundære responser i inflammasjonsprosessen via nye cytokiner, lipidmediatorer (prostaglandiner, leukotriener, platelet-activating factor med flere), kjemokiner (IL-8 med flere) og oksygenradikaler (NO med flere). Effektene av dette er blant annet oppregulering av flere TLRs som ytterligere øker immunresponsen og aktiverer effektorceller, oppregulering av celle-adhesjonsmolekyler slik at effektorceller kan migrere til vevet, samt endringer i endotelets permeabilitet. PAMPs kan også direkte aktivere komplementsystemet via den alternative aktiveringsveien, og cytokiner er viktige aktivatorer av koagulasjonssystemet som gir en pro-koagulant effekt. I sum har effektene som hensikt å destruere den mikrobielle trusselen så raskt som mulig ^{14,25}.

Utviklingen av flerorgansvikt ved sepsis

Den inflammatoriske responsen blir modifisert av anti-inflammatoriske (regulatoriske) molekyler som prøver å gjenskape immunologisk likevekt. De anti-inflammatoriske mekanismene inkluderer antagonister til de pro-inflammatoriske cytokinene, inhiberende reseptorer, inaktivatorer av komplementsystemet og anti-inflammatoriske cytokiner (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13) ^{6,14,25} som gir en signifikant nedregulering av inflammasjonen. I patogenesen for utviklingen av flerorgansvikt ved sepsis er det en teori at det foreligger dissonans mellom den pro-inflammatoriske responsen som gir SIRS og den regulatoriske anti-inflammatoriske motresponsen. Domineres responsen av pro-inflammatorisk aktivitet medfører det en progressiv endoteldysfunksjon, økt mikrovaskulær permeabilitet og koagulopati ¹⁹. Blir en kompensatorisk respons dominerende medfører det immunologisk suppresjon og verten blir mer mottakelig for sekundære infeksjoner som kan re-initiere den septiske kaskaden. En tidlig vertsrespons, av det medfødte immunforsvaret til invaderende infeksiøse patogener, er sentral for at verten skal kunne bekjempe den inntrengende trusselen og regenerasjon skal igangsettes. En for stor stimulering av TLRs leder til en massiv pro-inflammatorisk tilstand og en dysfunksjonell inflammasjon som kommer ut av kontroll. Det kan medføre celledskade, vevsskade og organsvikt – som ses i det kliniske forløpet av sepsis. Flerorgansvikt er endepunktet i sepsis der en dysregulert immunologisk reaksjon er sentral i patogenesen og vevshypoperfusjon og vevshypoksi er dominerende faktorer i mekanismen bak organsvikt ^{14,19}.

3.4 SIRS og flerorgansvikt ved traume sammenlignet med sepsis

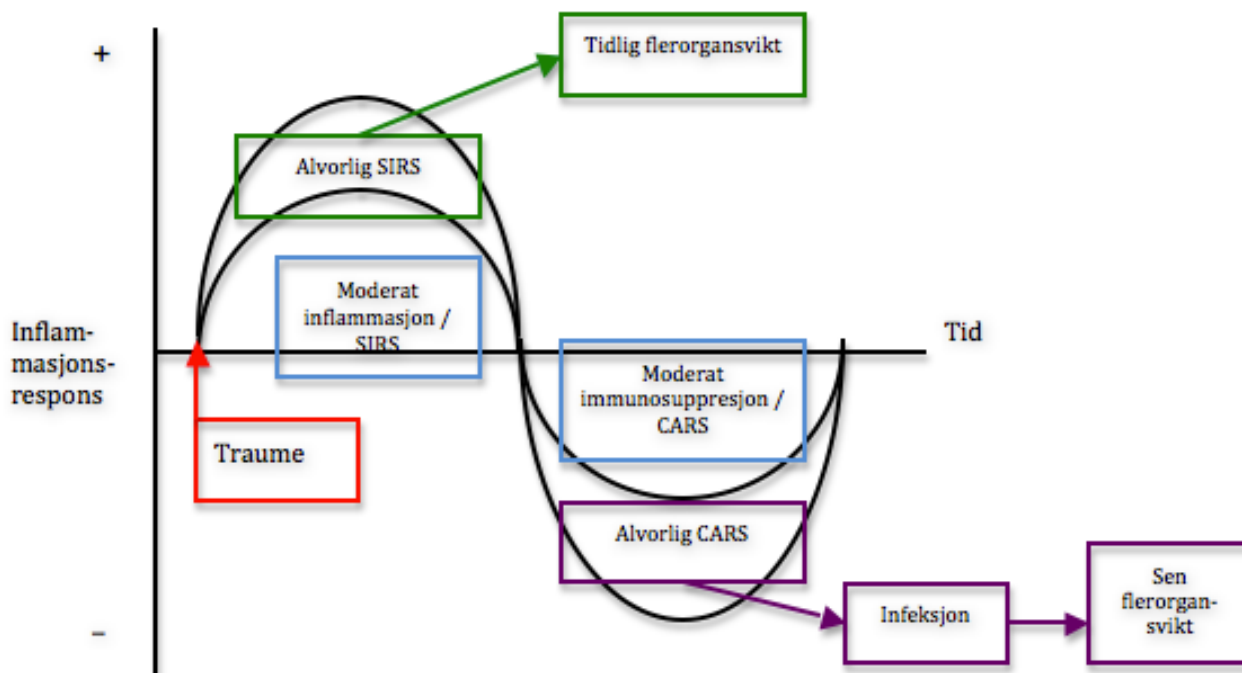
På lik linje som SIRS ved sepsis er SIRS etter traume forbundet med en hyperstimulering av det medfødte immunforsvaret. En slik immunrespons ses ofte etter større traumer. I både SIRS ved sepsis og SIRS ved traume er det de samme pro-inflammatoriske mediatoene som er involvert (IL-1, IL-6, TNF- α med flere). Aktiveringen av immunforsvaret etter traume er i utgangspunktet nødvendig for hemostase, beskyttelse mot invaderende mikroorganismer og initiering av reparasjon og regenerasjon av ødelagt vev⁸, men fungerer også som en nødvendig respons for å beskytte verten mot opportunistiske infeksjoner³⁶.

Inflammasjonsresponsen post-traumatisk korrelerer med alvorlighetsgraden av traumet og en større respons er assosiert med dårligere utkomme for pasienten³¹. Den sterile SIRS-responsen kan medføre organsvikt, som ved sepsis, og har høy mortalitet. Ekvivalent til økende alvorlighetsgrad ved sepsis, betegnes også økende alvorlighetsgrad av SIRS etter traume som alvorlig SIRS (organdysfunksjon, hypoperfusjon eller hypotensjon), SIRS komplisert med sjokk (volumresistent hypotensjon) og flerorgansvikt (MOF) etter traume. Mortaliteten øker med alvorlighetsgraden av SIRS. Mortalitet ved flerorgansvikt viser varierende tall, men er rapport til å være så høy som over 80%¹¹. Viktig er det at mortaliteten øker jo flere organer som svikter^{9,10}.

Tidlig og sen flerorgansvikt

Den hyperstimulerte immunresponsen (SIRS) etter traume er tradisjonelt beskrevet å være regulert av en motrespons med anti-inflammatoriske mediatorer av det adaptive immunforsvaret, kalt Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome (CARS). De anti-inflammatoriske mediatoene i CARS-responsen er de samme som ved sepsis¹⁷ (se tidligere). *Moore et al.*^{9,26} beskrev disse to responsene i et sekvensielt bilde der det initialt etter traume var en dominerende hyperstimulering av immunforsvaret (SIRS-respons) som etter en tid gikk over til en dominerende immunsuppresjon (CARS-respons) (**Figur 1**). Med utgangspunkt i denne sekvensielle modellen av immunresponsen etter traume, lagde de en bimodal modell for tidlig (første 3 dager) eller sen (> 4 dager) flerorgansvikt etter traume ettersom flerorgansvikt viste to ulike "topper" i sykdomsforløpet. Forskjeller mellom tidlig og sen flerorgansvikt baserte seg på ulikheter i patofysiologien, organaffeksjon og mortalitet. De beskrev at tidlig flerorgansvikt ("early MOF") oftere ses ved større traumer som raskt etterfølges av en massiv inflammatorisk respons som leder til organsvikt. Ved tidlig flerorgansvikt var det ofte respirasjonssystemet som sviktet, etterfulgt av kardiovaskulær dekompensasjon og nyresvikt. Leversvikt presenterte seg oftere sent i et organsviktførløp^{9,11}.

Sen flerorgansvikt ("late MOF") så man oftere hos en traumepasient som ble utsatt for flere kroppslige stressepisoder i sykdomsforløpet, eksempelvis ytterligere operasjoner, iskemi-reperfusjonsskader eller post-traumatiske infeksjoner. Mens det ved tidlig organsvikt var en hyperinflammasjon, var det ved sen organsvikt et skift til en dominerende immunosuppresjon⁸ slik at både pågående SIRS og sepsis etter CARS kan gi flerorgansvikt¹⁷.



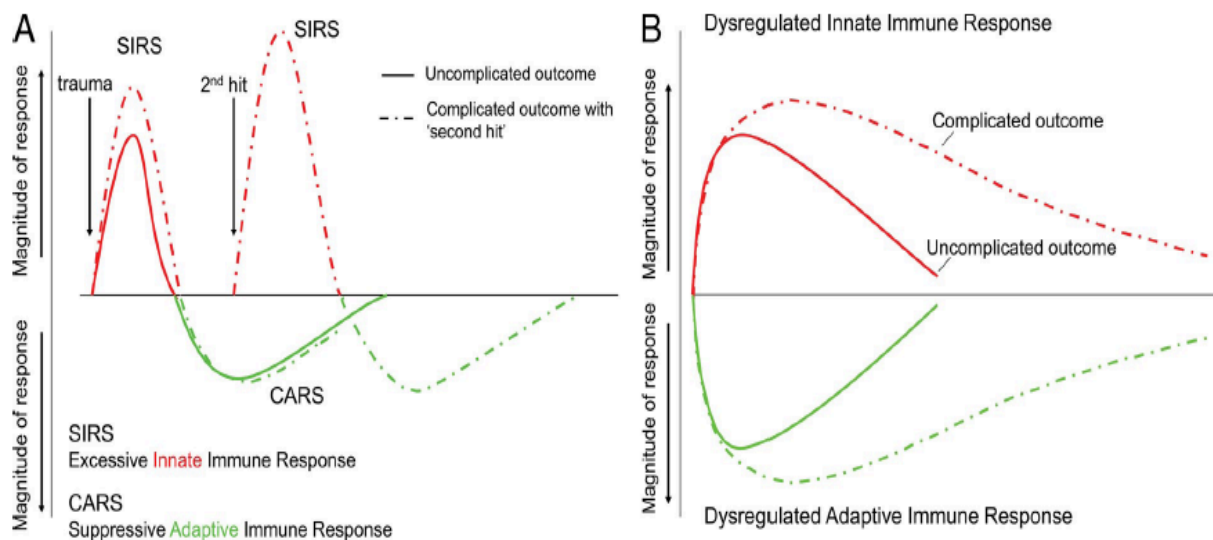
Figur 1. Skisse av Moore et al.⁹ sin sekvensielle modell for post-traumatisk immunrespons og flerorgansvikt.

En regulatorisk anti-inflammasjonsrespons er tenkt som sentral for kontrollere inflammasjon, for å gjenskape immunologisk likevekt og til å fremme tilheling. Men samtidig vil en immunosuppresjon gjøre pasienten mer mottakelig for sekundære infeksjoner etter traume som kan medføre sepsis, septisk sjokk og flerorgansvikt. Slike infeksjoner sent i sykdomsforløpet omtalte Moore et al.^{9,26} som "second hits" hos traumepasienten. Pasienter som utviklet sen flerorgansvikt hadde 3–4 ganger høyere dødelighet enn pasienter med tidlig flerorgansvikt⁵.

Flerorgansvikt hos den hardt skadde pasienten i moderne traumemedisin

Modellen om tidlig og sen flerorgansvikt etter Moore et al.⁹ har i senere tid ikke vist seg å gjelde i moderne traumemedisin. Flerorgansvikt er fortsatt vanlig etter store skader, men viser ikke to "topper" som tidligere beskrevet. Flerorgansvikt ses nå tidlig (få dager) etter traume etterfulgt av en rask nedgang og viser ikke en sen bimodal distribusjon som historisk

beskrevet ⁷⁷. I studien til *Minei et al.* ⁷⁷ rapporterte de også at nosokomiale infeksjoner hos den hardt skadde pasienten hadde en forekomst på 50% og at flerorgansvikt var en risikofaktor for infeksjon, mens infeksjon ikke var assosiert med påfølgende utvikling av flerorgansvikt. I deres studie viste ikke en infeksjon å kunne gi mønsteret i form av "second hits" som tidligere beskrevet. *Minei et al.* tilskriver den sene toppen av organsvikt ("late MOF") som ble sett på 90-tallet til intensivmedisinske behandlingsmetoder som senere har vist seg å være til skade for pasienten og som dermed er blitt endret. Med økt kunnskap rundt immunresponsen etter traume er det nå også foreslått en ny forklaringsmodell ⁷³ (**Figur 2**) som erstatning for den tidligere sekvensielle SIRS-CARS-modellen til Moore (**Figur 1**). *Xiao et al.* ⁷³ viser i sin studie av gentranskripsjon etter traume at en det er en simultan og rask stimulering av gener for en inflammasjonsrespons i det medfødte immunforsvaret og en suppresjon av det adaptive immunforsvaret. Aktiveringen av pro-inflammatoriske og anti-inflammatoriske gener skjer dermed samtidig og de to responsene starter simultant. Den nye modellen forklarer også at komplisert utkomme (complicated outcome), som organsvikt og død, er assosiert med at verten forblir i en forlenget fase av en dysregulert inflammatorisk respons i sykdomsforløpet. Denne dysregulerte responsen kan enten være i form av en forlenget hyperinflammasjon eller som en forlenget immunosuppresjon (**Figur 2**). *Xiao et al.* foreslår et nytt paradigme med sin redefinering av immun- og inflammasjonsresponsen etter traume.



Figur 2. (A): Tradisjonell sekvensiell forklaringsmodell for SIRS og CARS med illustrasjon av såkalte "second hits/2nd hit" som gir hyperinflammasjon og organsvikt som komplisert utkomme. (B) Ny forklaringsmodell som viser simultan aktivering av en pro-inflammatorisk og en anti-inflammatorisk immunrespons, der komplisert utkomme skyldes at pasienten forblir i en

forlenget fase i en av responsene omtalt som en dysregulert immunrespons. Figur reproduert uendret fra Xiao et al. ⁷³, lisensiert under <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>

Teoretiske grunnlaget for alarminer i immunologi

Det lignende klinisk bilde ved sepsis og hos den mulittraumatiserte pasienten som overlever første døgn etter skadetidspunkt ⁸ har ledet til at man har forsøkt å påvise en mikrobiell årsak til den inflammatoriske responsen hos den hardt skadde pasienten. Men det er nå generell aksept for at den systemiske inflammasjonen etter traume er steril ¹³. Aktiveringen av en massiv systemisk inflammatorisk respons etter traume, i fravær av mikrobiell årsak, har ledet til teorien om at det er endogene molekyler som er årsaken til og trigger immun- og inflammasjonsresponsen ¹⁶. Disse triggermolekylene omtales som alarminer og anses som "faresignaler" for kroppens immunforsvar som signaliserer vevsskade og initierer den inflammatoriske responsen ⁸. Det teoretiske grunnlaget for at endogene molekyler kan aktivere immunforsvaret ble fremsatt av *Matzinger* i 1994 med hennes modell, *The Danger Model*, om at kroppens immunforsvar aktiveres av faresignaler (danger signals) som skyldes indre eller ytre trusler, og ikke bare av "fremmed" materiale (non-self material) fra trusler som invaderer verten ²⁸.

3.5 The Danger Model

Tradisjonell teori om immunaktivering stammer fra *Burnets* teori om "fremmed versus eget" (self/non-self-theory) ^{27,29}. Teorien går ut på at kroppens immunceller kan skille mellom egne og fremmede antigener for aktivering av immunforsvaret. "Det egne" defineres tidlig i livets begynnelse. Kroppen har dermed toleranse for "det egne" og angriper "det fremmede" ^{27,28}. Etter oppdagelse av at lymfocytter trenger en ko-stimulering for aktivering fra en antigenpresenterende celle (APC), og at APC ikke er antigenspesifikke, men presenterer alt "eget" og "fremmed" materiale, ble det et problem for modellen om "fremmed versus eget" å forklare hvordan immunaktivering *kun* skjedde mot "fremmed" materiale. Teorien om "fremmed versus eget" ble da modifisert av *Janeway* etter oppdagelse av at APC aktiveres via PRRs (Pattern recognition receptors) som gjenkjenner patogene bakterielle komponenter, PAMPs (Pathogen associated molecular patterns) ^{27,29,30}. APC vil så kunne presentere bakterielle antigener til lymfocytter (T-celler), og dermed medføre at immunforsvaret aktiveres ved binding til infeksiosøst fremmed materiale (infectious non-self theory). På denne måten kan immunforsvaret skille patogene infeksiose antigener (infectious non-self) fra non-infeksiose (noninfectious-self) antigener presentert på APCs. Med denne teorien vil

immunforsvaret kun aktiveres ved eksogene fremmede trusler mot verten. Både teorien om "fremmed versus eget" og "infeksiøs fremmed" medførte en del forklaringsproblemer både for tilstander med immunaktivering og tilstander med immuntoleranse. For immunaktivering blant annet når "det egne" forandrer seg (eksempelvis pubertet, genetiske mutasjoner, graviditet), ved enkelte sykdommer som aktiverer immunforsvaret uten eksogen påvirkning (autoimmune sykdommer, kreftsykdommer) og etter at traumatisk skade og iskemi-relaterte skader som medfører en systemisk inflammasjonrespons og immundysfunksjon ^{25, 37}. For immuntoleranse blant annet når organismen tolererer enkelte infeksjoner, eksemplvis er det vanlig med bakteriemi etter tannbørsting som ikke medfører noen immunologisk reaksjon ³⁷.

Med bakgrunn i begrensninger som tidligere modeller for immunaktivering hadde, fremsatte *Matzinger* "The Danger Model". Immunsystemet antas etter denne modellen å ha utviklet seg evolusjonsmessig til å skille mellom det som er farlig (danger) og det som er trygt for verten, ikke mellom hva som er fremmed og eget. Aktivering av immunforsvaret ved fare skjer ved at molekyler eller molekyllære strukturer fungerer som alarmsignaler (danger signals). Disse alarmsignalene frigis fra stressede eller nekrotiske celler, for deretter å bli gjenkjent av effektorceller i det medfødte immunforsvaret og av antigenpresenterende celler slik at de blir aktivert og kan tilby et stimulerende signal til immunforsvarsceller. Det er dermed en gjenkjennelse av alarmsignaler som aktiverer immunforsvaret, fremfor gjenkjennelse av "fremmed materiale" ²⁷. Celler kan eksemplvis stresses/skades ved eksponering for infeksiøse patogener, toksiner, ved mekanisk stress og ved traume-indusert skade som kan lede til non-fysiologisk celledød (nekrose) ²⁵. Denne modellen representerer en helt ny forståelse av immunforsvarets aktivering og gir teoretisk forklaringsgrunnlag for tilstandene som tidligere ikke kunne forklares ut fra en teori om "fremmed versus eget" ^{27, 29, 30}.

Faresignaler, også kalt alarmsignaler, kan i teorien være alle substanser som produseres, frigis eller modifiseres av en stresset eller skadet celle. Men sentralt i teorien er det at disse signalene ikke skal sendes ut fra friske celler eller celler som gjennomgår programmert/fysiologisk celledød (apoptose) ^{27, 38}. Endogene alarmsignaler som fungerer som triggerer for immunforsvaret omtales som alarminer. Mange ulike alarminer er beskrevet ¹³ og felles for dem alle er at de er vanlige intracellulære molekyler som i fysiologisk tilstand ikke er tilgjengelige for cellene i immunforsvaret og dermed ikke signaliserer fare. Ved celledød vil så en plutselig eksponering og frigivelse av disse intracellulære molekyllene til

det ekstracellulære miljøet fungerer som et alarmsignal for cellulær skade og aktivere det medfødte immunforsvaret ^{28, 32}.

3.6 Alarminer

Definisjonen av et alarmin er ikke universal, men *Bianchi* ³³ sin definisjon er mye brukt der et alarmin beskrives som et molekyl som frigis fra skadede celler eller skadet vev og som har egenskaper til å aktivere en lokal pro-inflammatorisk reaksjon samt tiltrekker seg immunologiske effektorceller til skadestedet. Alarminer er dermed prinsipielt tilstede intracellulært i friske celler, utilgjengelig for immunforsvaret, og frigis ved cellenekrose eller plasmamembranruptur for så å alarmere immunforsvaret om fare. Noen alarminer kan også aktivt skilles ut av effektorceller i det medfødte immunforsvaret. Ved utbredt celledskade kan massiv produksjon og utslipp av alarminer medføre hyperstimulering av immunforsvaret og den systemiske inflammasjonsresponsen som ses etter traume ³⁵. Alarminer kan altså representere en slags "missing link" mellom steril vevsskade og inflammasjonsresponsen.

Begrepsdefinisjon – DAMP, PAMP og alarmin

Det eksisterer noe begrepsforvirring rundt ordene DAMP, PAMP og alarmin. PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns) er ulike mikrobielle strukturer som kan gjenkjennes av TLR i det medfødte immunforsvaret som signal for eksogen infeksjon og dermed aktivere en immunrespons. Alarminer er ekvivalente til PAMPs, men endogene molekyler som signalerer om vevs- og celledskade. De produseres og frigis av stressede eller skadede celler i forbindelse med non-infeksiøse trusler som traumer, brannskader, iskemiske tilstander med flere. PAMPs og alarminer faller inn under fellesbetegnelsen DAMPs (Danger-associated molecular patterns). Reseptorer som aktiverer immunforsvaret gjenkjenner DAMPs og inflammasjon er den primære responsen ³³.

Kriterier for alarmin

I teorien kan alle intracellulære molekyler fungere som alarminer så det er sentralt å finne de som er relevante i en klinisk setting ²⁷. Kriterier for at et molekyl skal kunne kalles et alarmin ble for første gang definert i 2006, da alarminer ble definert som intracellulære proteiner som frigis fra nekrotiske, og ikke apoptotiske celler, og med egenskaper til å aktivere en immunforsvarsrespons og signalveier til inflammasjon ⁴⁴. Denne definisjonen var bred og ble foreslått endret ved *Kono og Rock* i 2008 ³² med strengere kriterier. De foreslo at for at et molekyl skal kunne klassifiseres som et alarmin må det 1) være aktivt i rensset (highly

purified) form, 2) molekylets biologiske aktivitet må ikke skyldes kontaminering med mikrobielle komponenter (PAMPs), 3) molekylet skal være aktivt ved konsentrasjoner som ses ved patofysiologiske situasjoner, og 4) selektiv eliminasjon eller inaktivering av molekylet skal inhibere dets biologiske aktivitet ³².

Mange molekyler er identifisert som potensielle alarminer, blant annet High Mobility Group Box 1 (HMGB1), Heat shock proteiner (Hsp), urinsyre, galektiner, thioredoksiner, adenosin ³², mitokondrielt DNA (mtDNA), S100-proteiner ³⁶, histoner ¹³, interleukin-33 ¹¹³ med flere. *Manson et al* ¹³ har en skjematisk oversikt over potensielle alarminer og mulig rolle i traume-indusert inflammasjon. De viser at flere intracellulære substanser har vist pro-inflammatoriske egenskaper på cellulært nivå, mens flere av dem ikke viser lignende egenskaper i dyremodeller. Flere studier har vist at alarminers pro-inflammatoriske egenskaper påvist *in vitro* skyldes kontaminering av mikrobielle TLR-agonister som LPS ^{39, 40, 41}. I dyremodeller er det foreløpig sterkest bevis for at HMGB1, histoner og mitokondrielt DNA (mtDNA) har egenskapene som trengs for å oppfylle kriteriene til å klassifiseres som et alarmin ¹³.

Hvorfor studere alarminer?

Fra et klinisk perspektiv er det flere mål med å studere alarminer. Blant annet er det viktig å identifisere de alarminene som frigis umiddelbart etter vevsskade og som aktiverer den initiale immunresponsen, med tanke på mulighet for inhibisjon av denne responsen dersom den blir overveldende og til skade for pasienten. Muligens kan også alarminer fungere som en tidlig markør for traumets omfang, der måling av den ekstracellulære konsentrasjonen kan bidra i forståelse av total skadegrad hos hardt skadde pasienter ¹³.

3.7 Aktivering av immunforsvaret ved traume

Den systemiske immunresponsen ved sepsis og etter traume har klare fellestrekk. Cytokin- og kjemokinproduksjonen har vist seg å være lik i en inflammasjonsresponsen etter traume og bakteriell infeksjon ^{17, 28}. Ved infeksjon og ved sterilt traume er det de samme cellene i immunforsvaret som aktiveres. Både alarminer og PAMPs kan lede til den samme kaskaden av inflammasjon med SIRS og potensielt dødelig flerorgansvikt ⁵⁷. Men mens man godt kjenner til aktiveringen av immunforsvaret ved sepsis, er mekanismer bak aktiveringen ved sterilt traume mindre kjent. Flere endogene molekyler har vist seg å kunne indusere utslipp av pro-inflammatoriske cytokiner fra monocytter/makrofager samt aktivere dendritiske

celler som er viktige APCs ⁴¹. Via aktivering av APCs er dermed endogene molekyler ikke bare potente aktivatorer av det medfødte immunforsvaret, men også et bindeledd til aktivering av den adaptive immunresponsen gjennom ko-stimuleringen fra APCs ⁴¹. Interessant har det vist seg at alarminer og PAMPs har strukturelle og funksjonelle likheter og gjenkjennes av flere av de samme reseptorene, pathogen recognition receptors (PRRs) ^{31,36}. Det er økende dokumentasjon for at flere alarminer fungerer som ligand for TLRs og at cytokineffekten fra disse endogene molekylene medieres via TLRs signalveier ⁴¹ (som beskrevet under "sepsis"). Det betyr at ulike ligander, både endogene og eksogene, kan aktivere inflammasjonsresponsen som ses henholdsvis etter traume og ved sepsis, og at responsen prinsipielt er lik ved at de medieres via de samme reseptorene og de samme signaleringsveiene ⁴².

Reseptorer involvert

Ved vevsskade vil endogene molekyler frigis passivt fra skadede celler eller aktivt skilles ut fra aktiverte celler. Mange av disse har vist seg å være ligand for ulike TLRs, og særlig ligandspesifisitet til TLR2 og TLR4 er godt beskrevet. Noen endogene molekyler er også beskrevet til å kunne aktivere flere TLRs, der eksempelvis HMGB1 har potensial til å interagere med TLR2, TLR4 og TLR9 ³⁹. TLR4 er en reseptor som peker seg ut som en sentral PRR i initieringen av systemisk inflammasjon etter traume med sin brede ligandspesifisitet ^{36,42} for endogene molekyler. Men dette har også medført en del kontroverser ettersom TLR4 er reseptoren for LPS og det dermed har vært mistanke om at aktiveringen skyldes kontaminasjon med mikrobielle komponenter og ikke alarminet isolert. Listen over endogene TLR2- og TLR4-aktivatorer har økt betydelig siden Hsp i 2000 ble det første endogene molekylet som viste å inducere cytokinsyntese via TLR4 ⁴³.

Endogent molekyl	Toll-like reseptor	Andre reseptorer
<ul style="list-style-type: none"> •β-defesin •Fibronektin •Fibrinogen •Formylpeptider •Heat Shock Protein <ul style="list-style-type: none"> •Hsp60 •Hsp70 •Gp96 •Heparansulfat •Histoner •HMGB1 •HMGNB1 •Hyaluronan •IL-33 •mtDNA •Surfaktant protein-A •S100-proteiner •Urinsyre 	<ul style="list-style-type: none"> •TLR4 •TLR4 •TLR4 •TLR2 og TLR4 •TLR2 og TLR4 •TLR2 og TLR4 •TLR4 •TLR2, TLR4 og TLR9 •TLR2, TLR4 og TLR9 •TLR4 •TLR2 og TLR4 •ST2 (Medlem i TLR-familien) •TLR9 •TLR4 •TLR4 	<ul style="list-style-type: none"> •FPRs •RAGE, CXCR4 •FPR1 •RAGE •NLRP3, IL-1R

Tabell 1: Oversikt over endogene molekyler og reseptorer involvert ^{13, 36, 39 og 41}. De som omtales ytterligere i oppgaven er uthevet.

Endogene molekyler som TLR-ligand er studert ved mange ulike patologiske tilstander som leder til stor inflammasjon. Særlig i iskemi-reperfusjonsskader (hjerteinfarkt, hjerneslag, lever- og nyreiskemi og organtransplantasjon) er det vist at mus med defekt TLR2, TLR4 eller MyD88 får redusert omfang av skadene. Mye tyder på at endogene molekyler er mediatorer av iskemi-reperfusjons-indusert inflammasjon. Ved andre tilstander som autoimmune sykdommer, tumorgenese og vevs-regenerasjon er det også vist at endogene molekyler spiller en sentral rolle i immunresponsen ³⁹. Men dette er utover oppgavens omfang og vil ikke diskuteres ytterligere. *Piccinini og Midwood* ⁴³ diskuterer i sin oversiktsartikkel at det har vist seg i *in vivo*-studier at man ved å supprimere eller inhibere DAMPs aktivering av TLR, ved å administrere TLR-antagonister eller antistoffer til DAMPs, kan modulere deres effekt og redusere inflammasjonsprosessen. Disse resultatene gir håp om muligheter for å modulere en immunologisk respons i forløp av mange ulike sykdommer og skade.

3.8 High mobility group box protein 1 (HMGB1)

Siden teorien om "The Danger Model" kom i 1994 ³⁸ har mange potensielle alarminer blitt beskrevet ³³. HMGB1 var det første molekylet som ble vist å spille en rolle i utviklingen av steril inflammasjon ⁵⁰. HMGB1 er et essensielt nukleært protein i eukaryote celler som består

av to DNA-bindende domener, HMG boks A og B, og en negativt ladet C-terminal-ende ⁵⁰. Nukleært HMGB1 binder seg til DNA og deltar i stabilisering av nukleosomer og regulering av genekspressjon ^{45, 50}. HMGB1 er også tilstede i cytosol og i ekstracellulærvæske. Molekylets biologiske aktivitet utenfor cellekjernen avhenger av modifikasjon av tre ulike reduksjons-oksidasjons (redox)-sensitive cysteiner på molekylet og acetylering av enkelte aminosyresekvenser. Utenfor cellen kan HMGB1 fungere som DAMP med egenskaper som et pro-inflammatorisk cytokin og kan aktivere det medfødte immunforsvaret alene, i kompleks med cytokiner, eller i kompleks med andre endogene eller eksogene molekyler. Post-translasjonell modifikasjon av HMGB1 avgjør molekylets rolle i inflammasjon og immunitet ⁶⁹.

HMGB1s rolle i sepsis og SIRS

HMGB1 ble tidlig pekt ut som et potent alarmin og med en viktig rolle som signalmolekyl for vevsskade ³³. HMGB1s rolle i patogenesen ved sepsis ble først beskrevet av *Wang et al.* ⁴⁶ i 1999 der HMGB1 viste seg å være en sen mediator i inflammasjonsresponsen. Molekylet viste også cytokinlignende egenskaper, det ble aktivt skilt ut fra monocytter og makrofager etter stimulering med LPS, TNF- α eller IL-1, og nøytralisering med anti-HMGB1 antistoffer beskyttet mot LPS-mediert dødelighet. Injeksjon av HMGB1 i dyremodeller har vist seg å mediere en vertsrespons med feber, anoreksi, akutt-fase-respons og endring i endotelets permeabilitet som gir kapillærlekkasje ^{46, 69}. Flere studier har vist at høyere nivåer av HMGB1 ved sepsis er assosiert med dårlig utfall hos verten ^{46, 66}. I 2002 ble HMGB1 beskrevet å trigge inflammasjon ⁵³ og det ble sett på som et nøkkelmolekyl i dannelsen av en steril inflammatorisk respons ⁶⁸. Senere er HMGB1 beskrevet i relasjon til SIRS ved traume ⁴⁷ og i flere studier målt i økte konsentrasjoner i blodet ved celledød og etter traume ^{48, 60, 61, 62} sammenlignet med friske kontroller. *Cohen et al.* ⁴⁸ fant i sin studie at HMGB1-konsentrasjonen i blodet øker kort tid etter traume hos mennesker og at konsentrasjonen er relatert til alvorlighetsgrad av skaden. HMGB1 har dermed vist seg som en tidlig mediator ved sterilt traume, mens ved sepsis har vist seg som en sen mediator ⁴⁶.

Utskillelse av HMGB1

Nekrotiske og skadede/stressede celler skiller ut HMGB1 passivt til det ekstracellulære miljøet. Ved programmert celledød (apoptose) ble det initialt fremsatt en teori om at det ikke ble skilt ut noen mengder HMGB1 grunnet binding til kromatin i kjernen og en intakt cellemembran ⁵³. Det har senere vist seg at en god del skilles ut ved apoptose også, men i en form av HMGB1 som ikke er immunologisk aktiv ⁶⁹. Noen celler i det medfødte

immunforsvaret, blant annet aktiverte monocytter, makrofager, NK-celler, endotelceller og dendrittiske celler ⁷⁰, kan også aktivt skille ut HMGB1 ^{44,67} via translokasjon av HMGB1 til sekretoriske lysosomer. Andre celler (endotelceller, enterocytter, glatte muskelceller, nevroner) har også vist seg å kunne skille ut HMGB1, men via andre sekresjonsmekanismer ^{33,67}. Stimuli for sekresjon av HMGB1 fra immunceller er PAMPs, inflammasjonscytokiner (TNF, IL-1) og cellulært stress ^{67,69}. Aktiv sekresjon av HMGB1 fra makrofager er også under regulering av det autonome nervesystemet, noe som er vist ved at aktivering av kolinerge anti-inflammatoriske signalveier reduserer HMGB1-sekresjon fra makrofager ⁵⁸. Nylig er det også funnet ut at HMGB1 aktivt kan skilles ut ved pyroptose ⁵⁷. Pyroptose er programmert nekrotisk celledød stimulert av caspase-1, som også gir utskillelse av IL-1 og IL-18, og stimulerer til en inflammatorisk vertsrespons mot infeksiøse og non-infeksiøse trusler ⁷⁵.

Egenskaper i inflammasjon

Ekstracellulært kan HMGB1 aktivere mange av prosessene i en inflammasjon. (1) Det kan aktivere det medfødte immunforsvaret, (2) det har kjemotaktiske egenskaper ⁵⁷, (3) det har pro-inflammatoriske egenskaper selv eller ved å binde seg til DNA, LPS eller cytokiner ^{51,63,69} og (4) det har en aktiverende rolle for cellemigrasjon og -proliferasjon ^{45,59}. Det ble først beskrevet som en mediator i sepsis ⁴⁶, men er senere også tilskrevet en rolle i patogenesen ved en rekke non-infeksiøse sykdommer og tilstander som pankreatitt, artritt, hemorragisk sjokk, hjerneslag, ved transplantasjon, iskemi-reperfusjons-skader ^{64,67} og i utviklingen av inflammasjon etter traume ⁴⁷. Administrering av HMGB1 i dyremodeller gir en systemisk inflammasjonsrespons, akutt lungeskade, skade av epitelbarrierer og død ⁶⁵. Behandling med anti-HMGB1 (antistoffer mot HMGB1, antagonister, andre farmakologiske agens) er i flere dyremodeller vist å redusere alvorlighetsgrad av sykdom ⁶⁹, eksempelvis redusert inflammasjon etter traume ⁴⁷ og redusert infarktstørrelse etter iskemiskader ⁷², og redusere mortalitet, blant annet ved sepsis ^{46,58,64}. HMGB1, skilt ut fra aktiverte immunceller og nekrotiske celler, er vist å inneha en sentral rolle i vertsresponsen både ved infeksjon og ved steril vevsskade. Det peker seg dermed ut som en kritisk mediator i en inflammasjonsrespons, som i verste fall kan lede til død ⁵⁷.

Reseptorer for HMGB1

Ekstracellulært kan HMGB1 binde seg til overflatereseptorer for å aktivere en inflammatorisk respons. Det er mange reseptorer som medierer HMGB1-signalering, blant annet "Receptor for advanced glycation end products" (RAGE), TLR2, TLR4 ⁵⁶, TLR9 (i interaksjon med DNA-

komplekser ⁶³), CXCR4 samt noen andre spesifikke makrofag- og T-cellereseporer (som ikke omtales ytterligere) ⁵⁷. HMGB1s rolle som DAMP i aktiveringen av immunforsvaret skjer via binding til TLRs. Primært er det binding til TLR4 som leder til aktivering av makrofager og cytokinproduksjon ⁶⁴. Det er kjent at TLR4 er involvert i den systemiske inflammasjonsresponsen etter sterilt traume, og TLR4-muterte mus har vist redusert systemisk inflammasjonsrespons etter traume ⁴⁷. Via binding til TLR kan HMGB1 også bidra til aktivering av dendrittiske celler som er viktige antigenpresenterende celler ⁵⁰ og fungere som et bindeledd mellom det medfødte og adaptive immunforsvaret. Binding mellom HMGB1 og TLR4 har med dette vært tenkt som den sentrale forbindelse for steril inflammasjonsrespons etter traume. Men det er også stilt spørsmål ved HMGB1s egenskap som selektivt ligand for TLR4 fordi det i studier er vist at rensset HMGB1 har liten pro-inflammatorisk effekt ⁵⁴ (se senere).

Kjemotaksi og cellemigrasjon

HMGB1 har kjemotaktiske egenskaper for flere typer immunceller (monocytter, makrofager, nøytrofile granulocytter, dendrittiske celler) ^{33,51}. De kjemotaktiske og mitogene egenskapene aktiveres via binding mellom HMGB1 og reseptoren RAGE ⁶⁷. Når HMGB1 binder seg til RAGE medfører det aktivering av NF- κ B ⁵⁵ og påfølgende transkripsjon av cytokin- og kjemokingener ⁴⁵. Binding mellom HMGB1 og RAGE aktiverer også MAPK som er viktig i bl.a regulering av proliferasjon, differensiering og celleoverlevelse. Binding mellom HMGB1 og RAGE medfører også rekruttering av inflammatoriske celler ved oppregulering av adhesjonsmolekyler ^{45,67}. RAGE er en sentral reseptor innen akutt og kronisk inflammasjon og i patogenesen for flere inflammatoriske lidelser ⁴⁵. Nylig er det også vist at HMGB1 med en kologand (CXCL12) kan binde seg til en ny reseptor, CXCR4-reseptor, som gir kjemotaktiske signaler til leukocytter ⁴⁵. Binding til reseptorene kan være direkte (kun HMGB1) eller som et heterokompleks med andre molekyler (LPS, DNA, CXCL12 med flere). Med binding til reseptor som et heterokompleks genererer det en synergistisk effektrespons sammenlignet med responsen for et av produktene ^{45,69}.

Andre effekter av HMGB1

HMGB1 er også vist å inneha egenskaper for stimulering av vevsregenerasjon og angiogenese. Molekylet tiltrekker seg og aktiverer stamceller *in vitro*, eksempelvis er det vist at injeksjon av HMGB1 rundt en infarktzone i hjertet har bedret hjerte-regenerasjon og økt myokardfunksjonen. Det har også angiogenetisk funksjon ved å stimulere migrasjon og vekst

av endotelceller. Alle responser med regenerasjon involverer RAGE-reseptoren ^{50,67}. Dette vil ikke omtales ytterligere her.

HMGB1s molekylære strukturer

I letingen etter potente alarminer ble HMGB1 tidlig foreslått grunnet sin relasjon til sepsis i dyremodeller og SIRS ved traume ⁶⁶. HMGB1 ble vist inneha flere av egenskapene som trengs for at det kan klassifiseres som et alarmin ³³, og *in vitro-studier* viste pro-inflammatoriske egenskaper og evne til å aktivere effektorceller i det medfødte immunforsvaret. Korrelasjon mellom konsentrasjon av HMGB1 i blodet og et traumes alvorlighetsgrad indikerte også en sammenheng mellom omfang av vevsskade og mengde HMGB1 ekstracellulært. Men flere senere studier har stilt spørsmål til HMGB1s egenskaper for initiering av inflammasjon, blant annet fordi det er vist at det i rensert form har liten pro-inflammatorisk aktivitet og mangler cytokinfunksjon i cellekulturer ⁵¹, og at dets aktivitet skyldes at det danner kompleks med DNA eller cytokiner, eller er kontaminert med LPS ^{54,63,66}. Da kan tidligere positive funn av pro-inflammatoriske egenskaper skyldes dannelse av komplekser med andre molekyler som innehar den stimulerende egenskapen på immunforsvaret. Dette sådde tvil rundt HMGB1 som alarmin. Til tross for at HMGB1 bidrar i initieringen av både den medfødte og den adaptive immunresponsen er dets rolle som DAMP ikke godt nok klarlagt. Et nyere fokus har nå utviklet seg ettersom man har fått mer kunnskap om hvordan molekylets egenskaper endrer seg i kroppens ulike mikromiljøer. HMGB1 opptrer i ulike reduserte former mellom de ulike miljøene, i nukleus, i cytosol og ekstracellulært ^{50,57}. Redox-status for de tre cysteinene (C23, C45, C106) i molekylet regulerer evne til reseptorbinding og dermed biologisk effekt ^{57,71}. I komplett redusert form har HMGB1 kjemotaktiske egenskaper, mens det i økende oksidert form (disulfid-binding mellom C23 og C45, disulfid-HMGB1) kan aktivere immunceller og gir cytokinutslipp fra makrofager og dermed initierer inflammasjon. Effekter av redox-modifisert HMGB1 er vist både *in vivo* og *in vitro* ⁵⁷. Intracellulært foreligger HMGB1 hovedsakelig i komplett redusert form. Ved sekresjon er det både i redusert form og i disulfid-form. Oksidasjon av HMGB1 skjer blant annet ved nekrose grunnet et mer oksiderende miljø ekstracellulært ⁴⁵, noe som kan forklare alarminegenskapene ved celledød ³¹. Den fullstendig oksiderte formen av HMGB1 har ingen aktiverende egenskap overfor immunforsvaret og er den molekylære formen ved apoptose. Det har også vist seg at HMGB1 i ulike former har spesifisitet for ulike reseptorer, som kan være med på å forklare HMGB1s mange egenskaper ⁴⁵: Redusert form binder CXCR4 og medierer kjemotaksi, disulfid-form

binder TLR4 som gir NF- κ B aktivering og TNF utslipp, mens oksidert form ikke binder noen av dem.

HMGB1 peker seg ut som et sentralt signalmolekyl (alarmin) i steril inflammasjon, i leukocytter rekruttering og i signalering om utskillelse av inflammasjonscytokiner. Men HMGB1s multiple egenskaper avhenger av molekylets redox- og acetyleringsstatus i det miljøet det befinner seg ⁴⁵. Det kan være med på å forklare sprikende resultater i forsøk som skyldes den komplekse biologien til HMGB1. I fremtiden er det kanskje mulig at HMGB1 blir et terapeutisk målmolekyl for spesifikke inhibitorer, for å redusere den systemiske inflammasjonen etter traume eller i andre inflammatoriske lidelser. Dyreforsøk har foreløpig vist lovende resultater ^{46, 47, 52, 58, 64, 72}.

3.9 Andre alarminer

3.9.1 Mitokondrielle DAMPs

Mitokondrier har trolig evolusjonsmessig kommet fra bakterier som har blitt endosymbiont i eukaryote celler. Mitokondrier er nå en organelle i cellen som en livsviktig for oksygenavhengig energiproduksjon (ATP-produksjon) ⁷⁸. Grunnet den evolusjonsmessige opprinnelsen er det tenkt at likhetene mellom bakterier og mitokondrier gjør mitokondrielle molekyler til gode kandidater som alarminer. Det gir også en fornuftlig forklaringsmodell for hvorfor infeksiøs og steril SIRS viser like immunologiske responser. I fysiologisk tilstand er mitokondrielle komponenter intracellulære og utilgjengelige for immunforsvarsceller, men de eksponeres raskt for immuncellene ved nekrose og passivt utslipp til det ekstracellulære miljøet. Flere komponenter i mitokondrier kan fungere som DAMPs ⁸⁰, blant annet mitokondrielt DNA (mtDNA), cytokrom C, ATP, CPS-1, ROS, og formyl-peptider. I en studie ⁷⁹ ble det rapportert om plasmanivåer av mtDNA mange tusen ganger høyere hos traumepasienter sammenlignet med normale fysiologiske tilstander. Samme studie viste også at injeksjon av mitokondrielle komponenter gir responser i form av en systemisk inflammasjon (SIRS) ⁷⁹. MtDNA er rapportert å kunne aktivere en immunrespons etter både sirkulatorisk sjokk og traume som representerer ulike former for celledøde ^{79, 86}. Det er økende dokumentasjon rundt mitokondrielle DAMPs evne til å stimulere til inflammasjon ⁸⁰, blant annet er det vist både *in vivo* og *in vitro* at endogent mitokondrielt DNA (mtDNA) kan aktivere en inflammasjonrespons ⁸³. Formyl-peptider og mtDNA har vist seg å kunne aktivere nøytrofile granulocytter via formyl-peptidreseptor-1 (FPR1) og TLR9 ⁸⁰. TLR9 er den samme reseptoren som gjenkjenner bakterielt DNA ¹⁴. Signalering via TLR9 medfører aktivering av

nøytrofile granulocytter, monocytter og makrofager, mens signalering via FPR1 medfører aktivering av kjemokinsignaler for nøytrofile granulocytter og monocytter⁸⁰. Det er i flere prospektive observasjonsstudier rapportert at plasmanivåer av mtDNA hos traumepasienter korrelerte med utvikling av SIRS, flerorgansvikt og mortalitet, der høyere nivåer assosieres med dårligere utkomme^{81, 82, 85}. Det medfører at mtDNA er en potensiell biomarkør for omfang og alvorlighet etter traumer. Mitokondrielle DAMPs har også vist seg å øke endotelets permeabilitet og å øke adhesjonsevnen mellom endotelceller og nøytrofile granulocytter⁸⁴. Svikt i endotelets integritet er en sentral faktor i det kliniske bildet av SIRS og flerorgansvikt, der det medfører systemisk kapillærlekkasje og koagulopati som kan gi hypoperfusjon og organsvikt. Mitokondrielle DAMPs peker seg ut som meget interessante alarmsignaler i utviklingen av steril inflammasjon etter vevsskade, der særlig mtDNA har vist å kunne aktivere en inflammasjonsrespons.

3.9.2 Histoner

Histoner er en gruppe proteiner som finnes i cellekjernen bundet til DNA og er essensielle komponenter av nukleosomer i eukaryote celler⁹⁰. Fysiologisk funksjon er pakking og beskyttelse av DNA samt deltakelse i genregulering⁸⁷. Histoner er dynamiske proteiner som går gjennom ulike transkripsjonelle modifikasjoner som kan gi dem mange ulike biologiske effekter⁹². Ved celledød vil kromatin (DNA og histoner⁹²) kløyves til mono- og oligonukleosomer som skilles ut ekstracellulært som så ytterligere blir degradert til histoner og fritt DNA. Grunnet rask degradering i leveren er det normalt ikke målbare nivåer av histoner i plasma med unntak av tilstander med utbredt celledød⁹⁵. Ekstracellulært er histoner rapportert å inneha funksjon som mediator i en inflammasjonsrespons. Det er blant annet vist *in vivo* at histoner øker vaskulær permeabilitet, aktiverer IL-6-sekresjon og aktiverer koagulasjonssystemet^{91, 95}. Både *in vitro* og *in vivo* er ekstracellulære histoner vist å være cytotoxisk mot endotel ved å stimulere til kalsiuminflux i cellen^{88, 90}. Xu *et al.*⁸⁸ viste at histoner frigis fra skadede celler og er sentrale mediatorer av død ved sepsis der høyere nivåer er assosiert med dårligere utkomme. De rapporterte at administrering av histoner *in vivo* leder til aktivering av nøytrofile granulocytter og aktivering av koagulasjonssystemet og gir en inflammasjonsrespons med endoteldysfunksjon som kan lede til flerorgansvikt og død. Administrering av antistoffer mot histoner reduserte mortaliteten ved sepsis. Ved traume øker også konsentrasjon av histoner ekstracellulært og ser ut til å være delaktig i aktivering av blodplater, koagulasjonssystemet, inflammasjon og endotelskade⁸⁹. Konsentrasjon av histoner i plasma etter traume samsvarer med traumets omfang og høyere nivåer ses ved

høyere total anatomisk skadegrad, Injury Severity Score (ISS). Høyere konsentrasjonen av histoner i plasma er også assosiert med større post-traumatisk inflammasjonsrespons og dårligere utkomme^{89, 91}. *Abrams et al.*⁹¹ rapporterte at sirkulerende histoner kan mediere organskade hos den hardt skadde pasienten i organer som ikke var skadet i selve traumet ved at histonene aktiverer immunforsvaret som sekundært gir en systemisk inflammasjonsrespons og organskade. I dyremodeller er det vist at histoner aktiverer TLR2, TLR4⁹³ og TLR9⁹⁰ og at binding til TLR4 er ansvarlig for cytokinproduksjonen ved steril inflammasjon⁹³. *Huang et al.*⁹⁰ viste i en iskemi-reperfusjonsstudie at det er høye nivåer av histoner ekstracellulært etter iskemi-reperfusjons(I/R)-skade av lever og at nøytralisering av histonene beskyttet mot inflammatorisk vevsskade. Injeksjon av histoner forverret I/R-skadene grunnet en cytotoxisk effekt mediert via TLR9. De rapporterte at histoner fungerte som DAMPs og som en viktig forbindelse i aktiveringen av immunforsvaret ved steril inflammasjon⁹⁰. Aktivert protein C (APC) er vist å proteolytisk inaktivere histoner og administrering av APC er beskyttende i hjerte- og levermodeller av I/R-skader⁹⁰ og reduserer dødelighet ved sepsis i dyremodeller⁸⁸. Interessant har *Abrams et al.*⁹⁴ også vist at akutt-fase-proteinet CRP, som er sentralt i beskyttelsen mot bakterielle infeksjoner, beskytter mot histoners toksisitet ved å binde seg til dem og danne et CRP-histon-kompleks. Mekanismer for binding mellom CRP og histoner er foreløpig uklare, men dannelse av CRP-histon-komplekset hindrer histonene i å interagere med endotelcellers membran. Det hindrer histoner i å utøve den cytotoxiske kalsiuminflux-effekten på endotelceller⁹⁴. CRP er *in vitro* vist å signifikant redusere histon-indusert endotelskade og koagulasjonsaktivering. En økning av CRP etter tilstander med utbredt celledød og celledød kan dermed være en fysiologisk vertsrespons for å redusere histoners toksisitet⁹⁴. Etter traume viser konsentrasjonsøkning av CRP en litt forsinket respons sammenlignet med konsentrasjonsøkning av histoner. Det indikerer at det er et tidsvindu for histontoksitet og mulig vindu for intervensjon med anti-histon-terapi som kan redusere omfang av celle- og vevsskade⁹⁵.

Histoner fremstår som meget interessante alarminer med rolle som mediator innen sepsis og I/R-skader samt en rolle i utviklingen av steril inflammasjon, post-traumatisk koagulopati og i assosiasjon med omfang av et traume. I fremtiden er det kanskje mulig at histoner blir terapeutiske mål molekyler for inhibitorer for å redusere omfanget av inflammasjonsindusert vevsskade mediert via histoner ekstracellulære effekter på endotelceller og koagulasjonssystemet. Anti-histon-terapi har foreløpig vist lovende resultater både *in vitro*⁹⁴ og *in vivo*^{88,90}.

3.9.3 S100-proteiner

S100-proteiner, også kalt calgranuliner, er en gruppe kalsium-bindende proteiner som har mange roller i celler, blant annet kalsiumhomøostase, cellevekst og -differensiering⁹⁹. De er også tenkt som en gruppe proteiner med potensielle alarminegenskaper³³. S100A8, S100A9 og S100A12 uttrykkes av fagocytterende celler og skilles ut ved inflammasjon, men det er usikkert om de skilles ut passivt ved nekrose. S100B uttrykkes av flere celler i sentralnervesystemet (SNS), blant annet astrocytter og Schwannceller⁹⁹. S100-proteiner induserer inflammatorisk respons i endotelceller som øker vaskulær permeabilitet og har en protrombotisk effekt⁹⁶ samt rekrutterer inflammatoriske celler til stedet for vevsskade. *In vitro* er S100-proteiner vist å ha kjemotaktiske egenskaper via cytokininduksjon, spesielt for nøytrofile granulocytter⁹⁷. Monocytter og makrofager kan aktivt skille ut S100A8/A9, mens flere celler i SNS aktivt kan skille ut S100B. Aktiv sekresjon skjer ved mekanisk eller fysiologisk stress^{108, 109}. Den inflammatoriske effekten skjer via binding til RAGE, som er samme reseptor som for HMGB1. Et kompleks av S100A8/9 kan også interagere med TLR⁹⁸. S100B er hovedsakelig tilstede i hjernen og er studert som en potensiell biomarkør for skade av SNS. Proteinet frigis til blodbanen ved skade på hjernens gliaceller eller blod-hjernebarrieren. Høye nivåer av S100B er funnet i relasjon til mange tilstander som traumatisk hjerneskade, iskemiske tilstander i hjernen, nevrodegenerative tilstander, psykiatriske tilstander og inflammatoriske hjernelidelser¹⁰⁰. Høyere serumnivåer av S100B er assosiert med dårligere utkomme etter traumatisk hjerneskade^{101, 103}. Nivåer over en viss terskel korrelerer med utkomme ved traumatisk hjerneskade, men som eneste markør for hjerneskade er ikke S100B sensitiv nok til å kunne si noe et sykdomsforløp etter hodeskaden¹⁰². Måling av S100B har derimot vist seg å ha høy negativ prediktiv verdi (NPV) der en normal måling kan brukes til å ekskludere hjerneskade¹⁰⁴. Flere store studier har nå vist at lave nivåer av S100B (<0,12 µg/l¹⁰⁷) har høy NPV (99,7%¹⁰⁷) for hodeskade¹⁰⁵. På bakgrunn av dette er norske retningslinjer for utredning av milde hodeskader under revisjon, der det er foreslått at S100B-måling skal erstatte CT-undersøkelser for å redusere bruken av dem. Høye nivåer av S100B ved mistenkt mild hodeskade vil da lede til CT-undersøkelse¹⁰⁶.

3.9.4 Interleukin-33 (IL-33)

IL-33 er et medlem i IL-1-familien. IL-33 befinner seg intracellulært hovedsakelig i cellekjernen i assosiasjon med histoner. Det har trolig en fysiologisk funksjon innen regulering av gentranskripsjon¹¹². Noe IL-33 befinner seg også i cytosol¹¹¹. Mange ulike celler uttrykker IL-33 i nukleus, men særlig endotel- og epitelceller uttrykker store mengder. IL-33

fungerer også som et klassisk cytokin ved å binde seg til ST2 (et medlem i IL-1R/TLR familien) på målceller og er sentralt i kampen mot en rekke patogener som ulike vira, helminter og sopp ¹¹². IL-33 lagret i cellekjernen kan frigis til det ekstracellulære miljøet ved cellostress eller celloskade og fungere som et alarmin ¹¹³. Ved skade eller ved en infeksjon vil intracellulære lagre av IL-33 skilles ut hovedsakelig fra epitel- og endotelbarrierer. For at IL-33 skal være biologisk aktiv må hele molekylet være intakt eller moduleres av nøytrofile granulocytter. Ved apoptose vil intracellulære caspaser kløyve molekylet som medfører inaktivering. Ved nekrose skjer ikke denne kløyvingen og ekstracellulært kan nøytrofile granulocytter via enzymer (elastase og cathepsin G) gjøre IL-33 mer biologisk aktiv som en mediator av inflammasjon. Ved utskillelse fra nekrotiske celler vil IL-33 signalere via ST2-reseptoren (som særlig befinner seg på mastceller og CD4⁺ T₂-hjelpeseller ^{110,112}) og aktivere signalkaskader som NF- κ B og MAPK ¹¹³ i et ganske likt bilde som for de pro-inflammatoriske cytokinene IL-1 og IL-18 ¹¹². De aller fleste celler i immunforsvaret responderer på IL-33 stimulering ¹¹¹. Høye nivåer av IL-33 er målt i flere inflammatoriske sykdommer og trolig kan flere immunceller også skille ut IL-33 etter aktivering via TLRs ¹¹¹. IL-33 kan også fungere autokrint ved at det produseres fra endotel- og epitelceller og kan stimulere disse cellene til proliferasjon og migrasjon, og øke permeabiliteten. IL-33 stimulerer også til produksjon av inflammatoriske mediatorer fra endotel- og epitelceller ¹¹¹. Det er vist *in vitro* at mastceller produserer pro-inflammatoriske cytokiner og leukotriener i repons på IL-33 fra nekrotiske celler ¹¹⁴. Det er videre økende dokumentasjon for at IL-33 spiller en viktig rolle som mediator av inflammasjon ved vevsskade, infeksjon og inflammatoriske sykdommer, i et komplekst nettverk av både immunceller og ikke-immunceller ¹¹¹. IL-33 er tenkt som et alarmin basert på at det uttrykkes i store mengder fra epitelceller og vaskulært endotel ved celloskade og induserer en inflammasjonsrespons i vevet ^{111,113}.

3.9.5 Heat shock proteiner (HSP)

Heat shock proteiner er en familie av proteiner som befinner seg i cytoplasma, i mitokondriene og i cellens nukleus. De har beskyttende funksjon i cellen mot proteindenaturering og celledød og bidrar til korrekt folding av andre proteiner (chaperon-funksjon) ¹¹⁵. De kan skilles ut av nekrotiske og stressede celler ¹¹⁵ samt etter vevsskade, hvilket gjør dem til potensielle alarminer. Det er også tenkt at HSP aktivt kan skilles ut fra aktiverte celler, men en mekanisme for dette har man ikke klart å finne ¹¹⁵. Ekstracellulært kan HSP interagere med mange reseptorer, blant annet TLR2 og TLR4 som kan indusere pro-inflammatoriske cytokiner. Men HSP er også vist å mangle cytokinfunksjon i rensset form og

det er nå tenkt at HSP har alarminfunksjon som kofaktor med binding til ulike PAMPs som LPS, flagellin eller lipopeptider ⁵⁴. Flere studier har imidlertid vist at mange HSP kan modulere en immunrespons, blant annet kan HSP70 aktivere celler i immunforsvaret ^{116, 120}, eksempelvis monocytter, makrofager, NK-celler og dendrittske celler ¹²¹, samt øke fagocytose og bidra som kjemotaktisk signal for immunforsvarsceller ¹¹⁵. Etter traume har HSP vist seg å være elevert i plasma 30 minutter etter skade og korrelerer med utvikling av organskade ¹¹⁸. Det er også funnet betydelig økte mengder av ekstracellulært HSP etter iskemi-reperfusjonsskader ¹¹⁵. Oppregulering av HSP på celleoverflaten etter traume er også demonstrert i dyreforsøk. Denne oppreguleringen kan representere et alarmsignal til immunforsvaret for å igangsette en inflammasjon etter traumet ^{13, 117}. Det er nå økende dokumentasjon for at ekstracellulært HSP har funksjon innen celledesignalering og særlig egenskaper for å aktivere immunforsvarsceller gjør HSP til interessante alarminer som kan være mulige mål innen modulering av en immunrespons for å unngå ytterligere vevsskade.

4. KONKLUSJON

Traumatisk skade representerer kanskje den største trusselen en organisme kan bli utsatt for. Skaden i seg selv medfører en kompleks patofysiologisk respons som ytterligere kan kompliseres med blant annet blødning og sjokkutvikling, nødvendige blodoverføringer og kirurgiske intervensjoner. Aktivering av immunforsvaret skjer raskt etter traume ⁸ og høye nivåer av flere alarminer er målt 30 minutter etter skade ^{48, 118}. En tidlig økning og høyere nivåer av alarminer er assosiert med økt risiko for utvikling av flerorgansvikt og dårlig prognostisk utcome hos pasienten. Med teorien om "The Danger Model" og mange studier som har vist at endogene molekyler kan aktivere immunforsvaret har interessen for endogene faresignaler økt betydelig. Men fortsatt er kunnskapen om aktivatorer av post-traumatisk inflammasjon og deres signalveier inkomplett. I en storm av cytokiner og intracellulære molekyler, som både skilles ut og lekker ut i det ekstracellulære miljøet etter vevsskade, er det ikke lett å skille de molekylene som fungerer som alarminer og triggere av immunresponsen fra de som kun er biomarkører for celledskade uten egenskaper til å aktivere immunforsvaret. Men kunnskap om alarminer og mekanismene bak aktiveringen av steril inflammasjon etter traume er økende og utgjør et svært interessant felt som kan gi nye behandlingsmuligheter for den hardt skadde pasienten. Alarminer representerer den mest proksimale forbindelsen mellom celledskade og inflammasjon og utgjør dermed attraktive

målmolekyler for terapeutiske intervensjoner (eksempelvis blokade) i forsøk på å modulere SIRS og SIRS-indusert organskade.

Interessant er SIRS ved sepsis og SIRS etter traume identiske med tanke på klinisk presentasjon, immunologisk fenotypisk respons, reseptorer og immunforsvarsceller som er involvert. Imidlertid er aktiveringen av immunresponsen svært forskjellig mellom sepsis og steril post-traumatisk inflammasjon, bl.a. vist ved at HMGB1 er en sen mediator av sepsisrelatert sykkelighet. Og mens sepsis utvikler seg forholdsvis gradvis fra en infeksjon til en systemisk respons vet man ved traume eksakt tidspunkt for når skaden har oppstått. Tiden fra skadetidspunkt til manifest systemisk inflammasjon er et potensielt terapeutisk vindu der man har muligheter for å modulere en immunrespons slik at den ikke biker over til en uhensiktsmessig vertsrespons som fører til organskade.

Fra et klinisk perspektiv er det mange potensielle muligheter med økt kunnskap rundt alarminers rolle i immunaktivering og systemisk inflammasjon etter traume;

1) Dersom man får kartlagt eksakt rolle til ulike alarminer og blokade av disse alarminene gir nedregulering av en uhensiktsmessig inflammasjonsrespons hos traumepasienten kan det medføre at behandling etter store skader allerede kan begynne prehospitalt. Man kan da muligens begrense "immunstormen" og redusere hyperinflammasjonen med SIRS og dermed toppen av organsvikt som ses de første timene etter traume. Eksempelvis stiger HMGB1 raskt etter traume og kan være aktuelt molekyl for blokade. Histoner har toksisk effekt ekstracellulært og ser ut til å være tilgjengelige for tidlig blokade for å redusere de toksiske effektene på endotelceller.

2) Terapeutiske tiltak mot alarminer i hele sykdomsforløpet fra skade og under hele oppholdet på en intensivavdeling kan muligens redusere utviklingen av de sene/sekundære årsakene til død etter traume (SIRS, MOF). Flerorgansvikt er fortsatt den viktigste årsaken til død hos traumepasienter som overlever de første timene etter skade.

3) Alarminer frigis umiddelbart etter celleskade og kan fungere som markører for grad av skade etter et traume. Måling av den ekstracellulære konsentrasjonen kan bidra til å forstå omfanget av skade, muligens bidra til å predikere utkomme hos traumepasienter samt identifisere de pasientene som har størst risiko for å utvikle SIRS etter skade. Ved tidlig identifisering av risikopasienter for SIRS kan adekvat intervensjon med forebyggende behandling begynne tidlig. Eksempelvis er retningslinjene for utredning av milde hodeskader under revisjon der biomarkøren S100B har høy negativ prediktiv verdi og bidrar i

utredningen av omfang av hodeskade. Andre alarminer som HMGB1, histoner og mtDNA har alle vist en korrelasjon mellom nivå i plasma etter skade og utkomme.

Prekliniske studier har vist at molekylær blokkade kan redusere morbiditet og mortalitet i flere inflammasjonstilstander, inkludert etter traumer. Det blir svært spennende å se om dette også kan gjelde i klinisk praksis for den hardt skadde pasienten i kampen mot systemisk inflammasjon og flerorgansvikt i årene som kommer.

5. REFERANSER

1. Statistisk sentralbyrå, **Dødsårsaker 2012**, Figur 1, **Voldsomme dødsfall**, <http://www.ssb.no/helse/statistikker/dodsarsak> (Referert: 4/2-2014).
2. Statistisk sentralbyrå, **Dødsårsak, etter kjønn, alder og detaljert internasjonal liste. 2011**, <http://www.ssb.no/a/aarbok/tab/tab-114.html> (Referert: 4/2-2014).
3. Peden M, Mcgee K, Sharma G. **The injury chart book: a graphical overview of the burden of injuries**. *World Health Organization: Geneva*, 2002. Tilgjengelig fra: <http://whqlibdoc.who.int/publications/924156220x.pdf>
4. Sherry, L. Murphy, B.S. Jiaquan, X. Kochanek, K.D. **Deaths: final data for 2010**. *National Vital Statistics Report*, 2013, Vol. 61. Tilgjengelig fra: http://www.cdc.gov/nchs/data/nvsr/nvsr61/nvsr61_04.pdf
5. Maier B, Lefering R, Lehnert M, et al. **Early versus late onset of multiple organ failure is associated with differing patterns of plasma cytokine biomarker expression and outcome after severe trauma**. *Shock* 2007; 28:668-674.
6. Thornhill R, Strong D, Vasanth S, Mackenzie I. **Trauma sepsis**. *Trauma* 2010; 12:31-49.
7. Keel, M. Trentz, O. **Pathophysiology of polytrauma**. *Injury* 2005; 36: 691-709.
8. Lenz, A. Franklin, G.A., Cheadle, W.G. **Systemic inflammation after trauma**. *Injury* 2007; 38:1336-1345.
9. Moore, FA. Sauaia, A. Moore, EE. et al. **Postinjury multiple organ failure: a bimodal phenomenon**. *J Trauma* 1996; 40:501-512.
10. Deitch, EA. **Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy**. *Ann. Surg*, 1992; 216:117-134.
11. Lausevic Z, Lausevic M, Trbojevic-Stankovic J, et al. **Predicting multiple organ failure in patients with severe trauma**. *Can J Surg*, 2008; 51:97-102.
12. de Knecht C, Meylaerts SAG, Leenen LPH. **Applicability of the trimodal distribution of trauma deaths in a Level I trauma centre in the Netherlands with a population of mainly blunt trauma**. *Injury* 2008; 39:993-1000.
13. Manson, J. Thiemermann, C., Brohi, K. **Trauma alarmins as activators of damage-induced inflammation**. *British Journal of Surgery*, 2011; 99:12-20.
14. Cohen, J. **The immunopathogenesis of sepsis**. *Nature* 2002; 420:885-891.
15. Bianchi, ME. **DAMPs, PAMPs and alarmins; all we need to know about danger**. *J Leukoc Biol*, 2007; 81:1-5.
16. Zedler S, Faist E. **The impact of endogenous triggers on trauma-associated inflammation**. *Curr Opin Crit Care*, 2006; 12:595-601
17. Tsukamoto T, Chanthaphavong RS, Pape HC. **Current theories on the pathophysiology of multiple organ failure after trauma**. *Injury* 2010; 41:21-26
18. Bone RC, et al. The ACCP/SCCM Consensus Committee. American college of chest physicians/Society of critical care medicine. **Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis**. *Chest* 1992; 101:1644-55.
19. Balk RA. **Systemic inflammatory response syndrome (SIRS). Where did it come from and is it still relevant today?** *Virulence* 2014; 5:20-26
20. Neviere R. **Sepsis and the systemic inflammatory response syndrome: Definitions, epidemiology, and prognosis**. In: UpToDate, Basow, DS (Ed), UpToDate, Waltham, MA, 2014. Tilgjengelig på: <http://www.uptodate.com/contents/sepsis-and-the-systemic-inflammatory-response-syndrome-definitions-epidemiology-and-prognosis>.
21. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. **Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012**. *Crit Care Med* 2013; 45:580-637
22. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. **The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study**. *JAMA*, 1995; 273:117-123
23. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. **Sepsis in European intensiv care units: Results of the SOAP study**. *Crit Care Med* 2006; 34:344-353.

- 24 Vincenzo C, Gudipati S, Stavrou PZ, et al. **Biomarkers predicting sepsis in polytrauma patients: Current evidence.** *Injury* 2013; 44:1680-1692.
- 25 Denk S, Perl M, Huber-Lang M. **Damage- and Pathogen-Associated Molecular Patterns and Alarmins: Keys to sepsis?** *Eur Surg Res* 2012; 48:171-179.
- 26 Moore FA, Moore EE. **Evolving concepts in the pathogenesis of postinjury multiple organ failure.** *Surg Clin North Am* 1995; 75:257-277
- 27 Matzinger P. **The danger model: A renewed sense of self.** *Science* 2002; 296:301-305.
- 28 Hwang PF, Porterfield N, Pannell D, et al. **Trauma is danger.** *Journal of Translational Medicine* 2011; 9:92-101
- 29 Pradeu T, Cooper EL. **The danger theory: 20 years later.** *Frontiers in immunology* 2012; 3:287
- 30 Matzinger P. **An innate sense of danger.** *Semin immunology* 1998; 10:399-415.
- 31 Hirsiger S, Simmen HP, Werner CML, et al. **Danger signals activating the immune response after trauma.** *Mediators of inflammation* 2012. Article ID 315941, 10 pages.
- 32 Kono H, Rock KL. **How dying cells alert the immune system to danger.** *Nature* 2008; 8:279-289.
- 33 Bianchi ME. **DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger.** *J Leukoc. Biol.* 2007; 81:1-5
- 34 Eken T, Hestnes M, Skaga NO. Kap. 31. **Traumemanualen.** 6.utgave, 2011. ISBN 978-82-995474-4-4. Utgitt av Oslo universitetssykehus, Ullevål, avd. for traumatologi.
- 35 Pugin J. **How tissue injury alarms the immune system and causes a systemic inflammatory response syndrome.** *Annals of Intensive Care* 2012; 2:27-32
- 36 Stoecklein VM, Osuka A, Lederer JA. **Trauma equals danger – damage control by the immune system.** *J Leukoc. Biol.* 2012; 92:539-551.
- 37 Pugin J. **Dear SIRS, the concept og "alarmins" makes a lot of sense.** *Intensive Care Med* 2008; 34:218-221.
- 38 Gallucci S, Matzinger P. **Danger signals: SOS to the immune system.** *Current opinion in Immunology* 2001; 13:114-119.
- 39 Yu L, Wang L, Chen S. **Endogenous toll-like receptor ligands and their biological significance.** *J. Cell. Mol. Med.* 2010; 14:2592-2603.
- 40 Gao B, Tsan MF. **Endotoxin contamination in recombinant human heat shock protein 70 (Hsp70) preparation is responsible for the induction of tumor necrosis factor alpha release by murine macrophages.** *J Biol. Chem* 2003; 278:174-179.
- 41 Tsan MF, Gao B. **Endogenous ligands of Toll-like receptors.** *J Leukoc. Biol.* 2004; 76:514-519.
- 42 Mollen KP, Anand RJ, Tsung A, et al. **Emerging paradigm: Toll-like receptor 4-sentinel for the detection of tissue injury.** *Shock* 2006; 26:430-437.
- 43 Piccinini AM, Midwood KS. **DAMPening inflammation by modulating TLR signalling.** *Mediators of inflammation* 2010; Article ID 672395, 21 pages.
- 44 Harris HE, Raucci A. **Alarmin(g) news about danger: workshop on innate danger signals and HMGB1.** *EMBO Rep* 2006; 7:774-778.
- 45 Venerau E, Schiraldi M, Ugoccioni M, Bianchi ME. **HMGB1 and leukocyte migration during trauma and sterile inflammation.** *Molecular Immunology* 2013; 55:76-82.
- 46 Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. **HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice.** *Science* 1999; 285:248-251.
- 47 Levy RM, Mollen KP, Prince JM, et al. **Systemic inflammation and remote organ injury following trauma require HMGB1.** *Am J Physiol Regul Intergr Comp Physiol* 2007; 293:1538-1544.
- 48 Cohen MJ, Brohi K, Calfee CS, et al. **Early release of high mobility group box nuclear protein 1 after severe trauma in humans: role of injury severity and tissue hypoperfusion.** *Crit Care* 2009;13: R174-4. doi:10.1186/cc8152
- 49 Yanai H, Ban T, Wang Z, et al. **HMGB proteins function as universal sentinels for nucleic-acid-mediated innate immune responses.** *Nature* 2009; 462:99-104.
- 50 Bianchi ME, Manfredi AA. **High mobility group box 1 (HMGB1) protein at the crossroads between innate and adaptive immunity.** *Immu Rev* 2007; 220:35-46.
- 51 Rouhiainen A, Tumova S, Valmu L, et al. **Pivotal advance: Analysis of proinflammatory activity og highly purified eukaryotic recombinant HMGB1 (amphoterin).** *J of Leukoc Biol.* 2007; 81:49-58.
- 52 Yang R, Harada T, Fink MP. **Anti-HMGB1 neutralizing antibody ameliorates gut barrier dysfunction and improves survival after hemorrhagic shock.** *Mol Med* 2006; 12:105-114.
- 53 Scaffidi P, Mistell T, Bianchi ME. **Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation.** *Nature* 2002; 418:191-195.
- 54 Tsan MF. **Heat shock proteins and high mobility group box 1 protein lack cytokine function.** *J of Leukoc. Biol.* 2011; 89:847-853.
- 55 Kokkola R, Andersson A, Mullings G, et al. **RAGE is the major receptor for the proinflammatory activity of HMGB1 in rodent macrophages.** *Scand J Immunol* 2005; 61:1-9.
- 56 Yu M, Wang H, Ding A, et al. **HMGB1 signals through toll-like receptor (TLR) 4 and TLR2.** *Shock* 2006; 25:174-179.
- 57 Yang H, Antoine DJ, Andersson U, Tracey KJ. **The many faces of HMGB1: molecular structure-functional activity in inflammation, apoptosis and chemotaxis.** *J. of Leukoc. Biol.* 2013; 93:865-873.
- 58 Wang H, Liao H, Ochani M, et al. **Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis.** *Nature medicine* 2008; 14:551-557.

- 59 Yang D, Wei F, Poonam T, et al. **Molecules regulating migration: Alarmin-induced cell migration.** *Eur J Immunol* 2013; 43:1404-1440.
- 60 Goldstein RS, Gallowitsch-Puerta M, Yang L, et al. **Elevated high-mobility group box 1 protein concentrations in patients with cerebral and myocardial ischemia.** *Shock* 2006; 25:571-574.
- 61 Wang KY, Yu GF, Zhang ZY, et al. **Plasma high-mobility group box 1 levels and prediction of outcome in patients with traumatic brain injury.** *Clinica Chimica Acta* 2012; 413:1737-1741.
- 62 Peltz ED, Moore EE, Eckels PC, et al. **HMGB1 is markedly elevated within 6 hours of mechanical trauma in humans.** *Shock* 2009; 32:17-22.
- 63 Tsan J, Avalos AM, Mao SY et al. **Toll-like receptor 9-dependent activation by DNA-containing immune complexes is mediated by HMGB1 and RAGE.** *Nat Immunol* 2007; 8:487-496.
- 64 Yang H, Tracey KJ. **Targeting HMGB1 in inflammation.** *Biochimica et Biophysica Acta* 2010; 1799:149-156.
- 65 Yang H, Wang H, Czura CJ, Tracey KJ. **The cytokine activity of HMGB1.** *J of Leukoc. Biol.* 2005; 78:1-6.
- 66 Abraham E. **Unraveling the role of high mobility group box protein 1 in severe trauma.** *Critical Care* 2009; 13:1004
- 67 Klune JR, Dhupar R, Cardinal J, et al. **HMGB1: Endogenous danger signaling.** *Mol Med* 2008; 14:476-484.
- 68 Lotze MT, Tracey K. **High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal.** *Nature Reviews Immunology* 2005; 5:331-342.
- 69 Andersson U, Tracey KJ. **HMGB1 is a therapeutic target for sterile inflammation and infection.** *Ann. Rev. Immunol.* 2011; 29:139-162.
- 70 Harris HE, Andersson U, Pisetsky DS. **HMGB1: A multifunctional alarmin driving autoimmune and inflammatory disease.** *Nat. Rev. Rheumatol.* 2012; 8:195-202.
- 71 Yang H, Lundbäck P, Ottoson L, et al. **Redox modification of cysteine residues regulates the cytokine activity of high mobility group box-1 (HMGB1).** *Mol Med* 2012; 18:250-259.
- 72 Okuma Y, Liu K, Wake H, et al. **Anti-high mobility group box-1 antibody therapy for traumatic brain injury.** *Annals of Neurology* 2012; 72:373-384.
- 73 Xiao W, Mindrinos MN, Seok J, et al. **Genomic storm in critically injured humans.** *J. Exp Med.* 2011; 208:2581-2590.
- 74 Lansink KWW, Gunning AC, Leenen LPH. **Cause of death and time of death distribution of trauma patients in a Level 1 trauma centre in the Netherlands.** *Eur J Trauma Emerg Surg* 2013; 39:375-383.
- 75 Bergsbaken T, Fink S, Cookson BT. **Pyroptosis: host cell death and inflammation.** *Nature Reviews Microbiology* 2009; 7:99-109.
- 76 Trunkey DD. **Trauma.** *Sci Am.* 1983; 249:28-35
- 77 Minei JP, Cuschieri J, Sperry J, et al. **The changing pattern and implications of multiple organ failure after blunt injury with hemorrhagic shock.** *Crit Care Med* 2012; 40:1129-1135.
- 78 Dyllal SD, Brown MT, Johnson PJ. **Ancient invasions: from endosymbionts to organelles.** *Science* 2004; 304:253-257.
- 79 Zhang Q, Raoof M, Chen Y, et al. **Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury.** *Nature* 2010; 464:104-108.
- 80 Krysko DV, Agostinis P, Krysko O, et al. **Emerging role of damage-associated molecular patterns derived from mitochondria in inflammation.** *Trends Immunol*, 2011; 32:157-164.
- 81 Simmons J, Lee YL, Mulekar S, et al. **Elevated levels of plasma mitochondrial DNA DAMPs are linked to clinical outcome in severely injured human subjects.** *Annals of surgery* 2013; 258:591-598.
- 82 Yamanouchi S, Kudo S, Yamada M, et al. **Plasma mitochondrial DNA levels in patients with trauma and severe sepsis: Time course and the association with clinical status.** *Journal of Critical Care* 2013; 28:1027-1031.
- 83 Collins LV, Hajizadeh S, Holme E, et al. **Endogenously oxidized mitochondrial DNA induces in vivo and in vitro inflammatory responses.** *J. Leukoc. Biol.* 2004; 75:995-1000.
- 84 Sun S, Sursal T, Adibnia Y, et al. **Mitochondrial DAMPs increase endothelial permeability through neutrophil dependent and independent pathways.** *PLoS One* 2013; Vol. 8, Iss 3, e59989.
- 85 Gu X, Yao Y, Wu G, et al. **The plasma mitochondrial DNA is an independent predictor for post-traumatic systemic inflammatory response syndrome.** *PLoS One* 2013; Vol. 8, Iss. 8, e72834.
- 86 Zhang Q, Itagaki K, Hauser CJ. **Mitochondrial DNA is released by shock and activates neutrophils via p38 MAP-kinase.** *Shock* 2010; 34:55-59
- 87 Chaput C, Zychlinsky A. **Sepsis: the dark side of histones.** *Nature Medicine* 2009; 15:1245-1246.
- 88 Xu J, Zhang X, Pelayo R, et al. **Extracellular histones are major mediators of death in sepsis.** *Nature Medicine* 2009; 15:1318-1322.
- 89 Johansson PI, Windeløv NA, Rasmussen LS, et al. **Blood levels of histone-complexed DNA fragments are associated with coagulopathy, inflammation and endothelial damage early after trauma.** *J Emerg Trauma Shock* 2013; 4:171-175.
- 90 Huang H, Evankovich J, Yan W, et al. **Endogenous histones function as alarmins in sterile inflammation liver injury through toll-like receptor 9 in mice.** *Hepatology* 2011; 54:999-1008.
- 91 Abrams ST, Zhang N, Manson J, et al. **Circulating histones are mediators of trauma-associated lung injury.** *Am J Respir Crit Care* 2013; 187:160-169.
- 92 Mosammaparast N, Shi Y. **Reversal of histone methylation: biochemical and molecular mechanisms of histone demethylases.** *Ann Rev Biochem* 2010; 79:155-179.

- 93 Xu J, Zhang X, Monestier M, et al. **Extracellular histones are mediators of death through TLR2 and TLR4 in mouse fatal liver injury.** *J Immunol* 2011; 187:2626-2631.
- 94 Abrams ST, Zhang N, Dart C, et al. **Humans CRP defends against the toxicity of circulating histones.** *J Immunol*. 2013; 191:2495-2502.
- 95 Abrams ST, Zhang N, Manson J, et al. **Reduction of circulating histone toxicity is a major function of C-reactive protein after extensive tissue damage.** *Nature precedings, Unpublished* 2011. Tilgjengelig på: <http://precedings.nature.com/documents/6264/version/1>
- 96 Foell D, Wittkowski H, Vogl T, et al. **S100 proteins expressed in phagocytes: a novel group of damage associated molecular pattern molecules.** *J Leukoc. Biol.* 2007; 81:28-37.
- 97 Ryckman C, Vendl K, Rouleau P, et al. **Proinflammatory activities of S100: proteins S100A8, S100A9, and S100A8/A9 induce neutrophil chemotaxis and adhesion.** *J. Leukoc. Biol.* 2003; 170:3233-3242.
- 98 Bianchi R, Adami C, Giambanco I, et al. **S100B binding to RAGE in microglia stimulates COX-2 expression.** *J. Leukoc. Biol.* 2007; 81:108-118.
- 99 Leclerc E, Fritz G, Vetter SW, et al. **Binding of S100-proteins to RAGE: an update.** *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793:993-1007.
- 100 Rothermundt M, Peters M, Prehn JH, et al. **S100B in brain damage and neurodegeneration.** *Microsc. Res. Tech* 2003; 60:614-632.
- 101 Petzold A, Green AJ, Keir G, et al. **Role of S100B as an early predictor of high intracranial pressure and mortality in brain injury: a pilot study.** *Crit Care Med* 2002; 30:2705-2710
- 102 Shakeri M, Mahdikhah A, Panahi D. **S100B protein as a post-traumatic biomarker for prediction of brain death in association with patient outcomes.** *Arch Trauma Res.* 2013; 2:76-80.
- 103 Egea-Guerrero JJ, Revuelto-Rey J, Murillo-Cabezas F, et al. **Accuracy of the S100B protein as a marker of brain damage in traumatic brain injury.** *Brain Inj.* 2012; 26:76-82.
- 104 Bloomfield SM, McKinney J, Smith L, et al. **Reliability of S100B in predicting severity of central nervous system injury.** *Neurocrit Care* 2007; 6:121-138.
- 105 Ingebrigtsen T, Romner B. **Bør hjerneskademerkør erstatte CT-undersøkelse ved lett hodeskade?** *Tidsskr Nor Lægeforen.* 2012; 132:1948-1949.
- 106 Sundstrøm T, Wester K, Enger M, et al. **Skandinaviske retningslinjer for akutt håndtering av voksne pasienter med minimal, lett eller moderat hodeskade.** *Tidsskr Nor Lægeforen.* 2013; 133: doi: 10.4045/tidsskr.13.0916
- 107 Zongo D, Ribéreau-Gayon R, Masson F, et al. **S100-B protein as a screening tool for the early assessment of minor head injury.** *Ann Emerg Med* 2012; 59: 209 – 18.
- 108 Ellis EF, Willoughby KA, Sparks SA, et al. **S100B protein is released from rat neonatal neurons, astrocytes, and microglia by in vitro trauma and anti-S100 increases trauma-induced delayed neuronal injury and negates the protective effect of exogenous S100B on neurons.** *J Neurochem* 2007; 101:1463-1470.
- 109 Gerlach R, Demel G, König HG, et al. **Active secretion of S100B from astrocytes during metabolic stress.** *Neuroscience* 2006; 141:1697-1701.
- 110 Bonilla WV, Fröhlich A, Senn K, et al. **The alarmin interleukin-33 drives protective antiviral CD8+ T-cell responses.** *Science* 2012; 335:984-989.
- 111 Le H, Kim W, Kim J, Cho HR, Kwon B. **Interleukin-33: a mediator of inflammation targeting hematopoietic stem and progenitor cells and their progenies.** *Frontiers in immunology* 2013; 4:1-9
- 112 Martin MU. **Special aspects of interleukin-33 and the IL-33 receptor complex.** *Semin Immunol* 2013; 25:449-457.
- 113 Haraldsen G, Balogh J, Pollheimer J, Sponheim J. **Interleukin-33 – cytokine of dual function or novel alarmin?** *Trends in immunology* 2009; 30:227-233.
- 114 Enoksson M, Lyberg K, Möller-Westerberg C, et al. **Mast cells as sensors of cell injury through IL-33 recognition.** *J. Immunol.* 2011; 186:2523-2528.
- 115 De Maio A, Vazquez D. **Extracellular Heat Shock Proteins: A new location, a new function.** *Shock* 2013; 40:239-246.
- 116 Osterloh A, Breloer M. **Heat shock proteins: linking danger and pathogen recognition.** *Med Microbiol. Immunol.* 2008; 197:1-8.
- 117 Cox JM, Kalns JE. **Development and characterization of a rat model of nonpenetrating liver trauma.** *Comp Med* 2010; 60:218-224.
- 118 Pespeni M, Mackersie RC, Lee H, et al. **Serum levels of Hsp60 correlate with the development of acute lung injury after trauma.** *J Surg Res* 2005; 126:41-47.
- 119 Baker TA, Romero J, Bach HH, et al. **Systemic release of cytokines and heat shock proteins in porcine models of polytrauma and hemorrhage.** *Crit Care Med.* 2012; 40:876-885.
- 120 Henderson B, Pockley G. **Molecular chaperones and protein-folding catalysts as intracellular signaling regulators in immunity and inflammation.** *J Leukoc. Biol.* 2010; 88:445-462.
- 121 De Maio A. **Extracellular heat shock proteins, cellular export vesicles, and the Stress Observation System: a form of communication during injury, and cell damage.** *Cell Stress Chaperones* 2011; 16:235-249