

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET

KLAUDIO PJER MILUNOVIĆ

**DIJAGNOSTIČKA VRIJEDNOST CIRKULIRAJUĆEG C-REAKTIVNOG
PROTEINA IZ KRVI I SLINE U DJECE S AKUTNIM APENDICITISOM**

DOKTORSKI RAD

Split, 2026.

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET**

KLAUDIO PJER MILUNOVIĆ

**DIJAGNOSTIČKA VRIJEDNOST CIRKULIRAJUĆEG C-REAKTIVNOG
PROTEINA IZ KRVI I SLINE U DJECE S AKUTNIM APENDICITISOM**

DOKTORSKI RAD

Split, 2026.

Rad je izrađen u Klinici za dječju kirurgiju KBC-a Split i Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Split.

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Zenon Pogorelić, dr. med.

Zahvala

Od svega srca zahvaljujem svom mentoru, neprocjenjivom i vrijednom stručnjaku te prijatelju prof. dr. sc. Zenonu Pogoreliću, dr. med. na pomoći, strpljenju, potpori i ukazanom povjerenju, kako u svakodnevnom radu, tako i u ovom doktoratu.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Ani Jerončić za pomoć pri statističkoj obradi podataka. Nastavno, zahvaljujem doc. dr. sc. Danieli Šupe Domić, spec. med. biok. i Ladi Stanišić, spec. med. biok. za laboratorijsku obradu uzoraka.

Također zahvaljujem svim djelatnicima Klinike za dječju kirurgiju na ugodnoj i zdravoj suradnji koji su pomogli u praktičnoj provedbi ove studije.

Naposljetku, veliko hvala mojoj obitelji na razumijevanju i podršci, supruzi Ivani i djeci Bruni i Luki.

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Crvuljak	2
1.1.1. Anatomija crvuljka	2
1.1.2. Histologija i embriologija crvuljka.....	3
1.1.3. Funkcija crvuljka	4
1.2. Akutni apendicitis	5
1.2.1. Povijesni pregled	5
1.2.2. Epidemiologija	7
1.2.3. Etiopatogeneza i patofiziologija.....	8
1.2.4. Klinička slika	9
1.2.5. Dijagnostička obrada	9
1.2.6. Diferencijalna dijagnoza	10
1.3. Liječenje	11
1.3.1. Kirurško liječenje	11
1.3.2. Klasična otvorena apendektomija	11
1.3.3. Laparoskopska apendektomija	12
1.3.4. Komplikacije i praćenje	12
1.4. Upala, imunitet i upalni odgovor u akutnom apendicitisu	13
1.4.1. Leukociti	13
1.4.2. C-reaktivni protein.....	14
1.4.3. Ostali upalni biomarkeri	15
1.5. CRP kao dijagnostički biomarker	15
1.5.1. Biološka uloga i kinetika CRP-a	15
1.5.2. Dijagnostička vrijednost serumskog CRP-a u akutnom apendicitisu	16
1.6. Slina kao dijagnostički uzorak u pedijatriji.....	16
1.6.1. Biološke značajke sline.....	17
1.6.2. Prednosti i ograničenja neinvazivnog uzorkovanja	17
1.7. CRP u slini.....	18
1.7.1. Mehanizmi pojave CRP-a u slini.....	19
1.7.2. Korelacija serumskog i salivarnog CRP-a	20

1.7.3. Drugi salivarni biomarkeri kod akutnog apendicitisa.....	20
2. CILJ, PROBLEMATIKA I USTROJ ISTRAŽIVANJA.....	22
2.1. Cilj istraživanja	23
2.2. Hipoteze	23
2.3. Ustroj istraživanja	23
2.4. Ishodi istraživanja	24
3. ISPITANICI I METODE.....	25
3.1. Ispitanici	26
3.2. Metode prikupljanja podataka	26
3.2.1. Protokol studije	26
3.2.2. Laboratorijsko mjerenje upalnih parametara	28
3.2.3. Statistički postupci i izračun veličine uzorka.....	29
3.2.4. Etička načela	30
4. REZULTATI	31
5. RASPRAVA.....	38
6. ZAKLJUČAK.....	43
7. SAŽETAK	45
8. LAIČKI SAŽETAK	47
9. SUMMARY	49
10. PLAIN LANGUAGE SUMMARY	51
11. LITERATURA	53
12. ŽIVOTOPIS	65
13. DODATAK	74

POPIS OZNAKA I KRATICA

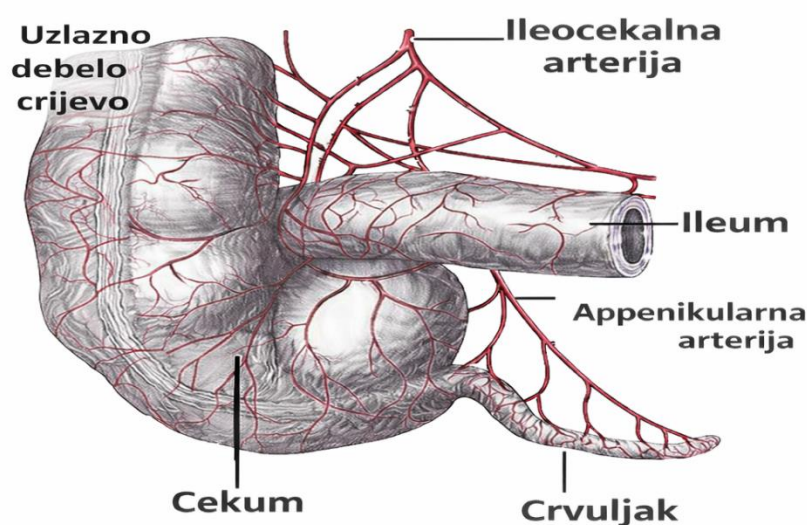
- AAST – Američko društvo traumatoloških kirurga (engl. *American Association for the Surgery of Trauma*)
- AAS score – klinička bodovna ljestvica za procjenu vjerojatnosti akutnog apendicitisa u odraslih (engl. *appendicitis adult score*)
- AIR score – klinička bodovna ljestvica za procjenu vjerojatnosti akutnog apendicitisa (eng. *appendicitis inflammatory response*)
- β -hCG – humani korionski gonadotropni (engl. human chorionic gonadotropin) hormon
- CRP – „C“ reaktivna bjelančevina (engl. *protein*)
- ECLIA – elektrokemiluminiscentni imunotest (engl. *ElectroChemiLuminescence ImmunoAssay*)
- ELISA – enzimski imunotest na čvrstoj fazi (engl. *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*)
- IL – interleukin
- K3 EDTA – kalijeva 3 etilendiamintetraoctena kiselina (engl. *tripotassium ethylenediaminetetraacetic acid*)
- LRG1 – leucinom-bogat α -2-glycoproteina 1 (engl. *Leucine-rich alpha-2-glycoprotein 1*)
- MALT – crijevno limfno tkivo (eng. *mucosa associated lymphoid tissue*)
- NET – neutrofilne ekstracelularne zamke (eng. *neutrophil extracellular traps*)
- NN – narodne novine
- PAS – klinička bodovna ljestvica koja služi za procjenu vjerojatnosti akutnog apendicitisa za pedijatrijsku populaciju (eng. *pediatric appendicitis score*)
- RAGE – receptori za napredne produkte glikacije (engl. *receptors for advanced glycation end products*)
- SAGES – Američko društvo gastrointestinalnih i endoskopskih kirurga (engl. *Society of American Gastrointestinal and Endoscopic Surgeons*)
- Th2 – T pomoćne stanice tipa 2 (engl. *T helper 2 cell*)
- TNF – tumor nekrotizirajući čimbenik (engl. *factor*)

1. UVOD

1.1. Crvuljak

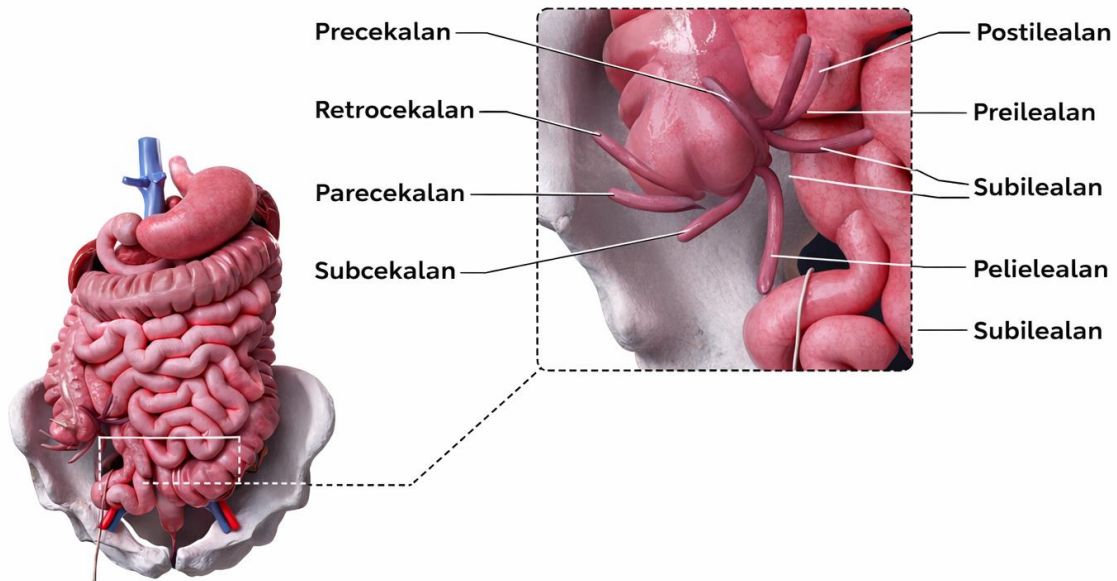
1.1.1. Anatomija crvuljka

Crvuljak (lat. *Appendix vermiformis*) je uska, tubularna struktura koja se razvija iz posteromedijalnog dijela sljepog crijeva (lat. *caecum*) u donjem desnom kvadrantu trbuha. Prosječne je duljine otprilike 9 cm, crvolikog je oblika, a baza mu se nalazi blizu konvergencije tenije sljepog crijeva (lat. *taeniae colli*), oko 2 cm ispod ileocealnog zaliska. Crvuljak nema tenije, haustre i omentalne dodatke tipične za debelo crijevo (Slika 1) [1–4].



Slika 1. Anatomija crvuljka. Preuzeto i prilagođeno prema: Tang SJ, Wu R. Ileocecum: A Comprehensive Review. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2019;2019:1451835. Djelo otvorenog pristupa licencirano pod CC-BY 4.0 licencom.

Vrh crvuljka pokazuje varijabilne položaje; najčešće je položen retrocekalno (65–75% slučajeva), potom zdjelično (oko 30%), a manje učestali položaji mogu biti subcekalni, preilealni, postilealni ili paracekalni. Ova varijabilnost, zbog nepotpune rotacije srednjeg crijeva tijekom embriogeneze, utječe na kliničku sliku u stanjima poput apendicitisa (Slika 2) [5]. Mezoapendiks ga veže za terminalni ileum, koji sadrži njegove neurovaskularne strukture [1–3].



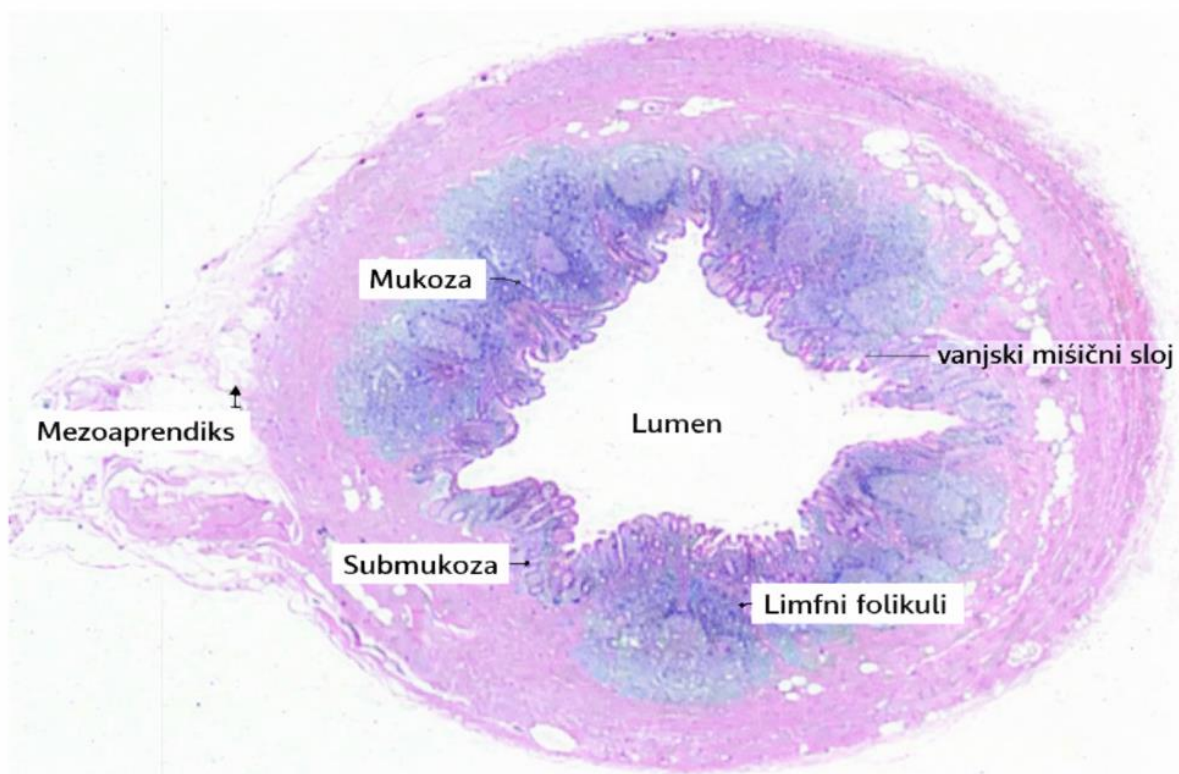
Slika 2. Varijacije položaja crvuljka. Preuzeto i prilagođeno prema: Anatomy Next Inc. Position variations of vermiform appendix [Internet]. Anatomy.app; 2023. Dostupno na: <https://anatomy.app/media/abdomen-intestines-cecum-vermiform-appendix-positions-1-2-12873>. Djelo otvorenog pristupa licencirano pod CC-BY 4.0 licencom.

Arterijska opskrba crvuljka dolazi iz apendikularne arterije, grane ileokolične arterije (iz gornje mezenterične arterije), koja ulazi u bazu i prolazi mezoapendiksom. Venska drenaža, paralelno s arterijskom opskrbom, polazi preko apendikularne vene u gornju mezenteričnu venu. Okluzija venske drenaže na ovom nivou doprinosi ishemiji u akutnom apendicitisu [2].

1.1.2. Histologija i embriologija crvuljka

Stijenka se crvuljka sastoji od sluznice s dubokim kriptama i obilnim limfoidnim folikulima (istaknutim u podsluznici i lamini proprijii), podsluznice, mišićnog sloja (pravilni kružni i uzdužni slojevi) i seroze. Epitelne M-stanice uzorkuju luminalne antigene, podržavajući imunološku ulogu crvuljka. Za razliku od debelog crijeva, sadrži parafolikularno limfoidno tkivo (Slika 3) [6]. Embriološki razvoj crvuljka obilježen je njegovim nastankom kao divertikula kaudalnog kraka srednjeg crijeva tijekom petog tjedna gestacije. Slijepo crijevo i crvuljak u početku se razvijaju kao jedinstvena cjevasta struktura, pri čemu se crvuljak formira kao uski izdanak s vrha sljepog crijeva. Tijekom fetalnog razvoja položaj sljepog crijeva i crvuljka mijenja se uslijed fiziološke umbilikalne hernijacije i naknadne migracije crijeva. Slijepo crijevo isprva zauzima subhepatični položaj, a s napredovanjem gestacije se postupno spušta u desni donji kvadrant trbuha [7]. Crvuljak prolazi kroz

značajne promjene sazrijevanja tijekom gestacije. Debljina sluznice, podsluznice i mišićnog sloja se postupno povećava s napredovanjem gestacijske dobi, dok se limfoidni folikuli prvi put pojavljuju u drugom tromjesečju, što označava početak njegove imunološke funkcije. Razvoj enteričnog živčanog sustava i Cajalovih stanica u crvuljku razlikuje se od ostalih dijelova crijeva, čime se podupire njegova posebna motilitetna i funkcionalna uloga [8]. Konačni anatomski položaj i morfologija crvuljka rezultat su složenih interakcija tijekom fetalne migracije i fiksacije crijeva, uz zabilježenu značajnu varijabilnost, kako u fetalnoj, tako i u odrasloj populaciji.

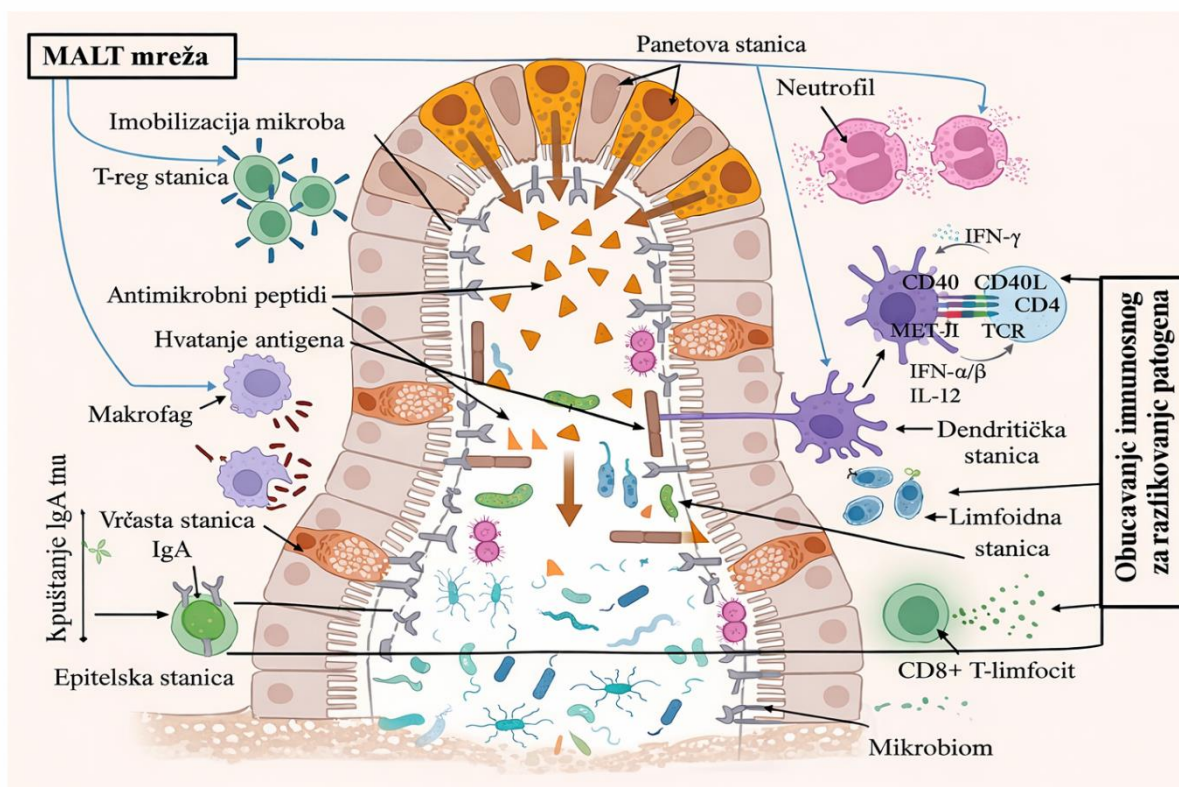


Slika 3. Histologija crvuljka. Preuzeto i prilagođeno prema: Kooij IA, Sahami S, Meijer SL, Buskens CJ, Te Velde AA. The immunology of the vermiform appendix: a review of the literature. Clin Exp Immunol. 2016;186(1):1-9. Djelo otvorenog pristupa licencirano pod CC-BY 4.0 licencom.

1.1.3. Funkcija crvuljka

Crvuljak igra ključnu ulogu u podršci imunološkom sustavu i zdravlju crijeva. Nekada smatran rudimentarnim, danas istraživanja pokazuju da djeluje kao rezervoar korisnih bakterija i pomaže imunološkim odgovorima [9, 10]. Crvuljak sadrži limfoidno tkivo koje pomaže u sazrijevanju B limfocita i proizvodnji antitijela imunoglobulina A, izlažući bijele krvne stanice crijevnim antigenima za ciljani imunitet [11]. Nakupljanje limfnog tkiva doseže vrhunac u ranoj

odrasloj dobi, podržavajući lokalni imunitet i istovremeno suzbijajući pretjerane reakcije (Slika 4) [12].



Slika 4. Funkcija crvuljka. Preuzeto i prilagođeno prema: Islam T, Sagor MS, Tamanna NT, Bappy MKI, Danishuddin, Haque MA, Lackner M. Exploring the Immunological Role of the Microbial Composition of the Appendix and the Associated Risks of Appendectomies. J Pers Med. 2025;15:112. Djelo otvorenog pristupa licencirano pod CC-BY 4.0 licencom.

Crvuljak sadrži raznoliku mikrobiotu, obnavljajući debelo crijevo zdravom florom nakon neravnoteže u poremećajima poput proljeva, crijevnih infekcija ili kod korištenja antibiotika. Ova struktura „sigurne kuće“ štiti komenzalne bakterije tijekom disbioze [10, 13].

1.2. Akutni apendicitis

1.2.1. Povijesni pregled

Apendicitis ima bogatu povijest koja obuhvaća otkrića u anatomiji, kliničko prepoznavanje i kirurški napredak. Rani anatomi identificirali su strukturu crvuljka, dok su liječnici 19. stoljeća povezali upalu crvuljka s akutnom upalom, što je dovelo do spasonosnih operacijskih zahvata. Crvuljak se pojavio u crtežima Leonarda da Vincija iz 1492. godine, a prvi pisani opis dao je Berengarius Carpus 1524. godine. Gabriele Falloppio usporedio ga je s crvom 1561. godine, čime

je i dobio naziv vermiformni apendiks (lat. *vermis* - crv). Jean Francois Fernel pružio je najraniji prikaz simptoma sličnih apendicitisu u 1500-ima. Godine 1812. James Parkinson predstavio je slučaj perforiranog crvuljka koji je prouzročio smrt djeteta. Reginald Fitz skovao je termin "apendicitis" 1886. godine, zagovarajući rano kirurško odstranjenje. Naziv kombinira latinski "appendix" (dodatak ili privjesak) sa sufiksom "-itis" (upala), slijedeći standardnu medicinsku nomenklaturu grčkih i latinskih korijena. Claudius Amyand izveo je prvu uspješnu apendektomiju 6. prosinca 1735. godine u bolnici St. George u Londonu na 11-godišnjem dječaku s perforiranim crvuljkom uzrokovanim progutanom iglom. Dječak se potpuno oporavio te je otpušten na kućnu njegu nakon mjesec dana. Charles McBurney opisao je standardno mjesto incizije 1889. godine, čime je standardizirao otvoren kirurški zahvat. Laparoskopiska apendektomija prvi je put izvedena 1981. godine zahvaljujući ginekologu Kurtu Semmu. Ishodi apendektomije devetnaestog stoljeća su revolucionalizirani, omogućivši sigurnije i preciznije operacijske zahvate, razvojem anestezije. Javno predstavljena 1846. godine, anestezija s eterom, zamijenila je fizičko sputavanje bolesnika, smanjujući stres i šok od boli te time omogućila duže, pažljivije zahvate [14]. Prije 1846. godine apendektomije su zahtijevale više asistenata koji bi držali i fiksirali bolesnike u grčevitim bolovima, ograničavajući operacije na brze zahvate, time povećavajući rizik poput nepotpunog uklanjanja ili nepotrebnog gubitka krvi. Smrtnost je bila visoka zbog šoka uzrokovnog boli, infekcija i krvarenja, a kirurgija je bila krajnja mjera [15]. Do 1880-ih, eter i kloroform olakšali su apendektomije tijekom rane upale, kako je zagovarao Reginald Fitz, što je drastično smanjilo smrtnost i utvrdilo kirurško liječenje kao zlatni standard. Poboljšane operacijske tehnike, u suradnji s anestezijom, transformirale su akutni apendicitis, iz često smrtonosnog stanja, u stanje koje se uspješno liječi.

Rani tretmani apendicitisa oslanjali su se na konzervativne, nekirurške, mjere prije nego što je apendektomija postala standard. Liječnici su ga često pogrešno dijagnosticirali kao peritifilis ili opću upalu trbuha, koristeći podržavajuću njegu za upravljanje simptomima [16]. Mirovanje u krevetu, gladovanje (crijevni odmor) i opijati poput opijuma pružali su olakšanje od boli i imali za cilj omogućiti tijelu da prirodno razriješi upalu. Klistiri s vodom, sapunom ili drugim sredstvima poticali su pražnjenje crijeva kako bi se smanjio pritisak [17]. Kirurgija je služila kao posljednja mjera za apscese ili peritonitis, uključujući drenažu vođenu hipokratskim načelom "*ubi pus, ibi evacua*" (gdje je gnoj, evakuiraj ga). Ovi pristupi imali su visoku smrtnost sve dok Reginald Fitz 1886. godine nije etablirao ranu apendektomiju, što je promijenilo paradigmu [15].

1.2.2. Epidemiologija

Akutni je apendicitis najčešći kirurški uzrok akutnog abdomena, s godišnjom incidencijom u razvijenim zemljama od približno 90–230/100 000 stanovnika i životnim rizikom oko 7–8% [18, 19]. Vršna učestalost javlja se u adolescenciji i mlađoj odrasloj dobi, češća je u muške populacije, a bilježe se izražene regionalne, sociodemografske i sezonske razlike [18–25].

Globalne analize tereta bolesti (GBD 2019 i 2021) procjenjuju dobno standardiziranu incidenciju oko 214/100 000 stanovnika, što odgovara približno 17 milijuna novih slučajeva godišnje [25]. U starijih odraslih incidencija je niža, ali je bolest češće komplicirana i povezana s komorbiditetima te atipičnom prezentacijom [26–28].

Incidencija je najveća u regijama visokog sociodemografskog indeksa, dok je niža u subsaharskoj Africi i niskodohodnim regijama, uz trend rasta u potonjima koji se povezuje sa “zapadnjačkim” načinom života i boljom dostupnošću zdravstvene skrbi [19, 20, 29, 30].

Apendicitis je rijetko stanje u djece mlađe od 5 godina i u osoba starijih od 50 godina, a najveća se incidencija bilježi u dobi 10–19 godina [31]. Bolest je nešto učestalija kod muške populacije (muškarci:žene \approx 1,3–1,5:1), odnosno muška populacija čini oko 52–55% slučajeva u većim serijama. [20, 21].

U dječjoj populaciji incidencija raste s dobi: u djece mlađe od 5 godina učestalost je oko 1–2/10 000 godišnje, a u školske djece i adolescenata 40–60/100 000, s vrhuncem incidencije u drugom desetljeću [32–34]. Učestalost je veća u dječaka, osobito u dobi 10–14 godina, dok pojedine serije bilježe blago višu incidenciju u djevojčica u dobi 1–4 godine [31].

Populacijske analize pokazuju da djeca/adolescenti (10–19 godina) i mladi odrasli (20–29 godina) čine najveći udio slučajeva, dok su stope niže u male djece i starijih odraslih [28, 31]. Medijan dobi u pedijatrijskim serijama iznosi oko 10–12 godina, naspram 28–30 godina u odraslih, uz sličan kumulativni životni rizik, ali veći rizik perforacije i dijagnostičkih pogrešaka u djece <5 godina [31–35].

U djece mlađe od 5 godina apendicitis je rijetko stanje te se često dijagnosticira kasno, s komplikacijama u >50–70% slučajeva [32–34].

Apendicitis je učestaliji u industrijaliziranim zemljama s prehranom bogatom rafiniranim ugljikohidratima i siromašnom vlaknima, dok su stope niže u agrarnim populacijama s visokim unosom vlakana [29, 30]. Višegodišnje nacionalne serije pokazuju sezonsku varijaciju s višim incidencijama u proljeće/ljeto i nižim zimi, pri čemu je u finskoj studiji porast temperature za 10 °C bio povezan s porastom incidencije oko 4% [22].

Francuske nacionalne analize potvrđuju postojanu sezonsku varijabilnost i gradijent sjever–jug te sugeriraju ulogu okolišnih čimbenika poput infekcija, promjena mikrobioma i prehrambenih navika [23, 25]. Tijekom pandemije COVID-19 zabilježen je pad broja prijavljenih nekomplikiranih slučajeva i porast udjela perforiranog apendicitisa, osobito u djece, što se pripisuje odgodi traženja medicinske pomoći [36, 37].

1.2.3. Etiopatogeneza i patofiziologija

Etiopatogeneza akutnog apendicitisa multifaktorijalna je i, još uvijek, nije u potpunosti razjašnjena. Klasični patofiziološki model temelji se na opstrukciji lumena crvuljka, najčešće uzrokovanoj apendikolitima, limfoidnom hiperplazijom (osobito u mlađih bolesnika), a rjeđe neoplazmama, ili stranim tijelima [38, 39]. Posljedična opstrukcija dovodi do porasta intraluminalnog tlaka, poremećaja venskog otjecanja, ishemije, bakterijskog prerastanja te razvoja upale i nekroze stijenke crvuljka. Međutim, novija istraživanja upućuju na to da opstrukcija nije prisutna u svim slučajevima te da u određenim okolnostima može predstavljati posljedicu, a ne primarni uzrok upalnog procesa [39, 40].

Infektivni i imunološki mehanizmi, u etiopatogenezi akutnog apendicitisa, sve se više prepoznaju. Crvuljak sadrži raznolik crijevni mikrobiom, a promjene u sastavu bakterijskih populacija, osobito porast vrsta roda *Fusobacterium*, povezane su s težinom kliničke slike i povećanim rizikom od perforacije [40]. Uloga imunološke disregulacije dodatno je potkrijepljena nalazima Th2-posredovanih reakcija preosjetljivosti, pri čemu citokini poput IL-4, IL-5, IL-9 i IL-13 sudjeluju u oštećenju tkiva i eozinofilnoj infiltraciji, nalik mehanizmima alergijskih reakcija [41].

Aktivacija neutrofila i stvaranje ekstracelularnih mreža neutrofila (NET-ova) također doprinose upalnoj kaskadi i razvoju tkivnog oštećenja [42].

1.2.4. Klinička slika

Prema suvremenoj literaturi, klasična klinička prezentacija akutnog apendicitisa uključuje bol u trbuhu koja započinje u periumbilikalnoj regiji te se unutar 24 sata premješta u desni donji kvadrant, praćeno gubitkom apetita te pojavom mučnine i, eventualno, povraćanja. Fizikalni znakovi poput osjetljivosti u McBurneyjevoj točki, Rovsingova znaka, psoasnog i obturatornog znaka mogu biti prisutni u različitom opsegu te pokazuju varijabilnu osjetljivost i specifičnost [39, 43]. Povišena tjelesna temperatura i blaga leukocitoza česti su, ali nisu univerzalni nalazi. Važno je naglasiti da klinička slika može biti atipična ovisno o anatomskom položaju crvuljka, kao i da komplicirani oblici apendicitisa mogu uključivati dizurične tegobe, dulje trajanje simptoma te izraženije povišene upalne biomarkere.

Istraživanja pokazuju da su izolirana osjetljivost u desnoj ilijačnoj jami, bol na dekompresiju, migracija boli te lokalna obrambena napetost mišića među najprediktivnijim kliničkim nalazima [44]. Ipak, nijedan pojedinačni simptom ili klinički znak nije dovoljan za pouzdano potvrđivanje ili isključivanje dijagnoze akutnog apendicitisa, a atipične kliničke prezentacije česte su, osobito u djece, starijih osoba i trudnica [45]. Tako se u djece mlađe od tri godine zbog nespecifične slike (febrilitet, povraćanje, proljev, letargija) u 85% imamo kliničku sliku difuznog peritonitisa s perforiranim apendicitisom.

Klinički bodovni sustavi kombiniraju simptome, fizikalne znakove i laboratorijske parametre s ciljem poboljšanja dijagnostičke točnosti, pri čemu su u novijim istraživanjima *Appendicitis inflammatory Response score* (AIR), *Adult Appendicitis score* (AAS) i *Pediatric Appendicitis score* (PAS), pokazali najbolju dijagnostičku učinkovitost [46]. Radiološka obrada često je nužna za potvrdu dijagnoze, osobito u slučajevima atipične kliničke slike ili u populacijama s visokom razinom dijagnostičke nesigurnosti.

1.2.5. Dijagnostička obrada

Dijagnostička obrada akutnog apendicitisa temelji se na strukturiranom pristupu koji uključuje kliničku procjenu, laboratorijsku dijagnostiku, slikovne metode i primjenu već spomenutih kliničkih bodovnih sustava.

Laboratorijska obrada uključuje kompletnu krvnu sliku s diferencijalnom krvnom slikom, pri čemu su blaga leukocitoza i pomak ulijevo česti, ali nespecifični nalazi. C-reaktivni protein

(CRP) i ostali upalni biljezi mogu biti povišeni te doprinose procjeni rizika, osobito kada se interpretiraju u kombinaciji s kliničkim nalazima. Analiza urina i određivanje β -hCG-a preporučuju se radi isključenja infekcije mokraćnog sustava i izvanmaternične trudnoće, osobito u žena reproduktivne dobi [39, 47].

Slikovne dijagnostičke metode imaju ključnu ulogu u slučajevima dijagnostičke neizvjesnosti. Američko radiološko društvo preporučuje kompjutoriziranu tomografiju (CT) kao metodu prvog izbora u odraslih bolesnika, s obzirom na njezinu visoku osjetljivost i specifičnost koje prelaze 90%. Ultrazvuk je preferirana metoda u djece i trudnica zbog izbjegavanja izloženosti ionizirajućem zračenju, iako je njezova dijagnostička točnost uvelike ovisna o iskustvu ispitivača jer je riječ o relativno subjektivnoj metodi. Magnetska rezonancija (MR) primjenjuje se u odabranim slučajevima kada je izloženost zračenju kontraindicirana, a ultrazvučni nalaz nejasan ili nedostatan [40, 47, 48].

1.2.6. Diferencijalna dijagnoza

Ključne studije koje se bave diferencijalnom dijagnozom akutnog apendicitisa ističu kako bol u desnom donjem kvadrantu trbuha može biti uzrokovana širokim rasponom patoloških stanja, zbog čega je precizna dijagnostička diferencijacija nužna kako bi se izbjegli nepotrebni kirurški zahvati i previdjele alternativne dijagnoze. U žena reproduktivne dobi najčešće diferencijalno dijagnostičke mogućnosti uključuju upalnu bolest zdjelice, gastroenteritis, infekciju mokraćnog sustava, rupturu folikula jajnika te izvanmaterničnu trudnoću [45]. U dječjoj populaciji diferencijalna dijagnoza ovisi o dobi. Kod mlađe djece najčešći su mezenterijalni limfadenitis, invaginacija crijeva i enterobijaza. Kod adolescentica treba razmišljati o upalnoj bolesti zdjelice i torziji jajnika [48, 49]. Također je bitno napomenuti kako prva epizoda Crohnove bolesti, u vidu terminalnog ileitisa, se može prezentirati kao akutni apendicitis, zatim maligne bolesti, poput karcinoida i Burkittovog limfoma, mogu se manifestirati kliničkom slikom nalika akutnom apendicitisu [48].

Divertikulitis crvuljka patohistološki se razlikuje od akutnog apendicitisa te se može diferencirati na temelju određenih kliničkih obilježja, poput starije životne dobi, muškog spola, nižih vrijednosti leukocita i većeg rizika od nastanka apscesa ili perforacije [50]. U bolesnika s bolovima lokaliziranim u lijevoj polovici abdomena potrebno je razmotriti epiploični apendagitis i

divertikulitis kolona, pri čemu nalaz na kompjutoriziranoj tomografiji ima ključnu ulogu u postavljanju diferencijalne dijagnoze [51].

1.3. Liječenje

Liječenje akutnog apendicitisa zadnjih je desetljeća značajno uznapredovalo te su terapijski pristupi prošireni s isključivo kirurškog na individualizirani model liječenja, koji uključuje i neoperativno liječenje u odabраних bolesnika. Odabiru optimalne terapijske strategije prethode klinička slika, pretpostavljeni stupanj akutne upale crvuljka i radiološke snimke. Bitno je sveukupno procijentiti rizik, a sve s ciljem postizanja optimalnog ishoda s najmanjom mogućom stopom komplikacija, posebice u bolesnika dječje dobi.

Nekirurško liječenje akutnog nekompliciranog apendicitisa primjenom antibiotika predstavlja sigurnu terapijsku alternativu u pažljivo odabраних bolesnika (ultrazvučno isključen apendikolit, promjer crvuljka <11 mm, broj leukocita <15 000/ μ L, CRP <5 mg/L). Brojna randomizirana klinička ispitivanja i metaanalize, pokazale su da približno 60% odraslih bolesnika liječenih isključivo antibioticima izbjegne kirurški zahvat tijekom petogodišnjeg razdoblja praćenja, iako se stopa recidiva kreće između 30 i 40 % [52, 53]. Uobičajeni terapijski protokoli uključuju primjenu antibiotika tijekom 7 do 10 dana, pri čemu je ambulantno liječenje moguće u većine bolesnika [54].

1.3.1. Kirurško liječenje

Temelj kirurškog liječenja akutnog apendicitisa sastoji se u odstranjenju upalno promijenjenog crvuljka, s ciljem sprječavanja progresije bolesti i razvoja komplikacija u vidu perforacije, apscesa i peritonitisa. S obzirom na klinički stadij bolesti, specifične anatomske-tehničke uvjete i opće stanje bolesnika, odabir kirurške tehnike zasniva se na minimalno invazivnim suvremenim pristupima, koje karakterizira sigurnost i učestalost povoljnih postoperativnih ishoda [55].

1.3.2. Klasična otvorena apendektomija

Klasična otvorena apendektomija desetljećima je predstavljala standardni kirurški pristup u liječenju akutnog apendicitisa, omogućujući izravan pristup crvuljku i pouzdanu kontrolu upalnog procesa. Otvorena apendektomija, koja se izvodi putem incizije u desnom donjem kvadrantu abdomena (najčešće McBurneyjevom ili Rocky-Davisovom incizijom), i dalje predstavlja sigurnu i

učinkovitu kiruršku metodu, osobito u slučajevima kada je laparoskopski pristup kontraindiciran ili kada je tijekom zahvata potrebna konverzija zbog tehničkih ograničenja, uznapredovale bolesti ili prethodnih operacijskih zahvata. Unatoč tome, njezina je primjena značajno opala, pri čemu suvremeni podatci pokazuju da se svega 2–3 % apendektomija u Sjedinjenim Američkim Državama izvodi otvorenim pristupom, a većina takvih zahvata rezultat je konverzije započete laparoskopske procedure [55, 56].

1.3.3. Laparoskopska apendektomija

Laparoskopska apendektomija predstavlja zlatni standard liječenja u većine bolesnika, jer je povezana s kraćom hospitalizacijom, bržim oporavkom i nižom učestalošću infekcija kirurške rane u usporedbi s otvorenim apendektomijom. Društvo američkih gastroenteroloških i endoskopskih kirurga (SAGES) te Američko udruženje za traumatološku kirurgiju (AAST) preporučuju laparoskopsku apendektomiju kao terapiju izbora u akutnom nekompliciranom apendicitisu, uključujući i trudnice, osim u slučajevima postojanja kontraindikacija. Standardna praksa uključuje prijeoperacijsku primjenu jedne doze intravenskih antibiotika širokog spektra (npr. Cefoksitin, Gentamicin ili cefazolin u kombinaciji s metronidazolom), dok poslijeoperacijska antibiotska terapija nije indicirana u nekompliciranim slučajevima [57]. Oporavak je značajno brži u djece, posebno kod nekompliciranog apendicitisa gdje se djeca mogu otpustiti, s bolničkog liječenja na kućnu njegu, već drugog poslijeoperacijskog dana [58].

1.3.4. Komplikacije i praćenje

Najčešće komplikacije akutnog apendicitisa uključuju infekciju kirurške rane, intraabdominalni apsces, dehiscenciju rane, crijevnu opstrukciju te u težim slučajevima, sepsu ili smrtni ishod. Laparoskopska apendektomija povezana je s nižom učestalošću infekcija kirurške rane i bržim oporavkom u usporedbi s otvorenim pristupom, iako može biti praćena blago povećanim rizikom od nastanka intraabdominalnog apscesa. U kompliciranom apendicitisu (npr. perforacija, apsces) neposredni kirurški zahvat nosi višu stopu komplikacija u odnosu na inicijalno neoperacijsko liječenje antibioticima uz perkutanu drenažu, osobito u klinički stabilnih bolesnika [57]. Komplikacije nakon primarnog liječenja antibioticima uključuju nastanak apscesa, ponovnu pojavu apendicitisa te rijetko, previđenu malignu bolest, osobito u starijih bolesnika. Rizik od ozbiljnih neželjenih događaja usporediv je između primarnog kirurškog liječenja i pristupa temeljenog na inicijalnoj primjeni antibiotika, međutim bolesnici s prisutnim apendikolitom imaju

višu stopu komplikacija pri neoperacijskom liječenju [59]. Poseban problem predstavljaju djeca mlađa od 3 godine jer u njih liječenje traje znatno duže zbog učestale stope peritonitisa tj. kompliciranih akutnih apendicitisa.

Preporučeno praćenje nakon apendektomije uključuje nadzor mogućih komplikacija poput infekcije kirurške rane, intraabdominalnog apscesa te perzistencije ili pogoršanja simptoma. Bolesnike je potrebno upozoriti da potraže liječničku pomoć u slučaju pojave vrućice, porasta abdominalne boli, povraćanja ili promjena na mjestu operacijskog reza. Nakon neoperacijskog liječenja preporučuje se kontrolni pregled unutar 1–2 dana zbog procjene kliničkog odgovora, uz ponovnu evaluaciju u slučaju perzistiranja ili pogoršanja simptoma. U odraslih bolesnika starijih od 40 godina s kompliciranim apendicitisom liječenim neoperacijskim pristupom preporučuje se kolonoskopija ili kontrastno pojačana kompjutorizirana tomografija unutar tri mjeseca zbog isključenja eventualne maligne bolesti [40, 59]. Dugoročno praćenje indicirano je u bolesnika s ponavljajućim simptomima ili onih s povećanim rizikom za razvoj neoplazme.

1.4. Upala, imunitet i upalni odgovor u akutnom apendicitisu

Akutni apendicitis započinje lokalnom upalom stijenke crvuljka, koja može biti potaknuta opstrukcijom lumena, poremećajem crijevne mikrobiote ili aktivacijom imunološkog sustava. Upalni proces uključuje složenu interakciju prirođenog i stečenog imunološkog odgovora. Rana istraživanja ukazuju na pojačanu ekspresiju antimikrobnih peptida epitelnog porijekla i receptora za prepoznavanje uzoraka (NOD2, Toll-like receptori), kao i na povećanu proizvodnju proupalnih citokina poput IL-1 β i IL-8 u tkivu crvuljka, što upućuje na aktivaciju prirođenog imuniteta te regrutaciju neutrofila i drugih efektorskih stanica.

1.4.1. Leukociti

Uloga i značenje leukocita u patogenezi, dijagnostici i progresiji akutnog apendicitisa dobro su opisani u medicinskoj literaturi. Leukocitoza (broj leukocita >10 000/ μ L) prisutna je u 67–90% bolesnika s akutnim apendicitisom, dok se u približno 80% slučajeva bilježi pomak ulijevo s povećanim udjelom neutrofila, što odražava akutni upalni odgovor i regrutaciju neutrofila u području crvuljka [60, 61]. Aktivacija neutrofila i stvaranje ekstracelularnih mreža neutrofila (NET-ova) ima važnu ulogu u patogenezi i težini bolesti, pri čemu su povišene razine biljega poput neutrofilne elastaze i citruliniranog histona H3 povezane s intenzitetom upalne aktivnosti i

oštećenjem tkiva [42]. Neutrofilija je osobito korisna u pedijatrijskoj populaciji, gdje pridonosi postavljanju dijagnoze i korelira s prognozom bolesti, više vrijednosti leukocita povezane su s povećanim rizikom od infektivnih komplikacija i težim kliničkim oblicima apendicitisa. Kombinacija broja leukocita i vrijednosti CRP-a poboljšava dijagnostičku točnost, budući da su oba parametra rijetko uredna u bolesnika s pravim akutnim apendicitisom [62]. Dinamika leukocita također odražava tijek bolesti: rani stadiji akutnog apendicitisa obilježeni su leukocitozom i neutrofilijom, dok se u kompliciranim ili perforiranim oblicima bilježe više vrijednosti leukocita i izraženiji upalni parametri [63].

1.4.2. C-reaktivni protein

C-reaktivni protein (CRP) glikoprotein je akutne faze koji sudjeluje u urođenom imunom odgovoru, a njegova se sinteza naglo povećava pri gotovo svakom značajnijem upalnom zbivanju u organizmu. CRP se primarno sintetizira u hepatocitima pod utjecajem proinflammatoryh citokina, ponajprije interleukina-6 (IL-6), ali i IL-1 β i TNF- α . Interleukin-6 luče aktivirani makrofagi, monociti, T-limfociti i adipociti kao odgovor na infekciju, nekrozu tkiva, traumu i druge upalne podražaje. Fiziološki je prisutan u vrlo niskim koncentracijama, a smatra se jednim od najosjetljivijih i najbrže reagirajućih proteina akutne faze. Porast koncentracije CRP-a u serumu započinje 6–9 sati nakon početka upale, maksimum doseže za 24–72 sata, a vrijednosti se mogu povećati i do 10^{4-10} puta u odnosu na bazalne. C-reaktivni protein vrijedan je dodatak u dijagnozi, prognozi i liječenju akutnog apendicitisa, ali se ne smije koristiti izolirano. U dijagnostičkom smislu, CRP pokazuje umjerenu osjetljivost i specifičnost, pri čemu je njegova dijagnostička točnost najveća kada se tumači u kombinaciji s kliničkim nalazima i drugim laboratorijskim parametrima, poput broja leukocita. Povišene vrijednosti CRP-a povećavaju vjerojatnost postojanja akutnog apendicitisa, dok uredne vrijednosti pouzdano ne isključuju dijagnozu, osobito u ranim fazama bolesti ili u pedijatrijskoj populaciji. Istodobno uredne vrijednosti CRP-a i leukocita čine akutni apendicitis vrlo malo vjerojatnim, iako ga u potpunosti ne isključuju [49, 64]. U prognostičkom smislu, više vrijednosti CRP-a snažno su povezane s kompliciranim oblicima apendicitisa, uključujući gangrenozni, perforirani apendicitis i nastanak apscesa. Određene granične vrijednosti CRP-a (npr. >50–58 mg/L u djece te >32,7 mg/L u odraslih) pokazale su se korisnima u predviđanju kompliciranog tijeka bolesti, dok je omjer CRP-a i albumina >7,1 visoko specifičan pokazatelj perforacije [65-67]. Serijska mjerenja CRP-a mogu dodatno pridonijeti stratifikaciji rizika i

donošenju terapijskih odluka, poput odabira između ranog kirurškog zahvata i neoperativnog liječenja.

1.4.3. Ostali upalni biomarkeri

Sistemske upalne biljezi, uključujući povišene serumske koncentracije IL-6, IL-8, TNF- α i IL-10, povezani su s težinom kliničke slike te su značajno izraženiji u kompliciranim i perforiranim oblicima apendicitisa, kako u odraslih tako i u djece. Ovi citokini sudjeluju u aktivaciji leukocita, povećanju vaskularne permeabilnosti i razvoju oštećenja tkiva, a njihove razine mogu doprinijeti razlikovanju nekompliciranog od kompliciranog tijeka bolesti [63, 68]. Noviji dokazi upućuju na važnu ulogu Th2-posredovane reakcije preosjetljivosti u patogenezi akutnog apendicitisa, pri čemu se u tkivu crvuljka bilježi infiltracija eozinofila te povišene koncentracije Th2 citokina (IL-4, IL-5 i IL-13) i IgE-a, što pokazuje sličnosti s mehanizmima alergijskih reakcija [41, 69]. Ovaj imunološki obrazac najizraženiji je u flegmonoznom apendicitisu, dok Th1-posredovani odgovori imaju veću važnost u gangrenoznim oblicima bolesti [70]. Genetski polimorfizmi kod gena uključenima u upalni odgovor (npr. IL-13, IL-17) dodatno moduliraju osjetljivost i težinu kliničke slike, što podupire koncept genetski reguliranog upalnog odgovora u razvoju apendicitisa [71].

1.5. CRP kao dijagnostički biomarker

C-reaktivni protein široko je istraživani kao dijagnostički biomarker u akutnoj upali crvuljka no sam po sebi ne može pouzdano potvrditi niti isključiti dijagnozu. Povišene vrijednosti CRP-a povezane su s akutnim apendicitisom te često koreliraju s težinom bolesti, osobito u razlikovanju nekompliciranih od kompliciranih oblika [72, 73]. Međutim, normalne vrijednosti CRP-a ne isključuju postojanje apendicitisa, a osjetljivost i specifičnost CRP-a kao samostalnog testa nisu dovoljne za postavljanje definitivne dijagnoze [64]. Kombinacija CRP-a s drugim laboratorijskim pokazateljima, poput broja leukocita, poboljšava dijagnostičku točnost, osobito u pedijatrijskoj populaciji, pri čemu se postiže veća osjetljivost i negativna prediktivna vrijednost za komplicirani apendicitis [74, 75].

1.5.1. Biološka uloga i kinetika CRP-a

Vrijednosti CRP-a rastu s jačinom upale i duljinom trajanja simptoma, a viši granični pragovi mogu biti prediktivniji za perforaciju ili teži oblik bolesti [66]. Novija istraživanja upućuju kako bi CRP iz sline mogao predstavljati obećavajuću neinvazivnu alternativu serumskom CRP-u u djece,

s usporedivim dijagnostičkim učinkom [76]. CRP je protein akutne faze koji sintetiziraju hepatociti kao odgovor na proinflamatorne citokine, ponajprije interleukin-6, koji se oslobađaju tijekom oštećenja tkiva ili infekcije. Kinetika CRP-a u akutnom apendicitisu obilježena je postupnim porastom tijekom prva 72 sata bolesti, pri čemu se s napredovanjem upalnog procesa mogu primijeniti viši granični pragovi za razlikovanje nekompliciranih i kompliciranih oblika. Serijska mjerenja CRP-a mogu biti korisna u praćenju tijeka bolesti ili odgovora na terapiju, budući da trajno povišene ili rastuće vrijednosti CRP-a mogu upućivati na perzistentnu ili pogoršavajuću upalu [77, 78].

1.5.2. Dijagnostička vrijednost serumskog CRP-a u akutnom apendicitisu

U pedijatrijskoj populaciji granične vrijednosti CRP-a iznad 25 mg/L povećavaju vjerojatnost dijagnoze apendicitisa, dok vrijednosti niže od 8–10 mg/L približno otprilike prepolovljuju tu vjerojatnost [49, 73]. Uključivanje CRP-a u kliničke bodovne sustave, poput Alvaradova zbroja bodova dodatno poboljšava dijagnostičku točnost, osobito u dijagnostički nejasnim slučajevima [79]. Meta-analize pokazuju da CRP ima objedinjenu osjetljivost od 57% i specifičnost od 87% za dijagnozu akutnog apendicitisa, uz površinu ispod ROC krivulje od 0,75, čime nadmašuje prokalcitonin i pokazuje usporedivu dijagnostičku vrijednost s brojem leukocita [80]. CRP je stoga vrijedan alat za stratifikaciju rizika i usmjeravanje terapijskih odluka, ali se ne smije koristiti kao izolirani dijagnostički pokazatelj.

1.6. Slina kao dijagnostički uzorak u pedijatriji

Slinu, kao dijagnostički uzorak u pedijatrijskoj populaciji, odlikuju njezino neinvazivno prikupljanje, jednostavno rukovanje te prikladnost za ponavljana uzorkovanja u djece. Slina se sve više prepoznaje kao vrijedan biološki medij za otkrivanje biomarkera bolesti, praćenje terapijskih koncentracija lijekova i dijagnostiku infektivnih bolesti u dojenčadi, djece i adolescenata. Uzorkovanje sline općenito se dobro podnosi, pri čemu su metode brisa i aspiracije osobito pogodne za mlađu ili nesuradljivu djecu, dok su metode spontanog otjecanja ili ispljuvka primjenjive u starije djece i adolescenata [81]. Osim toga, slina se rutinski koristi za analizu hormona, genetsko testiranje te praćenje oralnog i općeg zdravstvenog stanja, pri čemu su dostupni i komercijalni dijagnostički setovi prilagođeni pedijatrijskoj populaciji [82].

1.6.1. Biološke značajke sline

Slina je složena biološka tekućina čiji je glavni sastojak voda, ali uz to sadrži širok raspon proteina, enzima, hormona, imunoglobulina, nukleinskih kiselina (DNA i RNA), metabolita, elektrolita te bogat mikrobiom. Njezin sastav odražava doprinos velikih i malih žlijezda slinovnica, gingivalne tekućine, deskvamiranih epitelnih stanica i serumskog transudata, što rezultira dinamičnom mješavinom koja odražava lokalno stanje usne šupljine, ali i sustavne fiziološke i patološke procese [83, 84]. Osnovne biološke funkcije sline uključuju lubrikaciju i zaštitu oralne sluznice, olakšavanje žvakanja i gutanja, inicijaciju probave ugljikohidrata putem amilaze, pufersko djelovanje, održavanje mineralizacije zubi te regulaciju oralnog mikrobioma. Slina također sadrži niz antimikrobnih i antivirusnih proteina i peptida – poput lizozima, laktoferina, mucina, defenzina, histatina i sekretornog imunoglobulina A (sIgA) – koji sudjeluju u prirođenoj i stečenoj imunološkoj obrani usne šupljine i gornjih dišnih i probavnih putova [85, 86]. Danas se, sve više, naglašava klinička i dijagnostička relevantnost sline, koja se primjenjuje kao neinvazivan dijagnostički uzorak za otkrivanje infektivnih bolesti, praćenje terapijskih koncentracija lijekova te identifikaciju biomarkera oralnih i sistemskih bolesti, uključujući maligne, autoimune i metaboličke poremećaje.

1.6.2. Prednosti i ograničenja neinvazivnog uzorkovanja

Prednosti neinvazivnih metoda uzorkovanja, poput prikupljanja sline u pedijatrijskoj populaciji, uključuju izvrsnu podnošljivost, minimalnu nelagodu te mogućnost ponavljanog uzorkovanja, što je osobito važno u dojenčadi, male djece te u bolesnika koji su nesuradljivi ili imaju strah od igala [82, 87]. Uzorkovanje sline izvedivo je u različitim okruženjima, uključujući kućne i ambulantne uvjete, bez potrebe za specijaliziranim osobljem ili opremom, čime se smanjuju troškovi i logističke prepreke [83]. U većini slučajeva, analize temeljene na slini pokazuju dobru korelaciju s mjerenjima iz krvi za određene lijekove i hormone, a uzorci sline stabilni su u uobičajenim uvjetima skladištenja i transporta [88]. Unatoč navedenim prednostima, primjena sline ima i određena ograničenja. Kvaliteta i volumen uzorka mogu varirati ovisno o dobi, razvojnom stadiju djeteta, stupnju suradnje i metodi uzorkovanja. Na sastav sline utječu čimbenici poput prehrane, doba dana i oralnog zdravlja, što može otežati interpretaciju biomarkera [88, 89]. Stanična heterogenost sline, uključujući različite udjele bukalnih epitelnih i imunoloških stanica, može utjecati na molekularne analize te zahtijeva pažljivu metodološku prilagodbu u istraživačkom i kliničkom okruženju [90]. Za pojedine dijagnostičke ciljeve slina može imati nižu osjetljivost u usporedbi s tradicionalnim uzorcima (npr. nazofaringealni brisevi za neke respiratorne viruse), a

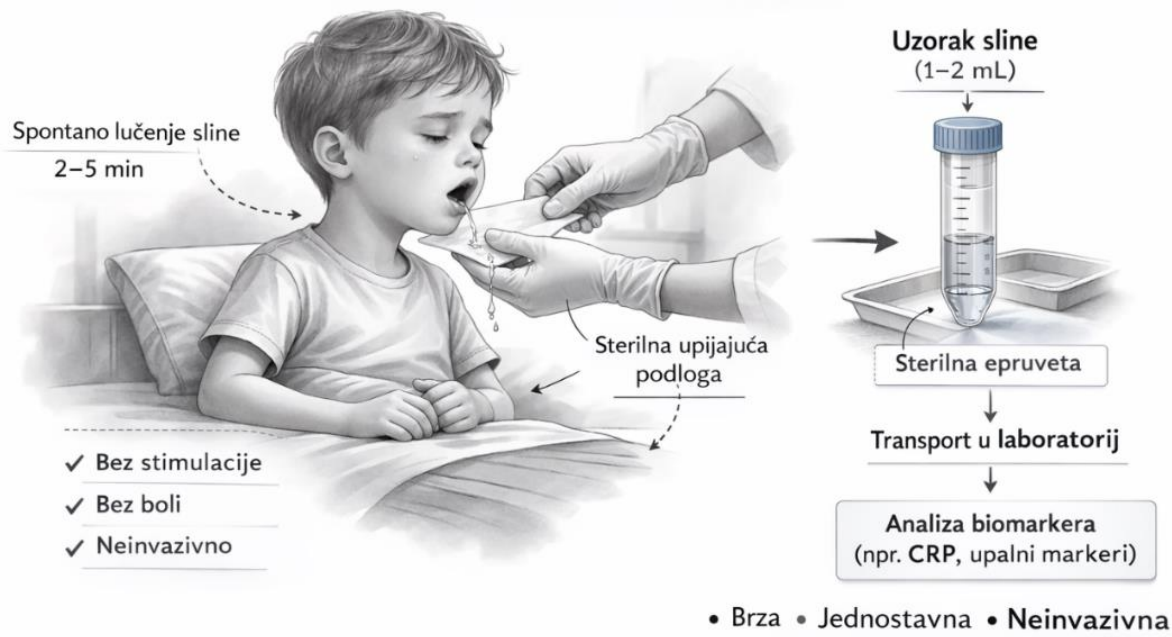
kontaminacija krvlju ili hranom te tehničke poteškoće u vrlo male djece mogu dodatno ograničiti pouzdanost rezultata [91].

1.7. CRP u slini

Ključni radovi upućuju na to da je određivanje CRP-a u slini obećavajući neinvazivni dijagnostički pristup, osobito u pedijatrijskoj populaciji, iako je njegova klinička primjena trenutačno ograničena određenim metodološkim i biološkim čimbenicima. Novija istraživanja u djece s akutnim apendicitisom i pneumonijom pokazala su da su koncentracije salivarnog CRP-a značajno povišene u stanjima bolesti te da snažno koreliraju sa serumskim CRP-om, uz visoku dijagnostičku osjetljivost i specifičnost. Neki radovi pokazuju da vrijednosti CRP-a u slini odražavaju vrijednosti CRP-a u serumu, i u dijagnostičkoj učinkovitosti i u korelaciji koncentracije, što podupire njegovu moguću primjenu u neinvazivnim dijagnostičkim metodama, posebno u trijaži i prehospitalnoj hitnoj službi [76].

Slični rezultati zabilježeni su i u djece s akutnim respiratornim infekcijama, gdje je salivarni CRP pokazao dobru korelaciju sa serumskim vrijednostima i visoku specifičnost u predviđanju povišenih serumskih koncentracija, što podupire njegovu primjenu u kliničkim situacijama u kojima je uzorkovanje krvi otežano [92, 93]. Unatoč navedenim prednostima, postoje i ograničenja ove metode, uključujući umjerenu korelaciju sa serumskim CRP-om u zdravih ispitanika ili odraslih populacija, izraženu dnevnu varijabilnost te osjetljivost na čimbenike poput upale oralne sluznice, brzine lučenja sline i načina uzorkovanja [94]. Salivarni CRP stoga ne odražava uvijek pouzdano sistemsku upalu, osobito u odraslih te zahtijeva pažljivu standardizaciju vremena uzorkovanja i procjenu oralnog zdravstvenog stanja. Metodološki pregledi dodatno naglašavaju potrebu za ujednačenim protokolima i transparentnim izvještavanjem kako bi se povećala pouzdanost i usporedivost rezultata. Jedna od najčešćih metoda uzorkovanja sline je tzv. "passive drool" metoda (Slika 5) [95].

Prikupljanje uzorka sline – pasivna „drool“ metoda za dijagnostiku akutnog apendicitisa



Slika 5. Uzorkovanje sline. Slika generirana pomoću: OpenAI. ChatGPT (model GPT-4) [Internet]. San Francisco: OpenAI; 2025 [cited 2026 Feb 21]. Available from: <https://chat.openai.com/>. Djelo autora.

1.7.1. Mehanizmi pojave CRP-a u slini

CRP se pojavljuje u slini ponajprije putem transudacije iz sistemske cirkulacije kroz krvno-slinovnu barijeru, pri čemu dostupni dokazi upućuju na postojanje i pasivne difuzije i aktivnih, receptorima posredovanih transportnih mehanizama. In vitro istraživanja na modelima oralne sluznice i epitelnih stanica žlijezda slinovnica pokazala su usmjereni prijenos CRP-a iz krvi u slinu, uz značajnu ulogu receptora za napredne produkte glikacije (RAGE) u olakšavanju tog procesa, što upućuje na to da CRP može prolaziti kroz epitelne barijere putem RAGE-ovisnog puta, a ne isključivo jednostavnom difuzijom [96]. Prisutnost i koncentracija CRP-a u slini pod utjecajem su brojnih bioloških i metodoloških čimbenika. U većini populacija salivarni CRP pokazuje tek umjerenu korelaciju sa serumskim vrijednostima, pri čemu su snažnije povezanosti zabilježene u akutnim upalnim stanjima, poput apendicitisa ili pneumonije u djece, dok su slabije izražene u zdravih odraslih ispitanika [93, 94]. Salivarni CRP pokazuje izraženu dnevnu varijabilnost, s višim

vrijednostima u jutarnjim satima, zbog čega je standardizacija vremena uzorkovanja nužna za pouzdanu interpretaciju rezultata [97]. Lokalna upala u usnoj šupljini, oralno zdravstveno stanje i brzina lučenja sline mogu značajno utjecati na koncentracije salivarnog CRP-a, jer lokalna produkcija ili razrijeđenje mogu „zamagliti“ odnos sa sistemskim razinama [98]. Osim toga, dob, pušački status i indeks tjelesne mase mogu neovisno modulirati vrijednosti salivarnog CRP-a, što dodatno otežava njihovu interpretaciju [97].

1.7.2. Korelacija serumskog i salivarnog CRP-a

Korelacija između serumskog i salivarnog CRP-a varira ovisno o populaciji i kliničkom kontekstu. U zdravih odraslih osoba i općoj populaciji ta je povezanost najčešće niska do umjerena (koeficijenti korelacije u rasponu od 0,4 do 0,7) te je pod utjecajem čimbenika poput dnevne varijabilnosti, oralnog zdravstvenog stanja i načina uzorkovanja [98–100]. Nasuprot tome, u pedijatrijskih bolesnika s akutnim upalnim stanjima, poput akutnog apendicitisa ili respiratornih infekcija, zabilježena je snažna korelacija, s vrijednostima Spearmanova ρ do 0,96 i Pearsonova r oko 0,67, što upućuje na to da salivarni CRP u tim okolnostima vjerno odražava promjene serumskih vrijednosti. Ipak, u približno 29% slučajeva mogu se pojaviti razlike veće od 10 mg/L, bez dosljednog smjera odstupanja u korist jednog ili drugog uzorka [76, 93]. Sveukupno, salivarni CRP predstavlja obećavajući neinvazivni biomarker u akutnim upalnim stanjima u djece, dok u zdravih ispitanika i odraslih populacija samo umjereno odražava serumске koncentracije te je podložan znatnoj biološkoj i metodološkoj varijabilnosti [100, 101].

1.7.3. Drugi salivarni biomarkeri kod akutnog apendicitisa

Uz salivarni CRP novija istraživanja identificirala su druge salivarne biomarkere poput leucinom-bogatog- α -2-glycoproteina 1 (LRG1) i irisina kao potencijalne neinvazivne alate za dijagnosticiranje akutnog apendicitisa u djece [76]. U jednoj novijoj studiji zabilježene su značajno više razine salivarnog LRG1 u djece s potvrđenim apendicitisom, uz specifičnost od 100% pri određenoj graničnoj vrijednosti, iako je osjetljivost bila ograničena [102]. Drugo istraživanje pokazalo je povišene razine salivarnog irisina u bolesnika s apendicitisom, uz osjetljivost od 90% i specifičnost od 60%, što upućuje na potencijalnu kliničku primjenjivost [103]. Ovi nalazi podupiru daljnje istraživanje salivarnih biomarkera u dijagnostici apendicitisa. Iako je njegova dijagnostička primjena u akutnom apendicitisu još uvijek u fazi istraživanja, preliminarne studije ukazuju na pozitivnu korelaciju između koncentracija salivarnog i serumskog CRP-a [102–104]. U novijim

radovima analiza salivarnog CRP-a pokazala se izvedivim, neinvazivnim alatom za detekciju abnormalnih serumskih razina CRP-a [95].

2. CILJ, PROBLEMATIKA I USTROJ ISTRAŽIVANJA

Većina rutinski dostupnih upalnih biomarkera trenutačno nema zadovoljavajuću osjetljivost ni specifičnost da bi se dosljedno potvrdila ili isključila dijagnoza akutnog apendicitisa. Primjena dijagnostičkog probirnog testa, prvenstveno onoga koji je neinvazivan, mogla bi unaprijediti učinkovitost dijagnostike i liječenja pedijatrijske populacije sa sumnjom na akutni apendicitis. CRP koji se rutinski određuje iz uzoraka krvi, jedan je od najvažnijih proinflammatoryh biomarkera u akutnom apendicitisu. CRP primarno sudjeluje u imunološkoj obrani, a njegove se koncentracije povećavaju kao odgovor na upalu, infekciju, oštećenje tkiva, nekrozu, malignu bolest i alergijske reakcije. Osim toga, CRP je vrijedan dodatni upalni biljeg u akutnom apendicitisu. Ipak, uzorkovanje krvi u djece često je izazovno zbog straha, boli i ograničene suradljivosti. Stoga postoji potreba za manje invazivnim alatom koji bi bio bolji ili barem jednako pouzdan za primjenu u pedijatrijskoj kliničkoj praksi. Budući da je riječ o neinvazivnoj, jednostavnoj i za pacijenta prihvatljivoj metodi, analiza sline ima potencijal postati novim dijagnostičkim alatom u pedijatriji.

2.1. Cilj istraživanja

Cilj istraživanja je usporediti dijagnostičku vrijednost CRP-a iz krvi i sline djece s akutnim apendicitisom te dokazati može li analiza biomarkera iz sline kao najmanje invazivan postupak biti dostatna za dijagnostiku akutnog apendicitisa.

2.2. Hipoteze

Istraživanjem smo postavili sljedeće hipoteze:

1. Razina CRP-a povećana je u krvi i slini djece s akutnim apendicitisom.
2. Razina CRP-a može služiti kao pouzdani marker u dijagnostici akutnog apendicitisa u djece.
3. Postoji dobra koleracija između razine CRP-a u serumu i slini u djece s akutnim apendicitisom.
4. Salivarni CRP sam za sebe može biti pouzdani marker u dijagnostici akutnog apendicitisa u djece.

2.3. Ustroj istraživanja

Istraživanje predloženo radi izrade ove doktorske disertacije klasificira se kao kliničko prospektivno istraživanje. Nakon uključivanja u studiju, djeca su podijeljena u dvije skupine. Prva skupina djece podvrgnuta je operacijskom liječenju (apendektomija), a druga kontrolna skupina, nije. Svi dobiveni podaci evaluirani su i uspoređeni primjerenim statističkim testovima.

2.4. Ishodi istraživanja

Primarni ishod istraživanja jest mjerenje cirkulirajućeg CRP-a u slini i njegova korelacija s serumskim CRP-om u djece s akutnim apendicitisom. Sekundarne mjere ishoda su analiza ostalih upalnih parametara (leukociti, i neutrofilii) i AIR ljestvice između ispitivanih skupina bolesnika.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ispitanici

Ova prospektivna, kontrolirana studija provedena je u Klinici za dječju kirurgiju i Zavodu za medicinsku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra (KBC) Split u razdoblju od 15. listopada 2023. do 30. prosinca 2024. U studiju je uključeno 89 djece koja su zadovoljavala sve potrebne ulazne kriterije, kao i dobrovoljni pristanak roditelja ili zakonskih skrbnika.

Kriteriji uključenja: ispitanici u dobi od 5 do 17 godina s akutnom abdominalnom boli te znacima i simptomima koji upućuju na akutni apendicitis, bez komorbiditeta.

Kriteriji isključenja: ispitanici mlađi od 5 i stariji od 17 godina, ispitanici kojima je prethodno dijagnosticirana kronična ili zloćudna bolest, ispitanici koji su prethodno bili podvrgnuta abdominalnoj operaciji, gravidne ispitanice te ispitanici čiji roditelji i/ili skrbnici nisu pristali na istraživanje.

Prije uključivanja u studiju, roditeljima i/ili zakonskim skrbnicima detaljno je objašnjeno istraživanje i njihova uloga u navedenom istraživanju te je zatražen njihov pristanak.

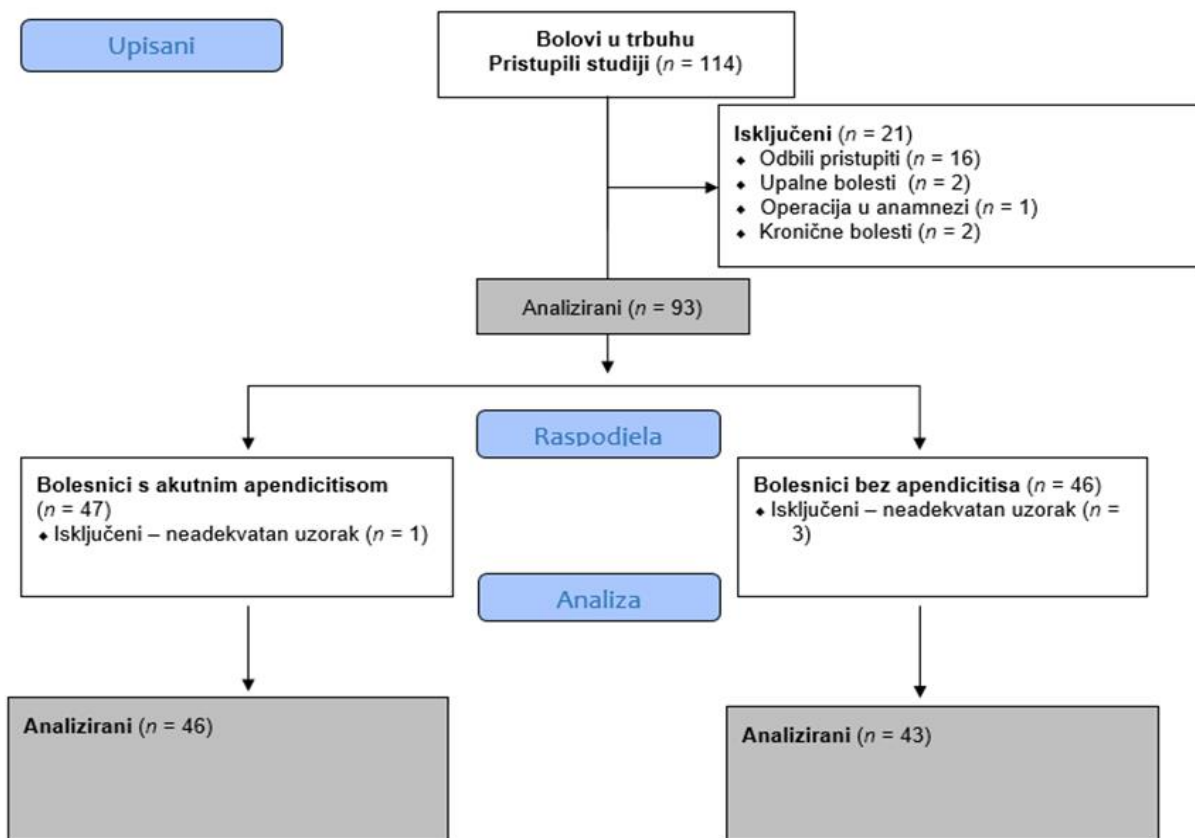
3.2. Metode prikupljanja podataka

Izvor podataka jest protokol studije (Prilozi 1 i 2) koji se popunjavao odmah po prijemu u Kliniku na bolničko liječenje odnosno nakon operacijskog zahvata za djecu koja su operirana. Roditelji i/ili zakonski skrbnici su potpisivali pisane pristanke za operacijski zahvat i za sudjelovanje u istraživanju.

3.2.1. Protokol studije

Svakom djetetu uključenom u studiju zabilježili su se demografski podaci, kliničke karakteristike, dijagnostičke pretrage (laboratorijski nalazi i ultrazvuk trbuha), operacijski nalazi, tijekom liječenja, te dijagnoze pri otpustu iz bolnice. Za provođenje ovog istraživanja, u tijeku dijagnostičke obrade, djetetu - ispitaniku uzet je uzorak periferne venske krvi iz koje su analizirani istraživani laboratorijski parametri (kompletna krvna slika, CRP). Uzorci sline dobiveni su pomoću Saliva Passive Drool metodom (Salimetrics, State College, PA, USA).

Za procjenu sedam različitih prediktivnih čimbenika akutnog apendicitisa korištena je ljestvica upalnog odgovora apendicitisa (AIR) [46]. Svim uključenim ispitanicima učinjen je ultrazvučni pregled trbuha i zdjelice. Ispitanici su bili podijeljeni u dvije skupine: Skupina akutnog apendicitisa (n = 46) sastojala se od ispitanika u kojih je akutni apendicitis potvrđen kliničkim pregledom, akutnim upalnim markerima u krvi i ultrazvukom trbuha i zdjelice, te poslijeoperacijski histopatološkom analizom. Potonjim ispitanicima učinjena je standardna laparoskopska apendektomija s tri radna porta [105]. Skupina ispitanika bez akutnog apendicitisa (n = 43) sastojala se od ispitanika koji su se javili s nespecifičnim bolovima u truhu te u kojih je isključen akutni apendicitis tijekom dijagnostičke obrade. Ispitanici su ove skupine zaprimljeni u bolnicu na promatranje zbog bolova u truhu. Akutni apendicitis isključen je nakon, najmanje, 24 sata promatranja u bolnici. Dijagram tijeka studije prikazan je na Slici 6.



Slika 6. Dijagram tijeka studije.

3.2.2. Laboratorijsko mjerenje upalnih parametara

Uzorke venske krvi prikupljeni su u dvije vrste epruveta: jednu s koagulacijskim aktivatorom i jednu s antikoagulansom tripotkalij etilendiamintetraoetenom kiselinom (K3 EDTA). Neposredno nakon uzorkovanja, uzorci su transportirani u centralni bolnički laboratorij. Epruveta s koagulacijskim aktivatorom centrifugirana je kako bi se dobio serum, koji je zatim korišten za određivanje koncentracije CRP-a. Uzorak prikupljen u K3 EDTA epruveti analiziran je za ukupan broj leukocita i neutrofila. Ovi hematološki parametri izmjereni su standardnim laboratorijskim hematološkim analizatorom (Advia 2120, Bayer, Leverkusen, Njemačka). Koncentracije CRP-a određene su imunoturbidimetrijskom metodom na biokemijskom analizatoru Cobas C702 (Roche, Rotkreuz, Švicarska).

Ispitanicima su uzeti uzorci sline, prilikom samog uključivanja u studiju, metodom pasivnog slinjenja („Saliva Passive Drool“) pomoću krioepruvete (SalivaBios Collection Aid, SCA) i pomagala za prikupljanje sline (Salimetrics, State College, PA, SAD). Prije uzimanja sline, ispitanici su isprali usnu šupljinu vodom kako bi uklonili čestice hrane te bi pričekali, najmanje, 10 minuta. Rebrasti kraj pomagala za prikupljanje sline je zatim smješten u prethodno označenu epruvetu za prikupljanje. Drugi kraj pomagala za prikupljanje sline stavljen je u usta, a u epruvetu je prikupljeno do 1,8 mL tekuće sline. Ispitanici su izbjegavali kašljanje i šmrkanje prilikom prikupljanja sline jer bi to dovodilo do pojave mjehurića, pjene i primjesa ispljuvka. Nakon što je epruveta ispunjena potrebnom količinom, pomagalo za prikupljanje sline je uklonjeno, a epruveta zatvorena čepom. Epruveta je potom stavljena u posudu s ledom i odnesena u laboratorij unutar 30 minuta.

Nakon prikupljanja, uzorci sline odmah su pohranjeni u hladnjak i zamrznuti na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Na dan analize svi su uzorci odmrznuti i centrifugirani 15 minuta na 1500 okretaja. Salivarne razine CRP-a određene su imunoenzimskim testom (ELISA) koristeći komercijalni testni komplet (Salimetrics, State College, PA, SAD). Svi uzorci razrijeđeni su neposredno prije mjerenja. Količina razrijeđenog uzorka korištena po jažici iznosila je $100\text{ }\mu\text{L}$, a raspon mjerenja bio je $0\text{--}800\text{ pg/mL}$. Za dobivanje konačne koncentracije CRP-a u uzorku, izražene u pg/mL , dobiveni rezultat množio se s odgovarajućim faktorom razrijeđenja.

3.2.3. Statistički postupci i izračun veličine uzorka

Svi statistički postupci provedeni su uporabom statističkog softvera MedCalc v23.0.6 (MedCalc Software Ltd., Ostend, Belgija). Kvalitativni podaci sažeti su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Kvantitativni podaci prikazani su kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija ili kao medijan i interkvartilni raspon, ovisno o distribuciji podataka. Normalnost distribucije procijenjena je D'Agostino–Pearsonovim testom. Ovisno o distribuciji, razlike između skupina bolesnika za kvantitativne varijable ispitane su nezavisnim t-testom, Welchovim t-testom u slučaju nejednakih varijanci uz približno normalnu distribuciju ili neparametrijskim Mann–Whitneyjevim testom. Razlike između skupina, za kvalitativne podatke, analizirane su hi-kvadrat testom.

Zbog procjene dijagnostičke učinkovitosti salivarnog CRP-a provedena je analiza ROC (eng. receiver-operating characteristic) krivulje prema metodi DeLonga i sur. [106], pri čemu su,

kao mjere točnosti testa, prikazani površina ispod krivulje (AUC) i Youdenov indeks (J). Dodatno, određen je optimalni granični prag za razdvajanje skupina, uz uvažavanje prevalencije bolesti, uz pretpostavku i temeljem podataka iz literature, da oko 7% djece koja se javljaju s bolovima u truhu ima akutnu upalu crvuljka [107, 108]. Za procjenu odnosa između serumske i salivarne razine CRP-a je najprije izračunat Spearmanov koeficijent rang-korelacije. Skladnost između serumskih i salivarnih mjerenja, dodatno, ispitana je Bland–Altmanovom analizom, pri čemu je izračunata srednja razlika s 95% intervalima pouzdanosti te određene granice suglasnosti.

Kako bi se utvrdilo je li salivarni CRP obećavajući biomarker za otkrivanje akutne upale crvuljka u djece, izračunata je potrebna veličina uzorka uz pretpostavku velikog učinka, s AUC-om od najmanje 0,80. Nulta hipoteza postavljena je na AUC od 0,50, uz pogrešku tipa I od 0,05, snagu testa od 90% i omjer veličine skupina s pozitivnim i negativnim ishodom 1:1. Na temelju ovih parametara, minimalna potrebna veličina uzorka iznosila je 34 ispitanika po skupini.

3.2.4. Etička načela

Provedeno je istraživanje u skladu s etičkim načelima iz Helsinške deklaracije, temeljnog dokumenta Svjetskog liječničkog udruženja za istraživanja koja uključuju ljudske sudionike. Tijekom i nakon istraživanja štite se prava i osobni podaci ispitanika u skladu sa Zakonom o zaštiti prava pacijenata (NN 169/04, 37/08) i Zakonom o zaštiti osobnih podataka (NN 103/03-106/12), a istraživanje je usklađeno s odredbama Kodeksa liječničke etike i deontologije (NN 55/08, 139/15). Roditelji ili zakonski skrbnici svih ispitanika tj. bolesnika, pristali su na sudjelovanje u istraživanju i to potvrdili pisanim putem tj. vlastoručnim potpisivanjem pristanka. Provođenje istraživanja odobrilo je Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Split (broj odobrenja: 500-03/23-01/185; datum odobrenja: 20. rujna 2023.). Istraživanje je prijavljeno u bazi ClinicalTrials.gov pod identifikacijskim brojem NCT060518.

4. REZULTATI

U istraživanje je uključeno ukupno 89 djece koji su bili podjeljeni u dvije skupine. Prvu skupinu činilo je 46 djece s akutnim apendicitisom, a u drugoj kontrolnoj skupini bilo je 43 djece. Demografski, klinički i laboratorijski podatci prikazani su u Tablicama 1 i 2. Nije bilo statistički značajnih razlika između dviju ispitivanih skupina bolesnika s obzirom na dob, spol, tjelesnu masu i visinu. Svi bolesnici u skupini s akutnim apendicitisom (n = 46) imali su pozitivne intraoperacijske nalaze koji su bili u skladu s akutnim apendicitisom što je i potvrđeno patohistološkom analizom. Patohistološkom analizom, u 28 (61%) slučajeva, definirana je gangrenozna upala, u 13 (28%) flegmonozna, a u 5 (11%) kataralna upala crvuljka. Nije bilo zabilježenih slučajeva negativne apendektomije.

Tablica 1. Demografski i klinički podatci bolesnika.

Varijabla	Akutni apendicitis (n = 46)	Kontrolna skupina (n = 43)	<i>p</i>
Dob (godine), medijan (IQR)	13 (10–15)	13 (11–14)	0,859†
Tjelesna visina (cm), srednja vrijednost ± SD	162,3 ± 16,3	161,0 ± 13,7	0,603‡
Tjelesna masa (kg), srednja vrijednost ± SD	53,3 ± 19,4	51,4 ± 13,5	0,680§
Spol, n (%) – muški	33 (72)	25 (58)	
Spol, n (%) – ženski	13 (28)	18 (42)	0,181¶

† Mann–Whitney test; ‡ Welchov t-test; § t-test za nezavisne uzorke; ¶ Hi-kvadrat test.
IQR – Interkvartilni raspon; SD – Standardna devijacija

Očekivano, u bolesnika s akutnim apendicitisom, u odnosu na kontrolnu skupinu, zabilježen je značajan porast svih analiziranih upalnih laboratorijskih pokazatelja.

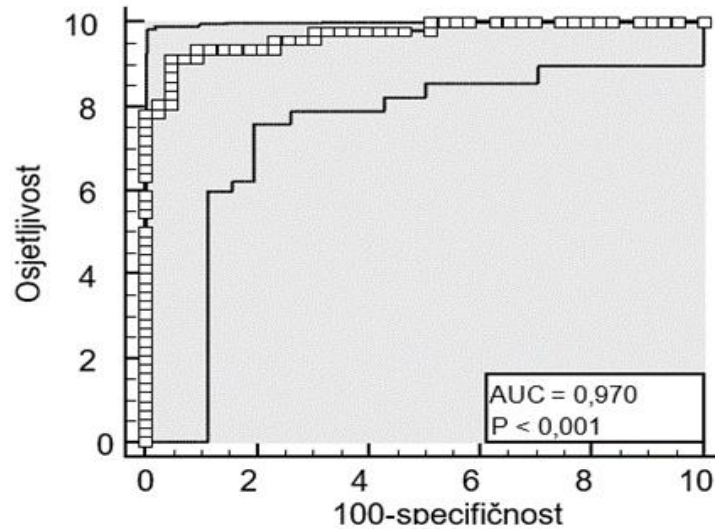
Tablica 2. Klinički i laboratorijski podatci.

Varijabla , medijan (IQR)	Akutni apendicitis (n = 46)	Kontrolna skupina (n = 43)	<i>p</i> †
Trajanje simptoma (h)	28 (24–48)	36 (24–48)	0,714
AIR rezultat	9 (7–10)	3 (2–3)	<0,001
Tjelesna temperatura (°C)	36,9 (36,8–37,2)	37,6 (37,2, 38,0)	<0,001
WBC ($\times 10^9/L$)	15,7 (12–18,6)	7,9 (6,7, 10,4)	<0,001
Neutrofili (%)	79,3 (75,5–84,7)	56,7 (45,8, 64,5)	<0,001
CRP u serumu (mg/L)	44,3 (21,5–113,1)	1,1 (0,4–3,9)	<0,001
CRP u slini (mg/L)	35,7 (15,9–114,3)	1,1 (0,2–2,7)	<0,001
Trajanje operacije (min)	37,5 (28–60)	–	–
Duljina hospitalizacije (dani)	2 (2–3)	4 (3–6)	<0,001

† Mann–Whitney test.

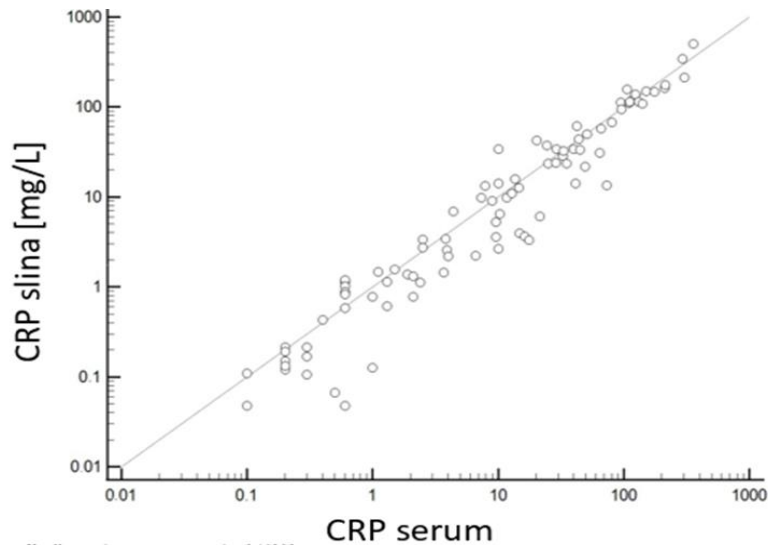
AIR – Appendicitis Inflammatory Response score; WBC – leukociti; CRP – C-reaktivni protein; IQR – Interkvartilni raspon

Serumski CRP pokazao je snažnu diskriminacijsku sposobnost u identifikaciji djece s patohistološki potvrđenim akutnim apendicitisom. Medijan vrijednosti CRP-a bio je značajno viši u skupini s apendicitisom (44,3 mg/L; IQR 21,5–113,1) u odnosu na kontrolnu skupinu (1,1 mg/L; IQR 0,4–3,9) ($p < 0,001$). Dijagnostička učinkovitost bila je izvrsna, s AUC 0,98 (95% CI: 0,92–0,99; $p < 0,001$). Rezultati Youdenovog indeksa ($J = 0,84$; 95% CI: 0,39–0,67) i odgovarajuća optimalna granična vrijednost (eng. *cut-off*) $>10,3$ mg/L ukazuju na vrlo dobru diskriminacijsku sposobnost. Na toj graničnoj vrijednosti, osjetljivost i specifičnost iznosile su 89,1% odnosno 95,4%, što pokazuje da je test izvrstan. Samo su dva bolesnika iz kontrolne skupine (4,7% od 43) pogrešno klasificirana kao da imaju akutni apendicitis, dok je stopa lažno negativnih bila viša: 5 od 46 (10,9%) djece s potvrđenim akutnim apendicitisom bilo je pogrešno klasificirano kao negativno. Slično kao i za serumski CRP, razine CRP-a u slini također su pokazale snažnu diskriminacijsku sposobnost. U djece s patohistološki potvrđenim akutnim apendicitisom medijan salivarnog CRP-a iznosio je 35,7 mg/L (IQR 15,9–114,3), što je bilo značajno više u odnosu na kontrolnu skupinu, u kojoj je medijan iznosio 1,1 mg/L (IQR 0,2–2,7) ($p < 0,001$). Nadalje, salivarni CRP pokazao je izvrsnu sposobnost razlikovanja djece s akutnim apendicitisom od kontrolne skupine (AUC = 0,97; 95% CI 0,91–0,99; $p < 0,001$; (Slika 7).



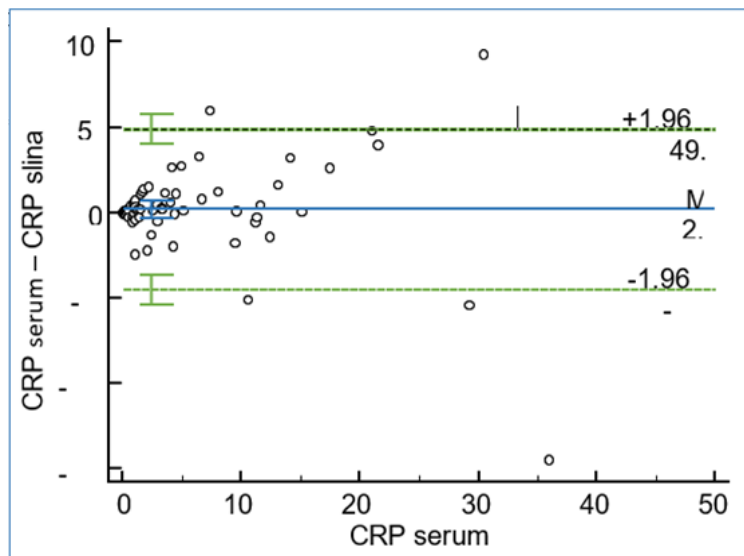
Slika 7. ROC krivulja prikazana je bijelim pravokutnicima, dok susjedna bijela područja označavaju 95%-tne intervale pouzdanosti oko krivulje.

Ovi podatci ukazuju na odličnu diskriminacijsku sposobnost salivarnog CRP-a koja je slična serumskom CRP-u. Također vrijednost Youdenovog indeksa ($J=0,87$; 95% CI: 0,72–0,93) i odgovarajuća optimalna granična vrijednost $>6,95$ mg/L pokazuju vrlo dobru diskriminacijsku izvedbu. Na toj graničnoj vrijednosti, osjetljivost i specifičnost iznosile su 91,3% i 95,4%, što također ukazuje na odličan dijagnostički potencijal testa. Samo su dva bolesnika iz kontrolne skupine (4,7%) pogrešno klasificirana kao da imaju akutni apendicitis. Stopa lažno negativnih bila je slična onoj za serumski CRP, pri čemu je 4 od 46 (8,7%) djece s potvrđenim akutnim apendicitisom bilo pogrešno klasificirano kao negativno. Razina CRP-a u serumu i slini pokazala je snažnu korelaciju (Spearmanov $\rho = 0,963$, $p < 0,001$) (Slika 8). Međutim, korelacija ne znači da su vrijednosti numerički jednake, zato se koristi Bland-Altmanova analiza.



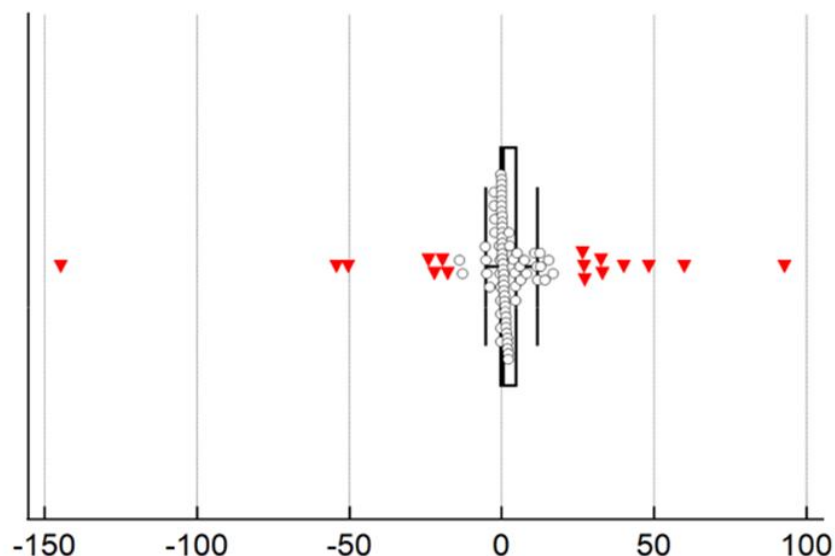
Slika 8. Korelacija između CRP-a u serumu i slini.

Bland–Altman analiza pokazala je dobru ukupnu podudarnost između vrijednosti CRP-a u slini i serumu s prosječnom razlikom od samo 2 mg/L (95% CI: –3,0 do 7,1). Međutim, granice slaganja bile su relativno široke, u rasponu od –45,0 do 49,0 mg/L (Slika 9).



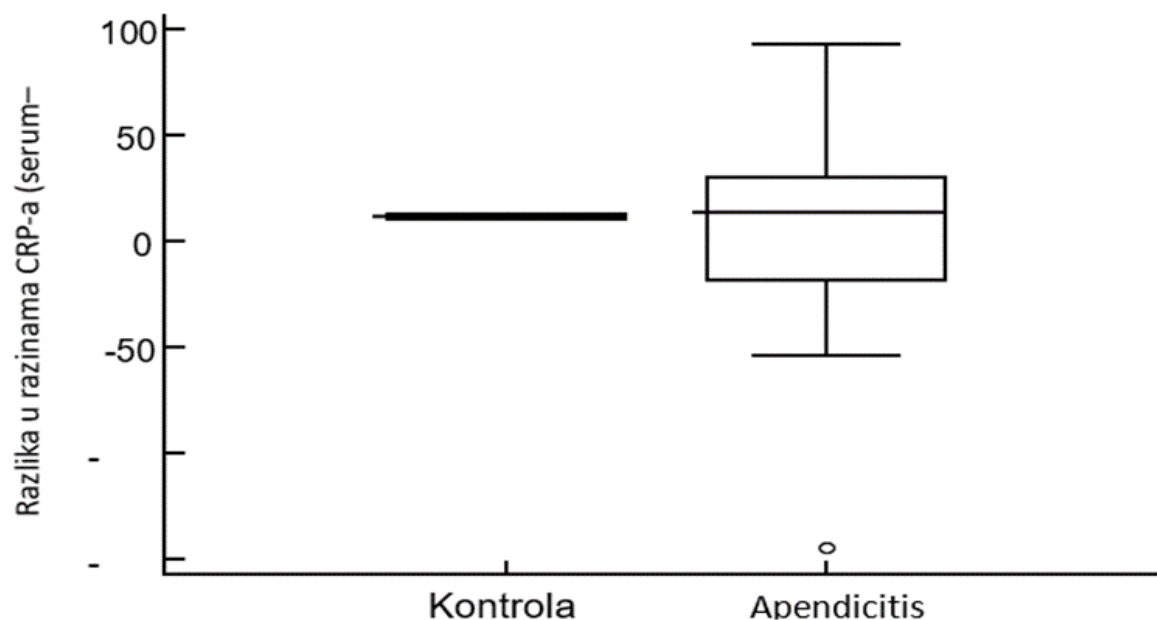
Slika 9. Bland–Altmanov dijagram koji prikazuje slaganje između mjerenja CRP-a u serumu i slini. Plave linije s „kopicama“ predstavljaju interval pouzdanosti oko srednje razlike (plava vodoravna linija), dok zelene linije s „kopicama“ označavaju intervale pouzdanosti oko granica slaganja (zelene vodoravne linije).

Daljnja analiza razlika između serumskog i salivarnog CRP-a otkrila je da ponekad dolazi do značajnih odstupanja (>10 mg/L) i to pri vrlo visokim vrijednostima CRP-a (Slika 10). Vidljivo je kako su odstupanja prisutna s obje strane, tj. ne favoriziraju ni slinu ni serum.



Slika 10. Distribucija razlika između razina CRP-a u serumu i slini. Prikazan je box-plot koji prikazuje raspodjelu razlika u razinama CRP-a između seruma i sline, s pojedinačnim mjernim točkama preko kutijastog dijagrama, dok su odstupajuće vrijednosti označene crvenom bojom.

Ta veća odstupanja – u oba smjera (pozitivnom i negativnom) – primarno su zabilježena pri višim razinama serumskog CRP-a (Slika 11) i uglavnom među ispitanicima s potvrđenim akutnim apendicitisom.



Slika 11. Distribucija velikih odstupanja (>10 mg/L) u razinama CRP-a između seruma i sline u pojedinih bolesnika, prikazana po skupinama.

Značajno je da je u 24 od 26 ispitanika (92%), kod kojih je razlika premašila 10 mg/L, potvrđen apendicitis.

Konačno, uzimajući u obzir prediktivnu učinkovitost pri primjeni određenih graničnih vrijednosti, rezultati salivarnog i serumskog CRP-a bili su sukladni u 80 od 89 (89,9%) slučajeva. Dijagnostičko nepodudaranje uočeno je u devet slučajeva: u tri slučaja salivarni CRP bio je precizniji od serumskog jer je ispravno identificirao apendicitis kada je serumski CRP dao lažno negativan rezultat; u dva slučaja serumski CRP nadmašio je salivarni, ispravno identificirajući apendicitis kada je salivarni CRP bio lažno negativan; u dva slučaja serumski CRP dao je lažno pozitivne rezultate koje salivarni CRP nije, a u preostala dva slučaja salivarni CRP dao je lažno pozitivne rezultate koje serumski CRP nije.

5. RASPRAVA

Glavni nalazi ove studije jasno pokazuju kako je prikupljanje sline prikladna i neinvazivna metoda u djece i adolescenata te da su razine salivarnog CRP-a značajno povišene u djece s akutnim apendicitisom u usporedbi s kontrolama, uz trend koji blisko prati serumski CRP. Salivarni CRP pokazao je izvrsnu diskriminacijsku sposobnost (AUC 0,97), usporedivu sa serumskim CRP-om (AUC 0,98), uz vrlo sličnu osjetljivost i specifičnost na optimalnim graničnim vrijednostima, što upućuje na to da salivarni CRP može predstavljati neinvazivnu alternativu ili dopunu standardnom serumskom CRP-u u dijagnostici akutnog apendicitisa u djece. Razina slaganja između serumskih i salivarnih vrijednosti bila je visoka, s jakom korelacijom (Spearman 0,963) i dobrom prosječnom podudarnošću na Bland–Altman analizi, iako su veća odstupanja (>10 mg/L) zabilježena u dijelu slučajeva bez konzistentnog pristranog smjera.

Različiti serumski biomarkeri koriste se u medicini kao dijagnostički alati već desetljećima, uključujući CRP, prokalcitonin te drugi upalni parametri u različitim kliničkim stanjima, poput apendicitisa, sepse i peritonitisa [109–111]. Međutim, posljednjih se godina slina sve češće istražuje i primjenjuje kao biološki uzorak koji može odražavati sustavnu upalu, kako u djece tako i u odraslih, s dokazanim potencijalom u zaraznim bolestima, toksikologiji, forenzičkoj medicini i metaboličkim poremećajima [112–117]. Prednosti primjene sline osobito dolaze do izražaja u pedijatriji: metoda je neinvazivna, brza, tehnički jednostavna, ne zahtijeva visoku razinu ekspertize za uzorkovanje te ne nosi rizike povezane s venepunkcijom i koagulacijom, što olakšava ponovljena mjerenja, skladištenje i transport uzoraka. Osim toga metoda je bezbolna i manje stresna što je posebno važno u djece [112–114].

Ljudska slina prihvatljiv je biološki medij jer sadrži različite elektrolite, proteine, imunoglobuline, nukleinske kiseline i hormone, a napredak u tehnologiji omogućio je razvoj salivarne proteomike kao pristupa u kliničkoj dijagnostici [118]. Brojni biomarkeri koji su se tradicionalno mjerili u serumu danas se identificiraju u slini, uključujući fragmente komplementa, citokine (npr. TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8), antimikrobne proteine i peptide te akutnofazne proteine kao što su CRP, haptoglobin, transferin i fibronectin [119, 120]. Ovakav pristup omogućuje djeci korist od suvremenih dijagnostičkih metoda uz minimalnu invazivnost, što je osobito važno u pedijatrijskim jedinicama hitne službe i intenzivne skrbi [88, 118–122].

Rezultati ove studije dobro se uklapaju u prijašnja istraživanja koja su pokazala da salivarni CRP može odražavati serumske vrijednosti u različitim upalnim stanjima u djece. Tsai i sur. su u djece s pneumonijom koristili isti ELISA kit kao u ovoj studiji i pokazali da je salivarni CRP značajno povišen u odnosu na kontrolnu skupinu koju su činila zdrava djeca, uz visoku korelaciju sa serumskim CRP-om te pad vrijednosti, u oba uzorka, nakon liječenja [92]. Sličan obrazac uočen je i u našoj studiji, gdje su serumske i salivarne vrijednosti CRP-a imale jaku korelaciju u djece s patohistološki potvrđenim apendicitisom. Ramavath i sur. su, ispitujući serumski i salivarni CRP kao prediktor neonatalne sepse, pokazali dobru diskriminacijsku sposobnost salivarnog CRP-a (AUC 0,83) usporedivu ili čak nešto bolju od serumskog CRP-a (AUC 0,72), premda je Pearsonova korelacija između serumskog i salivarnog CRP-a bila umjerena [123].

U kontekstu apendicitisa, prethodna istraživanja salivarnih biomarkera, poput LRG-1 i irizina, ukazala su na mogućnost neinvazivnog razlikovanja apendicitisa od drugih uzroka abdominalne boli u djece. Tintor i sur. su pokazali da salivarni LRG-1 može učinkovito razlikovati djecu s akutnim apendicitisom od kontrolne skupine djece s bolovima u truhu, u kojih nije bilo akutnog apendicitisa (AUC 0,85), iako s ograničenjima u osjetljivosti ili specifičnosti [102], dok je irisin pokazao dobru osjetljivost (90%) uz skromniju specifičnost (60%). Naši rezultati nadopunjuju te spoznaje pokazujući da salivarni CRP, iako nespecifičan marker upale, ima vrlo visoku dijagnostičku točnost za apendicitis (AUC 0,97), usporedivu s onom serumskog CRP-a te potencijalno veću praktičnu vrijednost zbog jednostavnije primjene [102, 103].

Biološki gledano, CRP je prvenstveno jetreni protein akutne faze, čija se razina u serumu povećava kao odgovor na infekciju, upalu, nekrozu tkiva ili druge nokse, no manji dio proteina dopijeva u cjelokupnu slinu preko gingivalne pukotine i gingivalne tekućine ili putem žlijezda slinovnica. Zbog toga salivarni CRP može odražavati sistemsku upalu, ali i biti pod utjecajem lokalnih čimbenika, poput gingivitisa i parodontitisa, koji mogu znatno povisiti razine CRP-a u gingivalnoj tekućini čak i u odsutnosti sistemske bolesti [95, 124]. Nadalje, više je studija pokazalo da slina sadrži biomarkere koji podliježu cirkadijanskim varijacijama, uključujući upalne markere poput CRP-a, kortizola i interleukina pa vrijeme uzorkovanja može utjecati na izmjerene vrijednosti i pridonijeti varijabilnosti rezultata [112, 125]. U našoj studiji vrijeme uzimanja salivarnih uzoraka nije bilo standardizirano, a oralni status nije sustavno procjenjivan, što potencijalno uvodi dodatnu biološku varijabilnost što je ujedno limitacija ove studije. Ipak, snažna korelacija sa serumom i

izostanak sustavnog precjenjivanja ili podcjenjivanja salivarnog CRP-a sugeriraju da ovi čimbenici nisu bitno narušili ukupne nalaze.

Serumski CRP je dobro poznat, osjetljiv, ali nespecifičan biljeg upale koji se široko koristi u dijagnostici upalnih bolesti, uključujući apendicitis, pri čemu se dijagnostička vrijednost značajno povećava kada se koristi u kombinaciji s kliničkim pregledom, drugim laboratorijskim parametrima i slikovnim metodama. U ovoj studiji salivarni CRP pokazao je gotovo identičnu diskriminacijsku sposobnost kao serumski CRP, s vrlo visokim AUC-om te sličnim vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti na optimalnim "cut-offovima" (6,95 mg/L za slinu i 10,3 mg/L za serum), što upućuje na to da bi mogao zauzeti sličnu ulogu u dijagnostičkim algoritmima, ali u neinvazivnom obliku. Analiza podudarnosti pri navedenim graničnim vrijednostima pokazala je slaganje rezultata u gotovo 90% slučajeva, pri čemu je u dijelu situacija salivarni CRP ispravno ukazao na apendicitis unatoč lažno negativnom serumskom CRP-u, što naglašava njegov potencijalni dodatni doprinos dijagnostici. U pedijatrijskoj populaciji, u kojoj se već koriste klinički bodovni sustavi poput Appendicitis Inflammatory Response (AIR) i ultrazvučna dijagnostika, salivarni CRP mogao bi, dodatno, unaprijediti dijagnostičku točnost i smanjiti potrebu za invazivnim zahvatima i CT pretragama [46,126).

Ipak, pri tumačenju rezultata ove studije potrebno je uzeti u obzir nekoliko ograničenja. Prvenstveno, veličina uzorka određena je a "priori" koja je, ipak, statistički dostatna za detekciju velikog učinka. Riječ je o istraživanju koje je provedeno u jednoj ustanovi, što može ograničiti generalizaciju nalaza na druge populacije s drugačijim epidemiološkim obilježjima. Nadalje, iz metodoloških razloga, iz istraživanja su isključena djeca mlađa od 5 godina, jer se pasivno skupljanje sline pokazalo tehnički zahtjevnim u toj dobnoj skupini, a nedovoljan volumen sline doveo je do isključenja četiri uzorka, što ukazuje na potrebu za prilagođenim, dobno specifičnim tehnikama uzorkovanja sline. Sljedeće ograničenje ovog istraživanja, kako je ranije spomenuto, temelji se na stanju oralnog zdravlja ispitanika koji nije formalno procijenjen pa se ne može potpuno isključiti mogućnost utjecaja lokalnih oralnih upala (gingivitisa, parodontitisa) na koncentracije salivarnog CRP-a, osobito u bolesnika s manjim sustavnim upalnim opterećenjem. Konačno, dizajn slučaj–kontrola, iako prikladan za inicijalnu evaluaciju dijagnostičke točnosti, zahtijeva potvrdu nalaza u većim, multicentričnim, prospektivnim kohortama randomizirane djece s bolovima u

trihu kako bi se validirali predloženi "cut-offovi" i procijenila stvarna klinička korisnost salivarnog CRP-a u svakodnevnoj praksi.

Naši nalazi podupiru potencijalnu integraciju salivarnog CRP-a u kliničke putove zbrinjavanja djece s akutnom abdominalnom boli. S obzirom na visoku osjetljivost i specifičnost, salivarni CRP mogao bi poslužiti kao vrijedan trijažni alat u primarnoj zdravstvenoj zaštiti i hitnim službama, osobito kada je venepunkcija otežana i/ili kada je pristup slikovnim pretragama ograničen. Buduća istraživanja trebala bi procijeniti primjenjivost brzih „point-of-care“ testova za salivarni CRP, njihovu troškovnu učinkovitost u odnosu na standardnu laboratorijsku obradu te mogućnost kombiniranja salivarnog CRP-a s drugim salivarnim biomarkerima (npr. LRG-1, irisin) u multimarker panelima za još precizniju stratifikaciju rizika apendicitisa. Važno je naglasiti kako salivarni CRP ne može, i ne treba, zamijeniti kliničku procjenu i standardne dijagnostičke protokole, već je njegova primarna uloga olakšavanje rane selekcije bolesnika i optimiziranja odluke o daljnjem liječenju kao brza, neinvazivna i dopunska dijagnostika.. Predložene granične vrijednosti stoga treba promatrati kao polazište za daljnju validaciju, a ne kao definitivne pragove za terapijske odluke u izolaciji.

6. ZAKLJUČAK

U ovom istraživanju potvrđena je dijagnostička vrijednost CRP-a kao ključnog biomarkera u procjeni akutnog apendicitisa u djece, s posebnim naglaskom na njegovu primjenu u neinvazivnom obliku – mjerenjem koncentracije u slini. Rezultati su pokazali da salivarni CRP ima visoku korelaciju sa serumskim CRP-om, koji je standardni laboratorijski pokazatelj sustavne upalne reakcije. Ova povezanost ukazuje da promjene koncentracije CRP-a u slini odražavaju sustavnu upalnu aktivnost te kako bi salivarni CRP mogao biti pouzdan, neinvazivan biomarker za rano otkrivanje i diferencijalnu dijagnostiku akutnog apendicitisa.

Analiza dijagnostičke učinkovitosti potvrdila je da mjerenje salivarnog CRP-a pokazuje visoku osjetljivost u detekciji akutnog apendicitisa, osobito kada se kombinira s ostalim kliničkim i laboratorijskim parametrima poput leukocitoze i neutrofilije. Time se povećava ukupna dijagnostička točnost i smanjuje mogućnost lažno negativnih nalaza. Prikupljanje uzoraka sline ne zahtijeva invazivne postupke, što predstavlja značajnu prednost u pedijatrijskoj populaciji, gdje je suradljivost bolesnika i brzina dijagnostičkog postupka od posebne važnosti.

Na temelju provedenih analiza može se zaključiti da salivarni CRP ima potencijal postati vrijedan dodatak postojećim dijagnostičkim protokolima za akutni apendicitis u djece. Njegova primjena mogla bi doprinijeti ranijem prepoznavanju bolesti, boljem odabiru terapijskog pristupa te smanjenju potrebe za invazivnim zahvatima. Daljnja istraživanja s većim uzorcima i standardiziranim metodama određivanja salivarnog CRP-a potrebna su kako bi se u potpunosti definirala njegova uloga u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

7. SAŽETAK

Uvod: Akutni apendicitis najčešća je kirurška hitnoća u djece, a dijagnoza je često otežana, osobito u mlađe djece zbog nespecifične kliničke slike. Standardna dijagnostika oslanja se na klinički pregled, laboratorijske i slikovne pretrage, koje mogu biti invazivne, skupe ili povezane s izlaganjem zračenju. C-reaktivni protein (CRP) uobičajeni je marker upale koji se standardno određuje iz krvi. Određivanje CRP-a u slini nameće se kao potencijalno neinvazivna, jednostavna i pouzdana metoda u dijagnostici akutnog apendicitisa u djece.

Ciljevi: Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti dijagnostičku vrijednost C-reaktivnog proteina (CRP) u slini kao neinvazivnog biomarkera za akutni apendicitis u djece te usporediti njegove vrijednosti s onima izmjerenima u serumu.

Ispitanici i metode: Koncentracije CRP-a određivane su u uzorcima sline i seruma kod bolesnika s histološki potvrđenim akutnim apendicitisom ($n = 46$) te u kontrolnoj skupini djece s nespecifičnom abdominalnom boli ($n = 43$). Dijagnostička točnost analizirana je pomoću ROC krivulja, dok su povezanost i podudarnost između salivarnih i serumskih vrijednosti CRP-a procijenjene Spearmanovom korelacijom i Bland–Altmanovom analizom.

Rezultati: Vrijednosti CRP-a u slini bile su značajno veće u djece s akutnim apendicitisom u usporedbi s kontrolama (medijan 35,7 naspram 1,1 mg/L, $p < 0,001$), prateći sličan obrazac kao i serumski CRP (medijan 44,3 mg/L naspram 1,1 mg/L, $p < 0,001$). Salivarni CRP pokazao je izvrsnu dijagnostičku učinkovitost ($AUC = 0,97$), uz osjetljivost od 91,3% i specifičnost od 95,4% pri optimalnoj graničnoj vrijednosti od 6,95 mg/L, što je usporedivo sa serumskim CRP-om ($AUC = 0,98$; osjetljivost 89,1% i specifičnost 95,4% pri graničnoj vrijednosti od 10,3 mg/L). Utvrđena je snažna pozitivna korelacija između vrijednosti CRP-a u slini i serumu (Spearmanov $\rho = 0,963$, $p < 0,001$), uz ukupno dobru podudarnost potvrđenu Bland–Altmanovom analizom. Iako su razlike veće od 10 mg/L zabilježene u 29% slučajeva, nije uočena sustavna pristranost u korist jedne od metoda.

Zaključak: CRP u slini predstavlja obećavajući neinvazivni biomarker za dijagnostiku akutnog apendicitisa u djece. Njegova dijagnostička učinkovitost usporediva je sa serumskim CRP-om, uz prihvatljivu podudarnost između dviju metoda mjerenja. Ovaj pristup mogao bi smanjiti potrebu za invazivnim uzimanjem krvi i omogućiti bržu procjenu u hitnim pedijatrijskim uvjetima.

8. LAIČKI SAŽETAK

Akutni apendicitis (upala slijepog crijeva) najčešći je razlog hitne operacije kod djece. Međutim, dijagnoza često nije jednostavna, posebno kod mlađe djece, jer simptomi mogu biti nejasni. Danas se dijagnoza temelji na liječničkom pregledu, vađenju krvi i slikovnim pretragama, koje ponekad mogu biti neugodne, skupe ili uključivati zračenje.

C-reaktivni protein (CRP) je tvar u tijelu koja raste kada postoji upala i obično se mjeri iz krvi. U ovom istraživanju ispitivali smo može li se CRP pouzdano mjeriti i iz sline, što bi bila jednostavnija i bezbolna metoda.

U istraživanju su sudjelovala djeca s potvrđenom upalom slijepog crijeva i djeca koja su imala bol u trbuhu, ali nisu imala apendicitis. Kod djece s apendicitisom razine CRP-a bile su znatno više, i u krvi i u slini. Rezultati su pokazali da mjerenje CRP-a u slini vrlo dobro razlikuje djecu s upalom od onih bez nje, gotovo jednako pouzdano kao i vađenje krvi. Također je utvrđeno da su vrijednosti CRP-a u slini i krvi vrlo slične.

Ovi rezultati sugeriraju da bi se u budućnosti CRP mogao mjeriti iz sline umjesto iz krvi, što bi djeci olakšalo dijagnostiku jer je metoda brza, jednostavna i bezbolna.

9. SUMMARY

Title: Diagnostic value of circulating C-reactive protein from blood and saliva in children with acute appendicitis.

Introduction: Acute appendicitis is the most common surgical emergency in children, yet establishing the diagnosis is often challenging, particularly in younger children due to non-specific clinical presentation. Standard diagnostic work-up relies on clinical assessment supported by laboratory tests and imaging, which may be invasive, costly, or associated with radiation exposure. C-reactive protein (CRP) is a widely used marker of inflammation that is routinely measured in blood. Measurement of CRP in saliva has emerged as a potentially non-invasive, simple, and reliable method for the diagnosis of acute appendicitis in children.

Objectives: The aim of this study was to evaluate the diagnostic value of salivary C-reactive protein (CRP) as a non-invasive biomarker for acute appendicitis in children and to compare its levels with those measured in serum.

Patients and methods: CRP concentrations were measured in saliva and serum samples from patients with histologically confirmed acute appendicitis ($n = 46$) and from a control group of children with non-specific abdominal pain ($n = 43$). Diagnostic accuracy was assessed using receiver operating characteristic (ROC) curve analysis, while the correlation and agreement between salivary and serum CRP levels were evaluated using Spearman's correlation and Bland–Altman analysis.

Results: Salivary CRP levels were significantly higher in children with acute appendicitis compared with controls (median 35.7 vs. 1.1 mg/L, $p < 0.001$), mirroring the pattern observed for serum CRP (median 44.3 mg/L vs. 1.1 mg/L, $p < 0.001$). Salivary CRP demonstrated excellent diagnostic performance (AUC = 0.97), with 91.3% sensitivity and 95.4% specificity at an optimal cut-off value of 6.95 mg/L, comparable to serum CRP (AUC = 0.98; sensitivity 89.1%, specificity 95.4% at a cut-off of 10.3 mg/L). A strong positive correlation was observed between salivary and serum CRP levels (Spearman's $\rho = 0.963$, $p < 0.001$), with overall good agreement confirmed by Bland–Altman analysis. Although differences greater than 10 mg/L were recorded in 29% of cases, no systematic bias in favour of either method was identified.

Conclusion: Salivary CRP represents a promising non-invasive biomarker for the diagnosis of acute appendicitis in children. Its diagnostic performance is comparable to that of serum CRP, with acceptable agreement between the two measurement methods, and this approach may reduce the need for invasive blood sampling and facilitate earlier assessment in paediatric emergency settings.

10. PLAIN LANGUAGE SUMMARY

Acute appendicitis (inflammation of the appendix) is the most common reason for emergency surgery in children. However, making the diagnosis is often not straightforward, especially in younger children, because the symptoms can be unclear. Today, diagnosis is based on a medical examination, blood tests, and imaging studies, which can sometimes be uncomfortable, expensive, or involve exposure to radiation.

C-reactive protein (CRP) is a substance in the body that increases when there is inflammation and is usually measured in the blood. In this study, we investigated whether CRP can be reliably measured in saliva, which would be a simpler and painless method.

The study included children with confirmed appendicitis and children who had abdominal pain but did not have appendicitis. Children with appendicitis had significantly higher CRP levels, both in blood and saliva. The results showed that measuring CRP in saliva can very effectively distinguish children with inflammation from those without it, almost as reliably as blood testing. It was also found that CRP levels in saliva and blood are very similar.

These findings suggest that, in the future, CRP could be measured from saliva instead of blood, making the diagnostic process easier for children, as the method is quick, simple, and painless.

11. LITERATURA

1. Patra A, Kaur H, Chhabra U, Sghar A, Balawender K, Pasternak A, Walocha JA. Reappraisal of the variational anatomy of the vermiform appendix and their possible clinical applicability: a cadaveric analysis. *Folia Morphol (Warsz)*. 2024;83(3):716–26.
2. Mohammad AA. The human vermiform appendix: morphological and anatomical review. *Probl Sotsialnoi Gig Zdravookhranennii i Istor Med*. 2023;31(5):990–95.
3. Sakellariadis A, Sofou F, Chrysikos D, Sampsakos-Mariolis T, Schizas D, Troupis T, i sur. Anatomical Variations of the Vermiform Appendix. *Acta Med Acad*. 2024;53(3):335–42
4. Tang SJ, Wu R. Ileocecum: A Comprehensive Review. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2019;2019:1451835.
5. Anatomy Next Inc. Position variations of vermiform appendix [Internet]. *Anatomy.app*; 2023 [citirano 23 Feb 2026]. Available from: <https://anatomy.app/media/abdomen-intestines-cecum-vermiform-appendix-positions-1-2-12873>.
6. Kooij IA, Sahami S, Meijer SL, Buskens CJ, Te Velde AA. The immunology of the vermiform appendix: a review of the literature. *Clin Exp Immunol*. 2016;186(1):1-9.
7. Kim JH, Jin ZW, Shibata S, Murakami G, Hayashi S, Rodríguez-Vázquez JF. Vermiform appendix during the repackaging process from umbilical herniation to fixation onto the right posterior abdomen: A study of human fetal horizontal sections: A study of human fetal horizontal sections. *Clin Anat*. 2020;33(5):667–77.
8. Malas MA, Sulak O, Gökçimen A, Sari A. Development of the vermiform appendix during the fetal period. *Surg Radiol Anat*. 2004;26(3):202–7.
9. Quien D, Korac-Prlic J, Vilović K, Pogorelić Z, Boric M, Barcot O, i sur. Age-Related transcriptomic changes in the vermiform appendix. *Int J Mol Sci*. 2025;26(23):11399.
10. Randal Bollinger RR, Barbas AS, Bush EL, Lin SS, Parker W. The immunology of the vermiform appendix: a review of the literature. *Clin Exp Immunol*. 2016;186(1):1–9
11. Sagor MS, Islam T, Tamanna NT, Bappy MKI, Danishuddin, Haque MA, i sur. The functional landscape of the appendix microbiome under conditions of health and disease. *Gut Pathog*. 2025;17(1):38.
12. Islam T, Sagor MS, Tamanna NT, Bappy MKI, Danishuddin, Haque MA, i sur. Exploring the immunological role of the microbial composition of the appendix and the associated risks of appendectomies. *J Pers Med*. 2025;15:112.

13. Yap DRY, Lui RN, Samol J, Ngeow J, Sung JJ, Wong SH. Beyond a vestigial organ: effects of the appendix on gut microbiome and colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol.* 2024;39(5):826–35.
14. Andersson S. Appendicitis: a historical review. *Can J Surg.* 1981;24(4):427–33.
15. Ramachandran M, Aronson JK. John and James Parkinson's first description of acute appendicitis and its associated complications of perforation and death. *J R Soc Med.* 2011;104(7):283–5.
16. Selvaggi L, Pata F, Pellino G, Podda M, Di Saverio S, De Luca GM, i sur. Acute appendicitis and its treatment: a historical overview. *Int J Colorectal Dis.* 2025;40(1):28.
17. Dixon F, Singh A. Acute appendicitis. *Surgery (Oxford).* 2023;41(7):418–25.
18. Ferris M, Quan S, Kaplan BS, Molodecky N, Ball CG, Chernoff GW, i sur. Acute appendicitis: modern understanding of pathogenesis, diagnosis, and management. *J Am Coll Surg.* 2012;215(5 Suppl):S2–S9.
19. GBD 2021 Appendicitis Collaborator Group. Trends and levels of the global, regional, and national burden of appendicitis between 1990 and 2021: findings from the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2024;9(9):825–58.
20. Ferris M, Nguyen L, Santucci N. The worldwide epidemiology of acute appendicitis: an analysis of the Global Health Data Exchange dataset. *World J Surg.* 2021;45(9):2438–47.
21. Kollias TF, Gallagher CP, Albaashiki A, Burle VS, Slouha E. Sex Differences in Appendicitis: A Systematic Review. *Cureus.* 2024;16(5):e60055.
22. Ilves I, Fagerström A, Herzig KH. Seasonal variations of acute appendicitis and nonspecific abdominal pain in Finland. *World J Gastroenterol.* 2014;20(11):4037–42.
23. Hamel JF, Saint-Dizier C, Lamer A, Allard D, Bienvenu T, Levailant M, i sur. The occurrence of appendicitis varies according to latitudes and seasons: A French national retrospective study. *Environ Epidemiol.* 2025;29;9(4):e412.
24. He J, Zhou MD, Lei YD, He RC, Shen Z, Zhang XF. Appendicitis burden, trends, and inequalities in Europe, 1990-2019: a population-based study. *Gastroenterol Rep (Oxf).* 2025;13:goaf070.
25. Wickramasinghe DP, Xavier C, Samarasekera DN. The worldwide epidemiology of acute appendicitis: an analysis of the Global Health Data Exchange dataset. *World J Surg.* 2021;45(7):1999–2008.

26. Addiss DG, Shaffer N, Fowler BS, Tauxe RV. The epidemiology of appendicitis and appendectomy in the United States. *Am J Epidemiol.* 1990;132(5):910–25.
27. Rentea RM, St Peter SD, Snyder CL. Acute appendicitis in childhood and adulthood. *Clin Colon Rectal Surg.* 2020;33(5):305–12.
28. Andersson RE, Petzold MG. Acute appendicitis: epidemiology, treatment and outcomes-analysis of 16,544 consecutive cases. *World J Surg.* 2007;31(1):86–92.
29. Sulu B, Günerhan Y, Palanci Y, İşler B, Çağlayan K. Epidemiological and demographic features of appendicitis and influences of several environmental factors. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2010;16(1):38–42.
30. Vidarsdottir GM, Vidarsdottir H, Moller PH. [Appendicitis - review]. *Laeknabladid.* 2025;(9):366-373.
31. Petroianu A. Incidence of acute appendicitis in children and adults: a comparative analysis. *Am Surg.* 2006;72(5):409–13.
32. Pogorelić Z, Domjanović J, Jukić M, Poklepović Peričić T. Acute Appendicitis in children younger than five years of age: Diagnostic challenge for pediatric surgeons. *Surg Infect (Larchmt).* 2020;21(3):239–45.
33. Becker T, Kharbanda A, Bachur R. Atypical clinical features of pediatric appendicitis. *Acad Emerg Med.* 2007;14(2):124–9.
34. Rentea RM, Peter SDS, Snyder CL. Pediatric appendicitis: state of the art review. *Pediatr Surg Int.* 2017;33(3):269–83.
35. Bekiaridou K, Kambouri K, Giatromanolaki A, Foutzitzis S, Kouroupi M, Aggelidou M, i sur. Predicting complicated appendicitis in children: Pros and Cons of a new score combining clinical signs, laboratory values, and ultrasound images (CLU Score). *Diagnostics.* 2023;13(13):2275.
36. Harshaw N, Durante K, Moore K, Bresz K, Campbell A, Perea LL. The severity of appendicitis during the COVID-19 pandemic: A single institution experience. *Am Surg.* 2025;91(6):1010–8.
37. Pogorelić Z, Anand S, Žuvela T, Singh A, Križanac Z, Krishnan N. Incidence of complicated appendicitis during the COVID-19 pandemic versus the pre-pandemic period: A systematic review and meta-analysis of 2782 pediatric appendectomies. *Diagnostics.* 2022;12(1):127.
38. Pogorelić Z, Čohadžić T. A bizarre cause of acute appendicitis in a pediatric patient: An ingested tooth. *Children.* 2023;10(1):108.

39. Pogorelić Z, Ercegović V, Bašković M, Jukić M, Karaman I, Mrklič I. Incidence and Management of Appendiceal Neuroendocrine Tumors in pediatric population: a bicentric experience with 6285 appendectomies. *Children*. 2023;10(12):1899.
40. Bhangu A, Søreide K, Di Saverio S, Assarsson JH, Drake FT. Acute appendicitis: modern understanding of pathogenesis, diagnosis, and management. *Lancet*. 2015;386(10000):1278–87.
41. Carvalho N, Barreira AL, Henriques S, Ferreira M, Cardoso C, Luz C, i sur. Compilation of evidence supporting the role of a T helper 2 reaction in the pathogenesis of acute appendicitis. *Int J Mol Sci*. 2024;25(8):4216.
42. Boettcher M, Esser M, Trah J, Klohs S, Mokhaberi N, Wenskus J, i sur. Markers of neutrophil activation and extracellular traps formation are predictive of appendicitis in mice and humans: a pilot study. *Sci Rep*. 2020; 26;10(1):18240.
43. Flum DR. Acute appendicitis - appendectomy or the "antibiotics first" strategy. *N Engl J Med*. 2015;372(20):1937–43.
44. Laurell H, Hansson LE, Gunnarsson U. Manifestations of acute appendicitis: a prospective study on acute abdominal pain. *Dig Surg*. 2013;30(3):198–206.
45. Paulson EK, Kalady MF, Pappas TN. Suspected appendicitis. *N Engl J Med*. 2003;348(3):236–42.
46. Pogorelić Z, Rak S, Mrklič I, Jurić I. Prospective validation of Alvarado score and Pediatric Appendicitis Score for the diagnosis of acute appendicitis in children. *Pediatr Emerg Care*. 2015;31(3):164–8.
47. Di Saverio S, Birindelli A, Kelly MD, Catena F, Weber DG, Sartelli M, I sur. WSES Jerusalem guidelines for diagnosis and treatment of acute appendicitis. *World J Emerg Surg*. 2016;11:34.
48. Ebell MH. Diagnosing appendicitis in children and adolescents with abdominal pain. *Am Fam Physician*. 2023;107(3):301–2.
49. Bundy DG, Byerley JS, Liles EA, Perrin EM, Katznelson J, Rice HE. Does this child have appendicitis? *JAMA*. 2007;298(4):438–51.
50. Vidović S, Čekić N, Šuvak I, Ugljarević M, Pogorelić Z. Acute Appendicitis or appendiceal diverticulitis? A case report and systematic literature review. *Clin Pract*. 2025;15(3):60.
51. Hwang JA, Kim SM, Song HJ, Lee YM, Moon KM, Moon CG, i sur. Differential diagnosis of left-sided abdominal pain: primary epiploic appendagitis vs colonic diverticulitis. *World J Gastroenterol*. 2013;19(40):6842–8.

52. de Almeida Leite RM, Seo DJ, Gomez-Eslava B, Hossain S, Lesegretain A, i sur. Nonoperative vs operative management of uncomplicated acute appendicitis: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Surg.* 2022;157(9):828–34.
53. Prechal D, Damirov F, Grilli M, Ronellenfitsch U. Antibiotic therapy for acute uncomplicated appendicitis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Colorectal Dis.* 2019;34(6):963–71.
54. Talan DA, Moran GJ, Machado-Aranda D, Chiang WK, Faine BA, Fleischman R, i sur. Nonoperative treatment of appendicitis and implications for emergency department management: A narrative review. *Ann Emerg Med.* 2025;S0196-0644(25)01283–1.
55. Sohn M, Agha A, Bremer S, Lehmann KS, Bormann M, Hochrein A. Surgical management of acute appendicitis in adults: A review of current techniques. *Int J Surg.* 2017;48:232–9.
56. Childers CP, Dworsky JQ, Maggard-Gibbons M, Russell MM. The contemporary appendectomy for acute uncomplicated appendicitis in adults. *Surgery.* 2019;165(3):593–601.
57. Schuster KM, Holena DN, Salim A, Savage S, Crandall M. American Association for the Surgery of Trauma emergency general surgery guideline summaries 2018: acute appendicitis, acute cholecystitis, acute diverticulitis, acute pancreatitis, and small bowel obstruction. *Trauma Surg Acute Care Open.* 2019;4(1):e000282.
58. Jukić M, Tesch A, Todorčić J, Šušnjar T, Milunović KP, Barić T. Same-day discharge after laparoscopic appendectomy for simple appendicitis in pediatric patients – is it possible? *Children.* 2022;9(8):1220.
59. Talan DA, Di Saverio S. Treatment of acute uncomplicated appendicitis. *N Engl J Med.* 2021;385(12):1116–23.
60. Raftery AT. The value of the leucocyte count in the diagnosis of acute appendicitis. *Br J Surg.* 1976;63(2):143–7.
61. Doraiswamy NV. Leucocyte counts in the diagnosis and prognosis of acute appendicitis in children. *Br J Surg.* 1979;66(11):782–4.
62. Grönroos JM, Grönroos P. Leucocyte count and C-reactive protein in the diagnosis of acute appendicitis. *Br J Surg.* 1999;86(4):501–4.
63. Peeters T, Martens S, D'Onofrio V, Stappers MHT, van der Hilst JCH, Houben B, i sur. An observational study of innate immune responses in patients with acute appendicitis. *Sci Rep.* 2020;10(1):17352.

64. Kim JJY, Dobson BH, L H Ng C, Thong DW, Arthur T, Parker D, i sur. Can normal inflammatory markers rule out acute appendicitis? The reliability of biochemical investigations in diagnosis. *ANZ J Surg.* 2020;90(10):1970–4.
65. Puputti J, Pakarinen MP, Suominen JS. Differentiating uncomplicated from complicated acute appendicitis in paediatric patients with C - reactive protein and imaging findings - a retrospective single centre study in 1149 patients. *Acta Paediatr.* 2026;115(2):399–407.
66. Wu HP, Lin CY, Chang CF, Chang YJ, Huang CY. Predictive value of C-reactive protein at different cutoff levels in acute appendicitis. *Am J Emerg Med.* 2005;23(4):449–53.
67. Yuksel ME, Ozkan N, Avci E. C-reactive protein/albumin ratio greater than 7.1 is a good candidate to be used as an inflammation biomarker to predict perforation in appendicitis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2022;26(22):8333–41.
68. Lin WY, Lee EP, Chen CY, Guo BC, Lin MJ, Wu HP. Changes in levels of serum cytokines and chemokines in perforated appendicitis in children. *Int J Mol Sci.* 2024;25(11):6076.
69. Carvalho N, Almeida JS, Carolino E, Lopes F, Henriques S, Vaz J, i sur. Characterization of Th2 serum immune response in acute appendicitis. *Int J Mol Sci.* 2026;27(2):733.
70. Elliver M, Salö M, Roth B, Ohlsson B, Hagander L, Gudjonsdottir J. Associations between Th1-related cytokines and complicated pediatric appendicitis. *Sci Rep.* 2024;14(1):4613.
71. Dimberg J, Rubér M, Skarstedt M, Andersson M, Andersson RE. Genetic polymorphism patterns suggest a genetic driven inflammatory response as pathogenesis in appendicitis. *Int J Colorectal Dis.* 2020;35(8):1529–37.
72. Kaya B, Sana B, Eris C, Karabulut K, Bat O, Kutanis R. The diagnostic value of D-dimer, procalcitonin and CRP in acute appendicitis. *Int J Med Sci.* 2012;9(10):909–15.
73. Fennell J, Territo HM, Telt N, Wrotniak BH, Kozielski R, Pape E, i sur. The association between C-reactive protein levels and Pediatric Appendicitis Score and the severity of appendicitis in children. *J Emerg Med.* 2024;66(4):e508–15.
74. Panagiotopoulou IG, Parashar D, Lin R, i sur. The diagnostic value of white cell count, C-reactive protein and bilirubin in acute appendicitis and its complications. *Ann R Coll Surg Engl.* 2013;95(3):215–21.
75. Rodríguez-Sanjuán JC, Martín-Parra JI, Seco I, García-Castrillo L, Naranjo A. C-reactive protein and leukocyte count in the diagnosis of acute appendicitis in children. *Dis Colon Rectum.* 1999;42(10):1325–9.

76. Pogorelić Z, Jukić M, Žuvela T, Milunović KP, Maleš I, Lovrinčević I, i sur. Salivary biomarkers in pediatric acute appendicitis: Current evidence and future directions. *Children*. 2025;12(10):1342.
77. Rajab IM, Hart PC, Potempa LA. How C-reactive protein structural isoforms with distinctive bioactivities affect disease progression. *Front Immunol*. 2020;11:2126.
78. Okuş A, Ay S, Karahan Ö, Eryılmaz MA, Sevinç B, Aksoy N. Monitoring C-reactive protein levels during medical management of acute appendicitis to predict the need for surgery. *Surg Today*. 2015;45(4):451–6.
79. Thirumallai S, Wijesuriya SR, Mitchell A, Delriviere L. Predictive value of C-reactive protein with Alvarado score in acute appendicitis. *ANZ J Surg*. 2014;84(5):335–6.
80. Yu CW, Juan LI, Wu MH, i sur. Systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of procalcitonin, C-reactive protein and white blood cell count for suspected acute appendicitis. *Br J Surg*. 2013;100(3):322–9.
81. Fey JMH, Bikker FJ, Hesse D. Saliva collection methods among children and adolescents: A scoping review. *Mol Diagn Ther*. 2024;28(1):15–26.
82. Resztak M, Czyrski A, Sobiak J. Saliva as a matrix for therapeutic drug monitoring and disease biomarkers in children and adolescents. *Pharmacol Rep*. 2025;77(4):921–61.
83. Huang Z, Yang X, Huang Y, Tang Z, Chen Y, Liu H, i sur. Saliva - a new opportunity for fluid biopsy. *Clin Chem Lab Med*. 2022;61(1):4–32.
84. Boroumand M, Olianas A, Cabras T, Manconi B, Fanni D, Faa G, i sur. Saliva, a bodily fluid with recognized and potential diagnostic applications. *J Sep Sci*. 2021;44(7):1322–47.
85. Shang YF, Shen YY, Zhang MC, Lv MC, Wang TY, Chen XQ, i sur. Progress in salivary glands: Endocrine glands with immune functions. *Front Endocrinol*. 2023;14:1061235.
86. Dawes C, Pedersen AM, Villa A, Ekström J, Proctor GB, Vissink A, i sur. The functions of human saliva: a review sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. *Arch Oral Biol*. 2015;60(6):863–74.
87. Roth R, Baxter J, Vehik K, Hopkins D, Killian M, Gesualdo P, i sur. The feasibility of salivary sample collection in an international pediatric cohort: the TEDDY Study. *Dev Psychobiol*. 2017;59(5):658–67.
88. Tonge JJ, Keevil BG, Craig JN, Whitaker MJ, Ross RJ, Elder CJ. Salivary steroid collection in children under conditions replicating home sampling. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022;107(11):3128–36.

89. Hassaneen M, Maron JL. Salivary diagnostics in pediatrics: applicability, translatability, and limitations. *Front Public Health*. 2017;5:83.
90. Chan MH, Meijer M, Merrill SM, Fu MPY, Lin D, MacIsaac JL, i sur. Not all saliva samples are equal: The role of cellular heterogeneity in DNA methylation and epigenetic age analyses with biological and psychosocial factors. *Psychoneuroendocrinology*. 2026;184(107688):107688.
91. Haaramo A, Jääskeläinen A, Pitkäranta A, Kuitunen M, Sanmark E, Nokso-Koivisto J. Saliva and anterior nasal samples for detecting respiratory viruses in children. *APMIS*. 2025;133(11):e70091.
92. Tsai CM, Tang KS, Cheng MC, Liu TY, Huang YH, Chen CC, i sur. Use of saliva sample to detect C-reactive protein in children with pneumonia. *Pediatr Pulmonol*. 2020;55(9):2457–62.
93. Gofin Y, Fanous E, Pasternak Y, Prokocimer Z, Zagoory-Sharon O, Feldman R, i sur. Salivary C-reactive protein - a possible predictor of serum levels in pediatric acute respiratory illness. *Eur J Pediatr*. 2021;180(9):2831–8.
94. Pay JB, Shaw AM. Towards salivary C-reactive protein as a viable biomarker of systemic inflammation. *Clin Biochem*. 2019;68:1–8.
95. Fey JMH, Bikker FJ, Hesse D. Saliva collection methods among children and adolescents: A scoping review. *Mol Diagn Ther*. 2024;28(1):15–26.
96. Lin GC, Küng E, Smajlhodzic M, Domazet S, Friedl HP, Angerer J, i sur. Directed transport of CRP across in vitro models of the blood-saliva barrier strengthens the feasibility of salivary CRP as biomarker for neonatal sepsis. *Pharmaceutics*. 2021;13(2):256.
97. Wetterö J, von Löhneysen S, Cobar F, Kristenson M, Garvin P, Sjöwall C. Pronounced diurnal pattern of salivary C-reactive protein (CRP) with modest associations to circulating CRP levels. *Front Immunol*. 2020;11:607166.
98. Plank AC, Maschke J, Rohleder N, Fasching PA, Beckmann MW, Kornhuber J, i sur. Comparison of C-reactive protein in dried blood spots and saliva of healthy adolescents. *Front Immunol*. 2021;12:795580.
99. Ouellet-Morin I, Danese A, Williams B, Arseneault L. Validation of a high-sensitivity assay for C-reactive protein in human saliva. *Brain Behav Immun*. 2011;25(4):640–6.
100. Out D, Hall RJ, Granger DA, Page GG, Woods SJ. Assessing salivary C-reactive protein: longitudinal associations with systemic inflammation and cardiovascular disease risk in women exposed to intimate partner violence. *Brain Behav Immun*. 2012;26(4):543–51.

101. Hernández LM, Byrne ML, Taylor MK. Salivary C-reactive protein exhibits a diurnal pattern and relates to biobehavioral health in military men. *Brain Behav Immun.* 2024;122:465–70.
102. Tintor G, Jukić M, Šupe-Domić D, Jerončić A, Pogorelić Z. Diagnostic accuracy of leucine-rich α -2-glycoprotein 1 as a non-invasive salivary biomarker in pediatric appendicitis. *Int J Mol Sci.* 2023;24:6043.
103. Bakal U, Aydin S, Sarac M, Kuloglu T, Kalayci M, Artas G, i sur. Serum, saliva and urine irisin with and without acute appendicitis and abdominal pain. *Biochem Insights.* 2016;9:11–7.
104. Metwali WA, Elmashad AM, Hazzaa SME, Al-Beltagi M, Hamza MB. Salivary C-reactive protein and mean platelet volume as possible diagnostic markers for late-onset neonatal pneumonia. *World J Clin Pediatr.* 2024;13:88645.
105. Pogorelić Z, Beara V, Jukić M, Rashwan H, Šušnjar T. A new approach to laparoscopic appendectomy in children-clipless/sutureless Harmonic scalpel laparoscopic appendectomy. *Langenbecks Arch Surg.* 2022;407(2):779–87.
106. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics.* 1988;44(3):837–45.
107. Anderson JE, Bickler SW, Chang DC, Talamini MA. Examining a common disease with unknown etiology: trends in epidemiology and surgical management of appendicitis in California, 1995–2009. *World J Surg.* 2012;36(12):2787–94.
108. Pogorelić Z, Ødeverp A, Jukić M. The safety and feasibility of single-stage versus staged laparoscopic approach for acute appendicitis with inguinal hernia in pediatric patients: A comparative study. *J Clin Med.* 2025;14(12):4243
109. Benito J, Acedo Y, Medrano L, Barcena E, Garay RP, Arri EA. Usefulness of new and traditional serum biomarkers in children with suspected appendicitis. *Am J Emerg Med.* 2016;34(5):871–6.
110. Keane M, Fallon R, Riordan A, Shaw B. Markedly raised levels of C-reactive protein are associated with culture-proven sepsis or necrotising enterocolitis in extremely preterm neonates. *Acta Paediatr.* 2015;104(7):e289–93.
111. Hedegaard SS, Wisborg K, Hvas AM. Diagnostic utility of biomarkers for neonatal sepsis: a systematic review. *Infect Dis.* 2015;47(3):117–24.

112. Mortazavi H, Yousefi-Koma AA, Yousefi-Koma H. Extensive comparison of salivary collection, transportation, preparation, and storage methods: A systematic review. *BMC Oral Health*. 2024;24(1):168.
113. Klein Kremer A, Kuzminsky E, Bentur L, Nagler RM. Salivary and serum analysis in children diagnosed with pneumonia. *Pediatr Pulmonol*. 2014;49(6):569–73.
114. Iyengar A, Paulus JK, Gerlanc DJ, Maron JL. Detection and potential utility of C-reactive protein in saliva of neonates. *Front Pediatr*. 2014;2:131.
115. Desai GS, Mathews ST. Saliva as a non-invasive diagnostic tool for inflammation and insulin-resistance. *World J Diabetes*. 2014;5(6):730–8.
116. Marley G, Kang D, Wilson EC, Huang T, Qian Y, Li X, i sur. Introducing rapid oral-fluid HIV testing among high risk populations in Shandong, China: feasibility and challenges. *BMC Public Health*. 2014;14:422.
117. Wylie FM, Torrance H, Anderson RA, Oliver JS. Drugs in oral fluid. Part I: validation of an analytical procedure for licit and illicit drugs in oral fluid. *Forensic Sci Int*. 2005;150(2-3):191–8.
118. Castagnola M, Scarano E, Passali GC, Messina I, Cabras T, Iavarone F, i sur. Salivary biomarkers and proteomics: future diagnostic and clinical utilities. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2017;37(2):94–101.
119. Amado FM, Ferreira RP, Vitorino R. One decade of salivary proteomics: current approaches and outstanding challenges. *Clin Biochem*. 2013;46(6):506–17.
120. Romano-Keeler J, Wynn JL, Maron JL. Great expectations: the potential of salivary 'omic' approaches in neonatal intensive care. *J Perinatol*. 2014;34(3):169–73.
121. Kocur A, Sobiak J, Czajkowska A, Rubik J, Pawiński T. Volumetric absorptive microsampling of saliva for pharmacokinetic evaluation of mycophenolic acid and its glucuronide metabolite in pediatric renal transplant recipients: bioanalytical method validation and clinical feasibility evaluation. *Pharmaceuticals*. 2025;18(11):1744.
122. Pappa E, Kousvelari E, Vastardis H. Saliva in the 'omics' era: a promising tool in paediatrics. *Oral Dis*. 2019;25(1):16–25.
123. Ramavath C, Katam SK, Vardhelli V, Deshabhotla S, Oleti TP. Examining the utility of rapid salivary C-reactive protein as a predictor for neonatal sepsis: an analytical cross-sectional pilot study. *Diagnostics*. 2023;13(5):867.

124. Granger DA, Fortunato CK, Beltzer EK, Virag M, Bright MA, Out D. Focus on methodology: salivary bioscience and research on adolescence: an integrated perspective. *J Adolesc.* 2012;35(4):1081–95.
125. Nunes LA, Mussavira S, Bindhu OS. Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. *Biochem Med.* 2015;25(2):177–92.
126. Fahimi J, Herring A, Harries A, Gonzales R, Alter H. Computed tomography use among children presenting to emergency departments with abdominal pain. *Pediatrics.* 2012;130(5):e1069–75.

12. ŽIVOTOPIS

OPĆI PODACI

Ime i prezime: Klaudio Pjer Milunović

Datum rođenja: 12. siječnja 1975.

OBRAZOVANJE

1982. – 1990. – Osnovna škola Grohote – otok Šolta

1990. – 1994. – Prirodoslovna matematička gimnazija (SSS), Makarska

1994. – 2000. – Sveučilište u Zagrebu studij u Splitu, Medicinski fakultet, doktor medicine (VSS)

RADNO ISKUSTVO

Rujan 2000. –travanj 2001. – služenje vojnog roka - Sinj i Šibenik.

Svibanj 2001. – svibanj 2002. – pripravnički staž doktora medicine - Dom Zdravlja Makarska, Stjepana Ivičevića 14, 21300 Makarska.

Lipanj 2001. – kolovoz 2007. – liječnik u Zavodu za Hitnu medicinsku pomoć Splitsko-dalmatinske županije – Ispostava Makarska, Stjepana Ivičevića, 21300 Makarska.

Listopad 2007. – listopad 2012. – liječnik na specijalizaciji iz dječje kirurgije pri Klinici za dječju kirurgiju KBC-a Split, Spinčićeva 1, 21000 Split

Listopad 2012. – specijalist dječje kirurgije pri Klinici za dječju kirurgiju

OSTALA EDUKACIJA

10.–12. svibnja 2002. – Napredno održavanje života odraslih, tečaj i radionica, Split, Hrvatska.

6.–7. ožujka 2003. – Napredno održavanje života u traumatologiji, tečaj i radionica, Trogir, Hrvatska.

21.–22. travnja 2004. – Pedijatrijsko održavanje života, tečaj i radionica, Zagreb, Hrvatska.

27.–29. lipnja 2013. – osnovni tečaj neonatalne laparoskopije u dječjoj kirurgiji, ESPES, Naples, Italija.

3.–5. listopada 2012. – Osnovni AO tečaj traumatologije, tečaj i radionica, Zagreb, Hrvatska.

2.–4. studenog 2025. – Pedijatrijski AO tečaj traumatologije, tečaj i radionica, Zagreb, Hrvatska.

21.–22. listopada 2021. – Arthrex radionica kirurgije koljena, ArthroLab, Munich, Njemačka.

23.–24. listopada 2023. – Međunarodni tečaj kirurgije šake i ručnog zgloba, ArthroLab, Munich, Njemačka.

28.–29. ožujka 2025. – Edukacija za ACP terapiju (EMEA), ArthroLab, Munich, Njemačka.

04.–05. ožujka 2026. – Tečaj kirurškog liječenja ligamenata u djece, ArthroLab, Munich, Njemačka.

RADNO ISKUSTVO

Rujan 2000. –travanj 2001. – služenje vojnog roka - Sinj i Šibenik.

Svibanj 2001. – svibanj 2002. – pripravnički staž doktora medicine - Dom Zdravlja Makarska, Stjepana Ivičevića 14, 21300 Makarska.

Lipanj 2001. – kolovoz 2007. – liječnik u Zavodu za Hitnu medicinsku pomoć Splitsko-dalmatinske županije – Ispostava Makarska, Stjepana Ivičevića, 21300 Makarska.

Listopad 2007. – listopad 2012. – liječnik na specijalizaciji iz dječje kirurgije pri Klinici za dječju kirurgiju KBC-a Split, Spinčićeva 1, 21000 Split

Listopad 2012. – specijalist dječje kirurgije pri Klinici za dječju kirurgiju KBC-a Split, Spinčićeva 1, 21000 Split

U KBC-u sam prvi uveo AUTOCART - metodu za liječenje osteohondralnih ozljeda u djece te novu metodu liječenja benignih tumora i cista kosti u djece s koštanim supstitutima, što je značajno olakšalo liječenje ovih pacijenata.

OSTALE AKTIVNOSTI

2001. – 2007. – Liječnik Hrvatske gorske službe spašavanja – sudjelovao u akcijama spašavanja unesrećenih u planinama, promocija zdrastva i zaštite u planinarskim uvjetima.

ZNANJA I VJEŠTINE

Vozač B kategorije

Aktivno se koristim engleskim jezikom

Poznajem latinski jezik

Posjedujem organizacijske, administrativne i socijalne vještine

Član sam Hrvatske liječnike komore, Hrvatskog liječničkog zbora i Hrvatskog društva za dječju kirurgiju.

ISTRAŽIVANJA, PUBLIKACIJE I KONGRESNA PRIOPĆENJA

A) Radovi objavljeni u međunarodno indeksiranim publikacijama:

1. Pogorelić Z, Jukić M, Žuvela T, **Milunović KP**, Maleš I, Lovrinčević I, Kraljević J. Salivary biomarkers in pediatric acute appendicitis: Current evidence and future directions. *Children (Basel)*. 2025;12(10):1342.
2. **Milunović KP**, Stanišić L, Barić T, Meštrović J, Todorić D, Domić DŠ, Jerončić A, Pogorelić Z. Salivary C-reactive protein: a non-invasive alternative to serum CRP in pediatric acute appendicitis. *Molecules*. 2025;30(16):3392.
3. Dagelić A, Etrusco A, D'Amato A, Chiantera V, Kosović I, **Milunović KP**, Mikuš M, Marušić J. Omphalocele: a multidisciplinary approach is of paramount importance. *Ital J Gynaecol Obstet*. 2024;36(3):316–22.
4. Jukić M, Tesch A, Todorić J, Šušnjar T, **Milunović KP**, Barić T. Same-day discharge after laparoscopic appendectomy for simple appendicitis in pediatric patients – is it possible? *Children*. 2022;9(8):1220.

5. Pogorelić Z, Kadic S, **Milunović KP**, Pintarić I, Jukić M, Furlan D. Flexible intramedullary nailing for treatment of proximal humeral and humeral shaft fractures in children: A retrospective series of 118 cases. *Orthop Traumatol Surg Res.* 2017;103(5):765–70.

6. Pogorelić Z, Biočić M, Jurić I, **Milunović KP**, Mrklić I. Acute appendicitis as a complication of varicella. *Acta Med (Hradec Kralove).* 2012;55(3):150-2.

7. Furlan D, Pogorelić Z, Biočić M, Jurić I, Budimir D, Todorčić J, **Milunović KP**. Elastic stable intramedullary nailing for pediatric long bone fractures: experience with 175 fractures. *Scand J Surg.* 2011;100(3):208-15.

8. Pogorelić Z, Jurić I, Biočić M, Furlan D, Budimir D, **Milunović KP**, Todorčić J. Management of testicular rupture after blunt trauma in children. *Pediatr Surg Int.* 2011;27(8):885–9.

B) Radovi objavljeni u časopisima koji se indeksiraju u drugim međunarodnim indeksnim publikacijama:

1. Bočina I, Nola IA, **Milunović KP**. Nezgode pri prijevozu (V00–V99, MKB-10) kao uzroci smrti stanovništva Splitsko-dalmatinske županije u 2023. *Javno zdravstvo.* 2025;2:44.

2. Bočina I, **Milunović KP**, Marunica Oršolić L, Meštrović J. Rizici i okolnosti ozljeđivanja iz Registra ozljeda u djece i mladih u Splitsko-dalmatinskoj županiji u razdoblju od 1. siječnja 2017. do 30. lipnja 2018. *Lijec. Vjesn.* 2024;146(1–2):1–7.

3. Jukić M, Tech A, Todorčić J, Šušnjar T, **Milunović KP**, Barić T. Same-day discharge after laparoscopic appendectomy for simple appendicitis in pediatric patients. *Lijec. Vjesn.* 2023;145:158–65.

4. **Milunović KP**, Meštrović J, Barić T, Todorčić D, Jukić M, Todorčić J, et al. AutoCart – minimally invasive method of treatment osteochondral lesions in children and adolescents. *Lijec. Vjesn.* 2023;145:166–70.

5. Šušnjar T, Jukić M, Pogorelić Z, **Milunović KP**, Todorić J, Čohadžić T. Minimally invasive Nuss procedure for repair of pectus excavatum. *Lijec. Vjesn.* 2023;145:154–7.
6. Pogorelić Z, Konstatinović I, Jukić M, Furlan D, Kovačević T, Jurić I, **Milunović KP**. Factors of esophageal atresia treatment outcome in newborns operated on at Department of Pediatric Surgery, Split University Hospital, during the 1991–2014 period. *Paediatr. Croat.* 2016;60(2):51–7.
7. Meštrović J, **Milunović KP**, Pogorelić Z, Todorić D, Todorić J, Šušnjar T, Budimir D, Jurić I, Furlan D, Biočić M. Kirurške indikacije za liječenje bolesti prepucija. *Paediatr. Croat.* 2015;59(Suppl 1):116–8.
8. Todorić D, Stanišić L, Meštrović J, Jurić I, Pogorelić Z, **Milunović KP**, Šušnjar Todorić J, Furlan D, Budimir D. Nove spoznaje u liječenju nespuštenih testisa. *Paediatr. Croat.* 2015;59(Suppl 1):109–15.
9. Budimir D, Todorić J, **Milunović KP**, Saraga M, Jurić I, Šušnjar T, et al. Surgical treatment of congenital urinary tract anomalies in children at University Hospital Split. *Paediatr. Croat.* 2015;59(Suppl 1):18–23.
10. Šušnjar T, **Milunović KP**, Bucat M, Skrabić V, Biočić M, Todorić D, et al. Sepsis presenting as an acute purulent neonatal epididymoorchitis: case report. *Paediatr. Croat.* 2013;57(3):271–3.
11. Jurić I, Todorić J, Šušnjar T, Todorić D, Pogorelić Z, **Milunović KP**, Meštrović J. Abdominal trauma in children [Ozljede trbuha u djece]. *Paediatr. Croat. Suppl.* 2013;57(Suppl 1):155–9.
12. Meštrović J, **Milunović KP**, Skelin A, Čarija R, Čatipović T, Meštrović M. Children with injuries treated in hospital emergency departments. *Lijec. Vjesn.* 2012;134:11–2.
13. Jurić I, Biočić M, Furlan D, Meštrović J, Todorić D, **Milunović KP**, Pogorelić Z, Meštrović J, Polić B, Todorić J. Blunt abdominal trauma in adolescents – multidisciplinary approach [Tupe ozljede trbuha u adolescenata – multidisciplinarni pristup]. *Paediatr. Croat. Suppl.* 2010;54(Suppl 1):90–3.

C) Kongresna priopćenja:

1. Meštrović J, **Milunović KP**, Barić T, Todorčić D, Pogorelić Z. Treatment of osteochondral lesions in children using the AUTOCART. 26th EUPSA congress, Dubrovnik, Hrvatska, 21–24. svibnja 2025.
2. **Milunović KP**, Meštrović J, Pogorelić Z. Treatment of benign bone lesion with bone graft substitutes. 26th EUPSA congress, Dubrovnik, Hrvatska, 21–24. svibnja 2025.
3. **Milunović KP** et al. Avascular necrosis in children – is trombophilia the cause. 5th Coagulation Days, Multidisciplinary Congress with International participation, Zagreb, Hrvatska, 9–11. svibnja 2024.
4. **Milunović KP**: Liječenje ESIN metodom fraktura kod djece. 5th Surgical Congress with International Participation, Vitez, Bosna i Hercegovina, 17–19. ožujka 2023.
5. **Milunović KP**, Meštrović J, Barić T. AutoCart – minimalno invazivna metoda liječenja osteochondralnih lezija u djece i adolescenata. Proljetna pedijatrijska škola, Split, Hrvatska, 17–21. travnja 2023.
6. **Milunović KP**, Meštrović J, Pogorelić Z. Juvenile bone cyst treatment in children by Cerament. 9th Croatian congress of pediatric surgery with International participation, Pula, Hrvatska, 21–24. rujna 2022.
7. **Milunović KP**, Jakov Meštrović. Treatment of juvenile bone cyst with Cerament in children. 6th Congress of the Croatian Trauma Society with International participation, Vodice, Hrvatska, 31. ožujka – 2. travnja 2022.
8. **Milunović KP**, Todorčić D: Rekonstrukcija Ahilove tetive s kliznim mišićnim režnjem kod djeteta s masivnim defektom potkoljenice. 15th International Symposium of Pediatric Surgery and Urology, Mostar, Bosnia and Herzegovina, 31. svibnja – 1. lipnja 2018.
9. **Milunović KP**, Todorčić D. Achilles tendon reconstruction with gastrocnemius down flap in massive necrosis of the lower limbs. 8th Croatian congress of Pediatric Surgery with International participation, Vodice, Hrvatska, 3–6. listopada 2018.
10. Todorčić D, Musić J, Čoko D, Meštrović J, Šušnjar T, Todorčić J, **Milunović KP**, Durlan D, Budimir D, Pogorelić Z, Jukić M, Barić T, Elezović Baloević S. A low-cost electrostimulator

- for anorectal malformation surgery. 8th Croatian congress of Pediatric Surgery with International participation, Vodice, Hrvatska, 3–6. listopada 2018.
11. Furlan D, Puizina E, Meštrović J, **Milunović KP**, Jukić M, Barić T, Pogorelić Z. Arthroscopic treatment of meniscal injuries at the Department of pediatric surgery, University Hospital Split in ten years period, 2006–2016. 8th Croatian congress of Pediatric Surgery with International participation, Vodice, Hrvatska, 3–6. listopada 2018.
 12. Budimir D, Jukić M, Todorić J, **Milunović KP**, Pogorelić Z, Saraga M, Arapović A, Prgomet S, Lomek M. Chyluria – rare urologic manifestations of the lymphatic system disease. 7th Croatian congress of Pediatric Surgery with International participation, Osijek, Hrvatska, 7–11. listopada 2015.
 13. **Milunović KP**, Furlan D, Jurić I, et al. Frequency and treatment of limb fractures in children at University Hospital Split. 2th congress of pediatric surgery of Bosnia and Herzegovina with International participation, Sarajevo, Bosna i Hercegovina, 19–21. studenog 2015.
 14. **Milunović KP**, Budimir D, Kovačević T. Hidrokolpos kao akutni abdomen u novorođenačkoj dobi. 12th International Symposium of Pediatric Surgery and Urology, Mostar, Bosnia and Herzegovina, 28–29. svibnja 2015.
 15. **Milunović KP**, Meštrović J. Bonalive in pediatric surgery. 19th International Symposium of Pediatric Surgery and Urology, Mostar, Bosnia and Herzegovina, 23–24. svibnja 2015.
 16. Juric I, Todorić D, Pogorelić Z, Furlan D, Budimir D, Meštrović J, **Milunovic KP**. Čimbenici ishoda liječenja traume parenhimnih organa trbuha na odjelu za Dječju kirurgiju od 2000. do 2013. godine: povjesna presječna studija. 6th Croatian Congress of Surgery with International Partipitation, Zagreb, Hrvatska, 15–18. listopada 2014.
 17. **Milunović KP**, Furlan D, Jurić I, et al. Učestalost i liječenje prijeloma ekstremiteta kod djece u bolničkim uvjetima. 6th Croatian Congress of Surgery with International Partipitation, Zagreb, Hrvatska, 15–18. listopada 2014.

18. Furlan D, Meštrović J, **Milunović KP**. Arthroscopic treatment of meniscal injuries in adolescents – our experiences. Prague International Symposium on Children's Fracture, Prag, Češka, 17–19. rujna 2014.
19. Furlan D, Meštrović J, Milunović KP, Jurić I, Budimir D, Todorčić J, Šušnjar T, Todorčić D, Pogorelić Z. Osteochondralne ozljede u koljenu kod djece i adolescenata – naša iskustva. 6th Croatian Congress of Surgery with International Participation, Zagreb, Hrvatska, 15–18. listopada 2014.

13. DODATAK

Prilog 1. Protokol studije za kontrolnu skupinu

KLINIČKI I DEMOGRAFSKI PODACI

Datum _____ MB _____
Ime i prezime _____ Dob _____ Spol M Ž
Duljina trajanja simptoma _____ h; Tjelesna temperatura _____ °C TV _____ cm TT _____ kg
Trajanje operacijskog zahvata _____ min; Duljina hospitalizacije _____ dana

DIJAGNOSTIČKA OBRADA

Leukociti _____ Neutrofili _____

CRP (serum) _____ CRP (slina) _____

UZV NALAZ:

AIR SCORE		
Povraćanje	1	
Bolnost u desnom donjem kvadrantu	1	
Rebound tenderness 1 – Umjerena; 2 – Srednja; 3 – Jaka	0 - 3	
Povišena tjelesna temperatura > 38.5 °C	1	
Neutrofili: 0 ≤70%; 1 70 – 84%; 2 ≥85%	0 - 2	
Leukociti: 0 ≤10; 1 10 –14.9; 2 ≥15	0 - 2	
CRP: 0 ≤10; 1 10 – 49; 2 ≥50	0 - 2	
AIR SCORE	12	

TIJEK LIJEČENJA

LIJEČNIK ORDINARIJUS: _____

Prilog 2. Protokol studije za operirane bolesnike

KLINIČKI I DEMOGRAFSKI PODACI

Datum _____ MB _____
Ime i prezime _____ Dob _____ Spol M Ž
Duljina trajanja simptoma _____ h Tjelesna temperatura _____ °C TV _____ cm TT _____ kg
Trajanje operacijskog zahvata _____ min Duljina hospitalizacije _____ dana

LABORATORIJSKI NALAZI / SLIKOVNA DIJAGNOSTIKA

Leukociti _____ Neutrofili _____
CRP (serum) _____ CRP (slina) _____

UZV NALAZ:

OPERACIJSKI NALAZ

Pristup: a) klasični b) laparoskopski

Nalaz: a) kataralni b) flegmonozni c) gangrenozni d) perforirani – lokalizirani peritonitis

e) perforirani – difuzni peritonitis f) bez patološkog supstrata g) ostalo _____

PATOHISTOLOŠKI NALAZ

a) kataralni b) flegmonozni c) gangrenozni d) bez patološkog supstrata

AIR SCORE		
Povraćanje	1	
Bolnost u desnom donjem kvadrantu	1	
Rebound tenderness 1 – Umjerena; 2 – Srednja; 3 – Jaka	0 - 3	
Povišena tjelesna temperatura > 38.5 °C	1	
Neutrofili: 0 ≤70%; 1 70 – 84%; 2 ≥85%	0 - 2	
Leukociti: 0 ≤10; 1 10 –14.9; 2 ≥15	0 - 2	
CRP: 0 ≤10; 1 10 – 49; 2 ≥50	0 - 2	
AIR SCORE	12	

KOMPLIKACIJE

OPERATER: _____

Prilog 3. Preslik izvoda iz zapisnika sa sjednice etičkog povjerenstva KBC-a Split.



KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR SPLIT
ETIČKO POVJERENSTVO

Klasa: 500-03/23-01/185
Ur.broj: 2181-147-01-06/LJ.Z.-23-02

Split, 20.09.2023.

IZVOD IZ ZAPISNIKA SJEDNICE ETIČKOG POVJERENSTVA KBC SPLIT 17/2023

1.

Klaudio Pjer Milunović, dr. med. iz Klinike za dječju kirurgiju KBC-a Split je uputio Etičkom povjerenstvu zamolbu za odobrenje provedbe istraživanja:

" Dijagnostička vrijednost cirkulirajućeg C-reaktivnog proteina iz krvi i sline u djece s akutnim apendicitisom: prospektivna klinička studija "

Istraživanje za potrebe doktorske disertacije će provesti u Klinici za dječju kirurgiju KBC-a Split. Voditelj istraživanja je Klaudio Pjer Milunović, dr.med., a suradnici u istraživanju su mentor izv.prof.dr.sc. Zenon Pogorelić, dr.med., dr.sc. Miro Jukić, dr.med., Tomislav Barić, dr.med. i Daniela Domić-Šupe, mag.med.biok..

Nakon razmatranja zamolbe, donesen je sljedeći

Z a k l j u č a k

Iz priložene dokumentacije razvidno je da je Plan istraživanja usklađen s odredbama o zaštiti prava i osobnih podataka ispitanika iz Zakona o zaštiti prava pacijenata (NN169/04, 37/08) i Zakona o provedbi Opće uredbe o zaštiti podataka (NN 42/18), te odredbama Kodeksa liječničke etike i deontologije (NN55/08, 139/15) i pravilima Helsinške deklaracije WMA 1964-2013 na koje upućuje Kodeks.

Etičko povjerenstvo odobrava i suglasno je s provedbom istraživanja.

PREDSJEDNIK ETIČKOG POVJERENSTVA
KLINIČKOG BOLNIČKOG CENTRA SPLIT
IZV. PROF. DR. SC. LUČKA KRAJČIĆ
Etičko povjerenstvo