УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Јасна Б. Петровић

ПОВЕЗАНОСТ ВРЕДНОСТИ ПРОКАЛЦИТОНИНА И ПАРАМЕТАРА ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА КОД ПАЦИЈЕНАТА СА СЕПСОМ

Докторска дисертација

Крагујевац, 2021

UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Jasna B. Petrović

POVEZANOST VREDNOSTI PROKALCITONINA I PARAMETARA OKSIDACIONOG STRESA KOD PACIJENATA SA SEPSOM

Doktorska disertacija

Kragujevac, 2021

UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Jasna B. Petrović

CORRELATION OF PROCALCITONIN VALUES AND OXIDATIVE STRESS PARAMETERS IN PATIENTS WITH SEPSIS

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2021

Идентификациона страница докторске дисертације (ћирилицом)

Аутор
Име и презиме: Јасна Петровић
Датум и место рођења: 23.7.1974 Ваљево
Садашње запослење: Општа болница Ваљево
Докторска дисертација
Наслов: Повезаност вредности прокалцитонина и параметара оксидационог стреса код пацијената са сепсом
Број страница: 122
Број слика: 19 табела, 56 графикона
Број библиографских података: 248
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу
Научна област (УДК): Медицина
Ментори: Проф. Др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крегујевцу Проф. др Јасна Јевђић, редовни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу
Оцена и одбрана
Датум пријаве теме: 02.10.2019.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: IV-03-754/12
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњеност услова кандидата: 1. Проф. др Маја Шурбатовић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије, Универзитета одбране у Београду, за ужу научну област Анестезиологија и интензивно лечење, председник 2. Доц. др Александар Цветковић, доцент Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан 3. Доц. др Исидора Милосављевић, доцент Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармацеутска биотехнологија, члан
Комисија за оцену и одбране докторске дисертације: 1. титула, име и презиме, звање, назив факултета/ института и универзитета 2. титула, име и презиме, звање, назив факултета/ института и универзитета 3. титула, име и презиме, звање, назив факултета/ института и универзитета 4. титула, име и презиме, звање, назив факултета/ института и универзитета 5. титула, име и презиме, звање, назив факултета/ института и универзитета
Датум одбране дисертације:

Identifikaciona stanica doktorske disertacije (latinica)

Autor
Ime i prezime: Jasna Petrović
Datum i mesto rođenja: 23.7.1974. Valjevo
Sadašnje zaposlenje: Opšta bolnica Valjevo
Doktorska disertacija
Naslov: Povezanost vrednosti prokalcitonina i parametara oksidacionog stresa kod pacijenata sa sepsom
Broj stranica: 122
Broj slika: 19 tabela, 56 grafikona
Broj bibliografski podataka: 248
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu
Naučna oblast (UDK): Medicina
Mentori: Prof. dr Vladimir Jakovljevic, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu Prof. dr Jasna Jevđić, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu
Ocena I odbrana
Datum prijave teme: 02.10.2019.
Broj odluke I datum prihvatanja teme doktorske disertacije: IV-03-754/12
Komisija za ocenu naučne zasnovanosti teme i ispunjenost uslova kandidata: 1.Prof. dr Maja Šurbatović, redovni profesor Medicinskog fakultetaVojnomedicinske akademije, Univerziteta odbrane u Beogradu, za užu naucnu oblast Anesteziologija i intenzivno lečenje, predsednik 2. Doc. Dr Aleksandar Cvetkovic, docent fakulteta Medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za uzu naucnu oblast Hirurgija, član 3. Doc. Dr Isidora Milosavljević, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Farmaceutska biotehnologija, član
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacija: 1. titula, ime i prezime, zvanje, naziv fakulteta/ instituta i univerziteta 2. titula, ime i prezime, zvanje, naziv fakulteta/ instituta i univerziteta 3. titula, ime i prezime, zvanje, naziv fakulteta/ instituta i univerziteta 4. titula, ime i prezime, zvanje, naziv fakulteta/ instituta i univerziteta 5. titula, ime i prezime, zvanje, naziv fakulteta/ instituta i univerziteta
Datum odbrane disertacije

Identifikaciona stranica doktorske disertacije na engleskom jeziku

Author
Name and surname: Jasna Petrovic
Date and place of birth: 23.7.1974. Valjevo
Current employment: Valjevo
Doctoral Dissertation
Title: Correlation of procalcitonin values and oxidative stress parameters in patients with sepsis
No. of pages:122
No. of images: 19 tables, 56 figures
No. of bibliographic data: 248
Institution and place of work: Faculty of medical sciences, University of Kragujevac
Scientific area (UDK): Medicine
Mentors: Prof. dr Vladimir Jakovljevic, Full professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac Prof. dr Jasna Jevdjic, Full professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Grade and Dissertation Defense
Topic Application Date:
Decision number and date od acceptance of the doctoral:
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate: 1. Prof. dr Maja Surbatovic, Full professor of Faculty of Medicine Military Medical Academy, Universe of Defense in Belgrade, president 2. dr. sc. Aleksandar Cvetkovic, Assistant Professor of faculty of Medical Scences, University of Kragujevac, for the narrower scientific field Surgery, member 3. dr. sc. Isidora Milosavljevic Assistant Professor of faculty of Medical Scences, University of Kragujevac, for the narrower scientific field Pharmaceutical Biotechnology, member
Commission for evaluation and defense of doctoral: 1. title, name and surname, position, name of faculty/ institute and university 2. title, name and surname, position, name of faculty/ institute and university 3. title, name and surname, position, name of faculty/ institute and university 4. title, name and surname, position, name of faculty/ institute and university 5. title, name and surname, position, name of faculty/ institute and university
Date of Dissertation Defense:

ЗАХВАЛНИЦА

Својим менторима, Проф. др Владимиру Јаковљевићу и проф. Јасни Јевђић изражавам дубоко поштовање и дугујем велику захвалност за подршку и помоћ током израде овог докторског рада. Захваљујем им се за несебично залагање и подршку коју су ми пружили, за поверење и поштовање као и несебично пренесеном знању. Својим саветима су ми увек давали снагу да идем само напред и да постављене циљеве остварујем.

Захвалност дугујем и Проф. др Владимиру Живковићу на несебичној помоћи, на искреним сугестијама и коментарима.

Доц. др Тамари Николић Туринић се захваљујем на великој помоћи, на труду и времену уложеном у анализу добијених података.

Велику захвалност дугујем целокупном пожртвованом и стручном особљу лабораторије за Кардиоваскуларну физиологију, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу где су узорци анализирани.

Захвалност дугујем служби Анестезије и интензивне неге Опште болнице у Ваљеву, где су сакупљани узорци. Посебно се захваљујем дивним сестрама и техничарима који раде у интензивној нези на челу са главном сестром Миром Радојевић.

Захваљујем се и служби Трансфузиологије, Бактериологије и Биохемијске лабораторије који су, обрадом узорака, помогли у изради овог докторског рада.

Захваљујем се својим родитељима, који су ми подарили живот и, сестру Јелену и мене, учили правим људским вредностима.

Посебну захвалност дугујем свом супругу Бранislаву на свакодневној несебичној подршци, разумевању, на великом стрпљењу, на духовној и моралној подршци, на позитивном ставу и сталној инспирацији да ствари посматрам ведрије. Хвала му на томе што је веровао у мене и што је био уз мене сваког тренутка и давао ми неизмерну подршку у најтежим тренуцима и радовао се заједно са мном у најлепшим тренуцима.

Своју докторску дисертацију посвећујем својим највећим љубавима, онима који су у мој живот унели неизмерну радост, створили најјаче емоције и који ме сваким даном чине срећном, синовима Николи и Алекси.

САЖЕТАК

Циљ истраживања је био испитати повезаност инфламаторних маркера и параметара оксидационог стреса код оболелих од сепсе. Ово је лонгитудинална, проспективна, клиничка студија спроведена у Општој болници Ваљево, која је укључила 103 критично оболела пацијената који су у периоду од децембра 2018. до децембра 2019. године боравили у јединици интензивног лечења. Након потврде критеријума, забележени су потребни демографски и анамнестички подаци. Септични шок је дефинисан као сепса где је неопходно применити вазопресоре да би се одржавао средњи артеријски притисак (MAP) >65 mmHg уз ниво серумских лактата >2 mmol/L. У крви испитаника одређивани су рутински биохемијски, инфламаторни и маркери редокс равнотеже у три времена (на пријему, 24 ч и 72 ч од пријема). Континуираним мониторингом праћени су сви пацијенти који су учествовали у студији. Бележене су вредности PaO_2/FiO_2, средњег артеријског притиска и Глазгов кома скала, у циљу одређивања SOFA скора. Статистичким анализама утврђена је статистички значајна разлика у дужини хоспиталног лечења у односу на хируршку интревенцију, затим пад вредности прокалцитонина и Ц реактивног протеина, као и промене у маркерима редокс равнотеже. Приметне су екстремно високе вредности прооксидационих и ниске вредности антиоксидационих маркера у односу на здраве испитанике. Корелациона анализа показала постојање позитивне корелације између хоспиталног морталитета и хируршке интервенције као и међусобна повезаност инфламаторних маркера. Улазно место инфекције није повезано са променама инфламаторних маркера и хоспиталним морталитетом. Нивои прооксидационих маркера (супероксид анјон радикал, водоник пероксид, индекс липидне пероксидације) су били статистички значајно виши у групи пацијената са септичним шоком у поређењу са испитаницима са сепсом. Прокалцитонин је биомаркер који показује већу специфичност од осталих проинфламаторних маркера у идентификовању сепсе. Резултати нашег истраживања указују да би прокалцитонин могао бити предиктор тока болести, као и прогнозе у различитим фазама септичких поремећаја.

Кључне речи: сепса, прокалцитонин, СОФА скор, оксидациони стрес, антиоксидациони ензими

ABSTRACT

The aim of the study was to examine the relationship between inflammatory markers and oxidative stress parameters in patients with sepsis. This is a longitudinal, prospective, clinical study conducted at the Valjevo General Hospital, which included 103 critically ill patients who were in the intensive care unit in the period from December 2018 to December 2019. After confirmation of the criteria, the necessary demographic and anamnestic data were recorded. Septic shock is defined as sepsis where it is necessary to apply vasopressors to maintain mean arterial pressure (MAP)> 65 mmHg with serum lactate levels> 2 mmol / L. Routine biochemical, inflammatory and redox equilibrium markers were determined in the subjects' blood at three times (at admission, 24 h and 72 h after admission). All patients who participated in the study were monitored by continuous monitoring. The values of RaO2 / FiO2, mean arterial pressure and Glasgow coma scale were recorded, in order to determine the SOFA score. Statistical analyzes revealed a statistically significant difference in the length of hospital treatment in relation to surgery, then a decrease in the value of procalcitonin and C reactive protein, as well as changes in markers of redox balance. Extremely high values of pro-oxidation and low values of antioxidant markers in relation to healthy subjects are noticeable. Correlation analysis showed the existence of a positive correlation between hospital mortality and surgical intervention as well as the interrelationship of inflammatory markers. The entry site of infection is not associated with changes in inflammatory markers and hospital mortality. Levels of pro-oxidation markers (superoxide anion radical, hydrogen peroxide, lipid peroxidation index) were statistically significantly higher in the group of patients with septic shock compared with subjects with sepsis. Procalcitonin is a biomarker that shows greater specificity than other proinflammatory markers in identifying sepsis. The results of our research indicate that procalcitonin could be a predictor of the course of the disease, as well as the prognosis in different phases of septic disorders.

Key words: sepsis, procalcitonin, SOFA score, oxidative stress, antioxidant enzymes

САДРЖАЈ

1. УВОД 4

1.1. Сепса – историја 4

1.2. Дефиниције сепсе 4

1.2.1. Новине у дефиницији сепсе 7

1.3. Епидемиологија сепсе 9

1.4. Етиологија сепсе 10

1.5. Клинички ток и патофизиологија сепсе 11

1.6. Дисфункција имунског система у сепси 12

1.6.1. Дисфункција урођеног имунског система, неспецифичног имунског система 14

1.6.2. Дисфункција адаптивног имуног система, специфичног имуног система, стеченог имуног система 15

1.7. Дисфункција ћелијског метаболизма у сепси 16

1.7.1. Метаболичка регулација имунитета 16

1.7.2. Молекуларне промене у сепси 17

1.8. Редокс неравнотежа у сепси 17

1.9. Неуроендокрина улога у развоју сепсе 18

1.10. Ћелијска дисфункција 18

1.11. Дијагноза и биомаркери сепсе 19

1.11.1. Ц-реактивни протеин 19

1.11.2. Укупан број леукоцита у комплетној крвној слици 20

1.11.3. Седиментација еритроцита 20

1.11.4. Интерлеукин 6 20

1.11.5. Интерлеукин 8 20

1.11.6. Фактор некрозе тумора 20

1.11.7. Маркери леукоцитне активације (CD64) 21

1.11.8. Прокалцитонин 21

1.12. Скорови за дијагностиковање и праћење тока болести – нумерички бодовни ситеми 21

1.13. ОКСИДАЦИОНИ СТРЕС 24

1.13.1. Слободни радикали 24

1.13.2. Антиоксидациона заштита 26

1.14. Улога оксидационог стреса у сепси 28

2. ЦИЉ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА 31

3.1. Дизајн истраживања 34

3.2. Студијска популација 34

3.3. Протокол истраживања 34

3.3.1. Скор за дијагностиковање и праћење тока болести – процена органске дисфункције изазване сепсом (e.g. Sepsis-related Organ Failure Assessment Score - SOFA) ……..35
3.3.2. Узорковање крви 36
3.4. Методе одређивања биохемијских параметара....37
3.5. Методе одређивања хематолошких параметара 37
3.6. Методе одређивања параметара редокс статуса 38
3.6.1. Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS) 38
3.6.2. Одређивање водоник пероксида (H_2O_2)....38
3.6.3. Одређивање супероксид анјон радикала (O_2^-) 38
3.6.4. Одређивање нитрита (NO_2^-)....39
3.7. Методе одређивања параметара антиоксидационог система заштите 40
3.7.1. Одређивање каталазе (CAT) 40
3.7.2. Супероксид дисмутаза (SOD) 40
3.7.3. Одређивање редукованог глутатиона (GSH)....40
3.8. Праћење клиничких карактеристика и исхода....40
3.9. Статистичка обрада података 41
4. РЕЗУЛТАТИ....43
4.1. ОСНОВНЕ ДЕМОГРАФСКЕ И АНАМНЕСТИЧКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ СТУДИЈСКЕ ПОПУЛАЦИЈЕ....43
4.2. КОМОРБИДИТЕТИ У СТУДИЈСКОЈ ПОПУЛАЦИЈИ 46
4.3. АНАЛИЗА ПРОИНФЛАМАТОРНИХ МАРКЕРА У СТУДИЈСКОЈ ПОПУЛАЦИЈИ 61
4.4. ПАРАМЕТРИ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА У КРВИ ПАЦИЈЕНАТА 72
5. ДИСКУСИЈА....89
6. ЗАКЉУЧЦИ 95
7. ЛИТЕРАТУРА....97

УВОД

1. УВОД

1.1. Сепса – историја

Термин сепса датира још из периода старе Грчке, када је Хипократ употребио реч *"sipsi"(σήψη)* да би описао процес опасног, биолошког пропадања ткива праћеног непријатним мирисом – труљење (1).

Током времена од периода античког доба па до 19. века, са напретком медицинских сазнања, проналаска микроорганизама, важности примене хигијенских мера у току извођења прегледа као и неопходност мера асепсе и антисепсе током интервенција, издвојили су се битни елементи који би могли објаснити патофизиолошка дешавања у сепси. Уочена је повезаност присуства микроорганизама у крви са једне стране као узрок проблема и одговора тела у виду повишене температуре, малаксалости, дехидратације, промењеног стања свести.

Ова сазнања су почетком XX века омогућили нову дефиницију сепсе и из концепта труљења ткива *Hugo Schottmuller* дефинисао је сепсу као: "Стање да фокус који се развио из патогене бактерије, стално или повремено, упада у крвоток на такав начин да то изазива субјективне и објективне симптоме."

Након Другог светског рата, када су у употребу уведени антибиотици, смтрност од сепсе се почела смањивати али је и даље остала значајно висока и указивала да није само узрочник инфекције одговоран за смртни исход већ и реакција организма пацијента.

Средина двадестог века је била значајна за брз развој медицине а посебно лечења критично оболелих пацијената. Запажају се и дефинишу нова патофизиолошка и клиничка дешавања у сепси.

Откриће антиинфламаторних цитокина и њихових рецептора омогућио је *Bone* и сарадницима да 1989. године дају прву дефиницију сепсе која је једним својим делом и данас актуелна. Сепса је дефинисана као "инвазија микроорганизама и/или њихових токсина у крвоток и све реакције организма против ове инвазије". Након тога, у циљу постављања прецизних дефиниција и јасне комуникације и терминологије, одржане су прве конференције о овој теми (2-4).

1.2. Дефиниције сепсе

Прва консензус конференција о сепси одржана је 1991. године од стране *American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest.* Циљ је био да се стандардизује терминологија и омогући јасна комуникација у научним круговима.

Дате су и јасне дефиниције термина важних у дијагностици и терапији сепсе (Табела 1).

Табела 1. Дефиниције термина важних у дијагностици и терапији сепсе

Инфекција	Присуство микроорганизама у иначе стерилним ткивима, са или без запаљенске реакције
Бактеријемија	Пролазно присуство бактерија или њихових токсина у крви

Системски инфламаторни одговор (енгл. *SIRS – Systemic inflammatory response syndrom*)	Системски и клинички инфламаторни одговор на различите узрочнике инфективне и неинфективне природе
Сепса	Системски инфламаторни одговор узрокован инфекцијом
Тешка сепса	Подврста сепсе удружена са органском дисфункцијом, хипоперфузијом и/или хипотензијом. (Хипопрефузија се може манифестовати као олигурија, лактатна ацидоза или акутну промену менталног статуса)
Септични шок	Подврста сепсе која перзистира упркос адекватној надокнади циркулишућег волумена
Синдром мултипле, вишеструке, органске дисфункције *(*енгл. *MODS - Multiple organ dysfunction syndrome)*	Измењена функцију органа код акутно оболелих, када се хомеостаза не може одржати без терапијске интервенције

Дефинисан је нови термин, синдром системског инфламаторног одговора, (енгл. *Systemic Inflammatory Response Syndrome - SIRS*), који је пружио скуп објективних мера за квантификацију физиолошких промена које одговарају упалном одговору домаћина, без обзира на етиологију (детаљни критеријуми описани у методологији).

SIRS може бити узрокован различитим етиолошким факторима. Практично га могу покренути сви микроорганизми, бактерије, вируси, паразити и гљивице. Такође и неинфективни узроци покрећу *SIRS* реакцију као што су траума, опекотина, панкреатитис, исхемија ткива, имунолошко оштећење органа.

Сепса је дефинисана као *SIRS* удружен са доказаном или суспектном инфекцијом.

Због честих компликација у току сепсе које се карактеришу поремећајем функције органа, од којих су најчешће акутно оштећење плућа и акутна бубрежна инсуфицијенција, предложен је термин синдром мултипле органске дисфункције (MODS) (*е*нгл. *Multiple Organ Dysfunction Syndrome*).

Ако се клинички развије хипотензија, упркос надокнади циркулишућег волумена са хипоперфузијом и поремећајем функције органа, наступа септични шок.

У свом току сепса је представљена као линеарни континуум од *SIRS* – а преко тешке сепсе до септичног шока (5,6).

Под окриљем Удружења за интензивно лечење, Европског удружења интензивне медицине и Међународног форума о сепси (енгл. *Society of Critical Care Medicine, European Society of Intensive Care Medicine i International Sepsis Foruma*), 2001. године одржана је друга Интернационална конфренција којом су ревидиране дефиниције објављене 1992. године, због недовољне специфичности и претеране сензитивности *SIRS* критеријума. Тада је са активностима почела и кампања за преживљавање сепсе (енгл. *Surviving Sepsis Campaign*), која је за циљ имала побољшање преживљавања тешке сепсе.

Резултат друге конференције о сепси је био да се актуелни *SIRS* критеријуми не мењају већ да се прошири листа дијагностичких критеријума као и да се предложе јасне терапијске смернице за брзо реаговање код септичних пацијената. Проширени дијагностички критеријуми су дати у табели 2.

Табела 2. Проширени дијагностички критеријуми након друге Интернационалне конференције о сепси

Основни показатељи	- Хипертермија изнад 38°C или хипотермија испод 36 °C - Срчана фреквенца изнад 90 откуцаја/минути - Респираторна фреквенца више од 20 удаха/минути - Измењен ментални статус - Значајни едеми/позитиван биланс течности (>20 mL/kg/24 h) - Хипергликемија > 7,7 mmol/L у одсуству дијабетес мелитуса
Инфламаторни показатељи	- Број леукоцита мањи од $4x10^9$/L или већи од $12x10^9$/L - Вредност Ц-реактивног протеина веће од 2 СД изнад референтног опсега - Вредност прокалцитонина веће од 2 СД изнад референтног опсега
Хемодинамски показатељи	- Артеријска хипотензија (систолни притисак мањи од 90 mmHg, средњи артеријски протисак мањи од 70 mmHg, или пад систолног притиска за више од 40 mmHg
Показатељи дисфункције органа	- Акутна хипоксемија (PaO2 / FiO2 < 300) - Акутна олигурија (< 0,5 mL/kg/h) за најмање два сата - Снижење кретинина на мање од 44,2 μmol/L т.ј. повећање изнад 176,8 μmol/L - Повећање нивоа лактата (> 1 mmol/L) - Поремећај коагулације (INR > 1,5 или aPTT > 60s) - Тромбоцитопенија, број тромбоцита мањи од $100x10^9$/L - Хипербилирубинемија, вредности билирубина преко 70 mmol/L - Смањење капиларне перфузије - Илеус, одсуство перисталтике

PaO_2/FiO_2 – однос парцијалног притиска кисеоника у артеријској крви и инспираторне фракције кисеоника; **INR** – интернационални нормализовани однос; **aPTT** – активирано парцијално тромбопластинско време.

Дат је и нови модел познат као *PIRO* модел који подразумева рану и објективну оцену клиничког стања болесника. Овај модел уједињује лако доступне биомаркере који описују склоност (енгл. *Predisposition*), инфекцију (енгл. *Infection*), одговор организма (енгл. *Response)* и органску дисфункцију (енгл. *Organ dysfunction)* (7).

Кључне препоруке и предлози за терапијски приступ укључују:

- Рану реанимацију септичког пацијента током првих 6 часова након сумње на сепсу;
- Узимање микробиолошких култура пре укључивања антибиотске терапије;
- Примена антибиотске терапије широког спектра у року од 1 сата од препознавања спетичног шока;
- Прецизно дефинисане терапијске смернице за терапију течностима, респираторну терапију и хемодинамску потпору.

Предложене смернице су и данас актуелне у примарном збрињавању сепсе (8-10).

У наредне две деценије, кампања за преживљавање сепсе је активно деловала, имала је више ревизија али се смернице нису битно мењале.

Почетком 2014. године, радна група (*European Society of Intensive Care Medicine i Society of Critical Care Medicine*) се састала са циљем да се нова знања о механизму настанка сепсе укључе у дијагностичке и терапијске смернице као и да се направи јасна разлика између некомпликоване инфекције и сепсе.

На трећем Интернационалном консензусу о дефиницији сепсе и септичног шока 2016. године објављене су нове, ревидиране смернице *SEPSA-3* (енгл. *Sepsis-3*). Нова класификација подразумева поделу на сепсу и септични шок. Изостављен је раније коришћен термин – тешка сепса, јер се појам дисфункције органа појављује у дефиницији сепсе.

Сепса је дефинисана као животно угрожавајућа органска дисфункција узрокована неконтролисаним, дисрегуларним одговором организма на инфекцију (11-13).

Септични шок је дефинисан као подврста сепсе коју карактерише продубљена циркулаторна, ћелијска и метаболичка дисфункција и која носи већи ризик од смртног исхода него сама сепса. Клиничке карактеристике болесника у септичном шоку су немогућност одржавање средњег артеријског притиска (енгл. *Mean Artearial Blood Presure – MAP*) > од 65 mmHg без вазопресора у условима нормоволемије као и ниво серумских лактата > од 2 mmol/L (14).

Препорука је да се клинички дисфункција органа објективизује преко *SOFA* скора (енгл. *Sepsis-related Organ Failure Assessment Score – SOFA*). *SOFA* скор квантификује физиолошке абнормалности и промена за 2 или више бодова у односу на почетну вредост сматра се позитивним параметром који је повезан са болничком смртношћу више од 10% (11).

Обзиром да се скоринг системи користе претежно у јединицама интензивног лечења и да их мањи број лекара користи у свакодневном раду, од стране радне групе предложен је и нови скоринг систем брза-*SOFA* (*qSOFA*).

Овај сикоринг систем је предложен за употребу ван јединице интензивног лечења код болесника са сумњом на инфекцију који могу бити у ризику од развоја сепсе. Процена се доноси само на основу клиничког прегледа и може се често и лако понављати. Процењују се три параметра: стање свести, респираторна фреквенца и артеријски притисак. Позитивним тестом се сматрају присуство два од три критеријума (11).

1.2.1. Новине у дефиницији сепсе

До сада су предлагане дефиниције ишле у правцу што прецизнијих клиничких и биохемијских параметара у циљу настанка прецизне дефиниције. Због хетерогености реакције пацијената на сепсу у односу на место инфекције, врсту организма који је узрочник инфекције, генетску позадину и постојеће услове домаћина, дефиниције су и даље непрецизне у погледу одговора на терапијске поступке и предвиђања смртног исхода. Увиђа се да акценат треба да буде на индивидуалној нези пацијента ради побољшања исхода преживљавања.

Употреба, недавних најрелевантнијих достигнућа транслационе биологије, користећи нове статистичке алате високе пропусности и аналитичке методе за дефинисање различитих подскупова пацијената са сепсом у последње две године, дала је нови поглед како би могли бити категоризовани пацијенати са сепсом и септичним шоком (14, 15).

Zhongheng и сарадници су у својој ретроспективној студији из 2018. године на 14 993 пацијената идентификовали четири субфенотипа сепсе, који су показали различите исходе смртности:

- Профил 1 показао је најнижу стопу смртности са 16,9% од укупног броја пацијента као и највећи удео и сматра се основним типом;

- Профил 2 карактерише респираторна дисфункција са нешто вишом стопом смртности од 18,2%;
- Профил 3 карактерише дисфункција више органа (инсуфицијенцију бубрега, поремећај коагулације, дисфункцију јетре и развој септичног шока) са највишим процентом смртности од чак 45,4%;
- Профил 4 карактерише првенствено неуролошка дисфункција и имао је стопу смртности 27,4% (16).

Seymour и сарадници су под пројектом *National Institutes of Health–funded Sepsis Endotyping in Emergency Care (SENECA) project,* користили податке из историја 63 858 пацијента лечених под дијагнозом сепсе. Након рандомизације дефинисали су 4 фенотипа која су обележили као α, β, γ, и δ . Анализирали су лабораторијске вредности, развој дисфункције органа и разлике у демографским карактеристикама и потврдили су постојање корелације са биомаркерима и смртношћу.
- α фенотип је био најчешћи 33%, и обухватао је пацијенте са најнижом применом вазопресора и најнижом смтрношћу од 5%.
- β фенотип 27%, чинили су старији пацијенти који су имали више хроничних коморбидитета и смањење бубрежне функције. У β фенотипу смртност је била двоструко већа од α фенотипа.
- γ фенотип чинило је 27% пацијената који су имали дисфункцију респираторног система и смртност од 24%.
- δ фенотип је чинило 13% пацијената који су имали значајну дисфункцију јетре и септички шок. Смртност у овој подгрупи је била највиша са 40% (17).

Gårdlunda и сарадници са Каролинска института, поделили су хетерогену групу пацијената са септичним шоком на шест клинички значајних субфенотипова. Сваки субфенотип је имао типичан профил:

1. Некомпликовани септички шок,
2. Пнеумонија са респираторним дистрес синдромом (енгл. *Acute respiratory distress syndrome – ARDS*) одраслих,
3. Септични шок након операције у абдомену,
4. Тешки септички шок,
5. Пнеумонија са *ARDS*-ом и синдромом вишеструке органске дисфункције (*MODS*),
6. Касни септички шок (18).

Истраживања су отишла корак даље и проширена су на терапијске приступе. Посебан осврт био је на лековима на које су у претходним годинама клиничари полагали велика очекивања али су очекивани ефекти изостали. Примена стероида, ериторана и других лекова показала је смањење смртности у појединим подгрупама/субфенотиповима док је код других група очекивани ефекат лека изостао или чак довео до повећања смртности (19, 20).

Тренутно постоји обећавајући помак од предвиђања исхода до разумевања хетерогености у одговору домаћина на сепсу а куда ће ићи видеће се у наредним годинама. Можда ће приступ оваквих класификација спсе допринети бољем предвиђања исхода.

1.3. Епидемиологија сепсе

Сепса представља глобални здравствени проблем. Поред комплексне савремене терапије и даље је један од водећих узрока смтрност код критично оболелих пацијената (21).

У Сједињеним Америчким Државама трошкови повезани са лечењем оболелих од сепсе износе око 16 милијарди долара годишње, јер је већини пацијената примљених у јединицу интензивног лечења потребна механичка вентилација да би преживели. Сепса је водећи узрок смрти у некоронарним јединицама интензивног лечења (22, 23).

Поред тога, сваке године морталитет мајки и новорођенчади узроузрокованих сепсом је око милион смртних случајева (24).

Процене инциденце и морталитета, које се најчешће користе, су из болничких база података за одрасле особе са потврђеном сепсом које су хоспитализоване и подаци су претежно из земаља са високим примањима (25, 26). Недостатак података је што у већини процена и истраживања искључују децу, занемарују се основни узроци болести и подаци се узимају за кратак временски период од само једне или неколико година. Из процена су искључивани пацијенти који никада нису примљени у болницу (22, 27, 28).

Истраживање у којем су учествовали здравствени центри и 84 земаља, укључујући и Србију, објављено је 2014. године. Праћењем морталитета у јединицама интензивног лечења, 29,5% пацијената имало је сепсу на пријему или током боравка у јединици интензивног лечења, морталитет пацијената са сепсом и јединицама интензивног лечења био је 25,5%, док је болнички морталитет пацијената са сепсом био 35,3% (29).

Fleischmannova и сарадници у студији објављеној 2016. године, направили су процену глобалне инциденце и морталитета услед болнички лечене сепсе. Обухваћени период је био од 2003. до 2015. године. Инциденца сепсе изведена је на основу података из развијених земаља. Процењено је око 31,5 милиона случајева сепсе годишње и скоро 20 милиона случајева тешке сепсе (473/100,000 становника новооболелих од сепсе и 270/100000 од тешке сепсе). Леталитет је био 17% за сепсу и 26% за тешку сепсу од укупног броја смрти у болници. Предвидели су могућих више од 5 милиона смрти годишње изазваних сепсом (5,3 милиона) (30).

Најновије глобалне процене инциденца и смртности услед сепсе *Kristine E Rudd* и сарадника објављене у часопису *Lancet* из јануара 2020. године. Истраживачи су користили податке добијене из студије *Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors Study* из 2017. године. Процењивали су глобалну, регионалну и националну учесталост сепсе и смртности од сепсе у 195 држава, 282 најчешћа узрока болести, обухатили су оба пола и 23 старосне групе, за период од 1990. до 2017. године. Испитиван узорак обухватао је 109 милиона картона пријављених смрти. Разматрани су и подаци преминулих ван болнице. У 2017. години процењено је скоро 50 милиона случајева сепсе (48,9 милиона) и 11 милиона смртних случајева повезаних са сепсом у испитиваној популацији. Учесталост сепсе и смртност су опали за 52,8% и смртност се смањила за 52,8% од 1990. до 2017. године. Према њиховим истраживањима, смртност од сепсе представља скоро 20% (19,7%) свих смртних случајева у свету. Подручја која су имала најлошије резултате су делови у субсахарској Африци, Океанији, јужној, источној и југоисточној Азији (31).

Упркос опадању учесталости и смртности, сепса је и даље главни узрок губитка здравља широм света и има посебно велико здравствено оптерећење посебно у земљама са нижим дохотком.

1.4. Етиологија сепсе

Сепса се јавља у свим старосним групама. Неадекватан одговор организма на инфективни агенс сматра се предусловом за настанак сепсе било да је условљен старошћу или околностима пацијента. Вирулентност узрочника и извор инфекције су важна одредница клиничког исхода. Узрочници су различити зависно од животне доби.

У неонаталном периоду инфекцију најчешће изазива *Streptococcus agalactiae* (стрептокок групе Б), а ређе *Escherichia coli*, са смртошћу од 5-10%. Најчешћи пут инфекције неонатуса је током порођаја.

У педијатријској популацији узрочници су *Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis,* и *Staphylococcus aureus.* Улазно место инфекције је кожа, риносинузитис, упала средњег уха, менингитис. Остали узрочници су *Escherichia coli, Streptococcus agalactiae* (стрептокок групе Б)*, Klebsiella, Enterobacter.*

Код одраслих пацијената најчешће место инфекције је уринарни тракт, респираторни тракт, интрабдоминалне инфекције, места инструментације, контаминирана опрема за инхалациону терапију и интравенске течности. Узрочници су веома хетерогени а најчешће су грам-негативни микроорганизми (62%) из рода *Pseudomonas, Escherichia coli* и врсте рода *Klebsiella*. Грам-позитивни узрочник је *Staphylococcus aureus* (20%), укључујући и сојеве *MRSA* (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*). Гљивице су као узрочник сепсе изоловане код 19% пацијената (32-35).

Пацијенти старији од 65 година чине више од 60% оболелих. Због хроничних удружених болести имају значајно смањење физиолошких резерви и теже толеришу оштећења ткива и инфекције, што негативно утиче на њихово преживљавање (36, 37).

Већ је истакнуто да је сепса хетероген синдром изазван инфекцијом. Према препорукама за лечење сепсе, у иницијалном третману је неопходна микробилошка обрада са свих сумњивих и доступних места за узорковање. Микробилошка обрада се саветује пре започињања антибиотске терапије.

Истраживањем добијених резултата уочено је да >50% узорака, узетих од пацијената који су идентификовани и лечени од тешке сепсе, има негативне резултате хемокултуре. Позитивне културе су биле 27% хемокултуре, урин 19%, инфекције плућа 14%, абдоминалне 9%, кожа и мека ткива 8% и инфекције централног нервног система (ЦНС-а) 1%. Код пацијената који су примљени као сумња на сепсу, испитивањем је установљено да је 18% имало неинфективну дијагнозу која је опонашала сепсу, а клиничке карактеристике ових испитаника биле су сличне онима код пацијената чије су културе биле позитивне (38).

У периоду од годину дана, 2016.-2017. године, група јапанских научника спровела је мултицентричну, проспективну кохортну студију која је укључила пацијенте са озбиљном сепсом хоспитализоване у 59 јединица интензивног лечења у Јапану. Потврдила је да је тешка сепса повезана са местом инфекције, посебно међу пацијентима са септичним шоком. Најчешћа места инфекције била су плућа (31,0%), затим интраабдоминална инфекција (26,3%), уринарни тракт (18,4%) и инфекције меких ткива (10,9%). Септички шок је био чешћи међу пацијентима са интраабдоминалном (72,2%) и уринарном инфекцијом (70,2%) него са инфекцијама других места. Стопа смртности у болници услед тешке сепсе и септичког шока обједињено била је 23,4% (распон, 11,9% а инфекције уринарног тракта до 47,6% за инфекције ЦНС-а) (39).

1.5. Клинички ток и патофизиологија сепсе

Патофизиолошка дешавања током сепсе су комплексна. За циљ имају елиминацију патогена и враћање организма у стање хомеостазе. Без обзира на природу примарног инсулта (инфекција, траума и др.), покреће се реакција организма активирањем имунског система (14).

Продор микроорганизма започиње локалну реакцију организма примарно вођену урођеним имуним системом. Функција урођеног имуног систем огледа се у ограничавању инфекције, неутралисању микроорганизма и враћању организма у стање хомеостазе. Када реакција урођеног имуног система није довољна за заустављање инфекције покрећу се механизам који доводи до појачаног и пренаглашеног имуног одговора који представља основу сепсе. У крви се запажају високи нивои принфламаторних цитокина (цитокинска олуја), који се одржавају неколико дана и праћени су клиничким манифестацијама које су описане као системски инфламаторни одговор – *SIRS*. Проинфламаторни одговор је усмерен ка елиминацији патогена и доводи до нежељеног оштећења ткива. Поред развоја *SIRS*, уочена је склоност пацијената са сепсом да лако развију упорне, рекурентне и болничке инфекције, што указује на постојање супресије имуног система у сепси (40, 41).

Након што пацијент преживи примарну проинфламаторну фазу наступа период имунопарализе назван синдром компензаторног антиинфламаторног одговора организма (енгл. *Compensatory Anti-inflammatory Response syndrom*). Сматрало се да је улога овог синдрома да обнови хомеостазу након стања инфламације (42-44).

Раније се сматрало да се ова два дешавања одвијају сукцесивно и да након проинфламаторне фазе која траје неколико дана до неколико недеља, наступа фаза имунопарализе. Сазнања која потврђују истовремену секрецију и принфламаторних и антиинфламаторних цитокина указују да се хиперинфламаторна и фаза продужене имунске парализе одвијају паралелно (45, 46). Додатно, постоје мишљења да је имунска парализа пре примарни него накнадни, компензаторни одговор у сепси (47).

Антинфламаторни одговор има улогу у смиривању и ограничавању упале али истовремено ствара услове за развој секундарних инфекција и имунопарализе и сам може допринети смртном исходу.

У току развоја сепсе долази до поремећаја физиолошких функција међузависних органа која може варирати од благог степена поремећене функције до потпуног, неповратног отказивања органа и означава се као вишеструка органска дисфункција – *MODS* (14). Појам *MODS* је дефинисан седамдесетих година прошлог века и представља прогресивну дисфункцију два или више органских система који су последица акутног поремећаја системске хомеостазе. *MODS* има високу стопу смртности од 30-60%, зависно од примарног узрока и броја захваћених органа.

Патогенеза *MODS* -а подразумева оштећену микроциркулацију, ткивну хипоксију и дисфункцију митохондрија са смањеном производњом енергије потребне за нормално функционисање ћелије. Оштећење микроциркулације настаје због оштећења структуре и функције ендотелних ћелија. У глатким мишићима артерија и на ендотелу стварају се повећане количине азот моноксида (*NO*) који настаје активацијом индуцибилне азот моноксид синтазе (*inducible NOS – iNOS*), узрокујући вазодилатацију и утичући на метаболизам јона калијума и хиперполаризацију мембране глатких мишићних ћелија зида крвног суда. Услед тога долази до екстравазације течности из капилара у околна ткива са последичним смањивањем интраваскуларне течности. Из оштећеног ендотела ослобађају се патолошке количине вон Виллебранд-овог фактора,

који поспешује агрегацију и адхезију тромбоцита на субендотелни слој, стварање тромба и развоја дисеминоване интраваскуларне коагулације – ДИК (енгл. *Disseminated intravascular coagulation)*. Неки аутори *MODS* објашњавају митохондријалном дисфункцијом која настаје због цитопатске хипоксије (немогућност ћелије да користи кисеоник у метаболизму) и последичног смањења синтезе аденозин-трифосфата (АТП). Уочено је да је поремећај органа у *MODS*-у најчешће реверзибилан и да степен дисфункције није праћен структурним променама ћелије ако раније није постојало оштећење органа. Дисфункција органа у сепси може представљати заштитни механизам. Смањењем метаболизма митохондрија уз смањење производње АТП-а ћелије улазе у стање слично хибернацији (48).

MODS има карактеристичну динамику поремећаја функције органа у времену. Прво долази до измене функције ЦНС-а променом стања свести. Измена функције распираторног система се огледа у акутном оштећењу плућа које може прогредирати до акутног респираторног дистрес синдрома. Кардиоваскуларни систем карактерише се измењеном систолном функцијом, смањењем претходног пуњења срца (енгл. *preload*) и периферном вазодилатацијом узрокујући септични шок. Поремећај функције бубрега огледа се као различит степен бубрежне инсуфицијенције која може захтевати хемодијализу. Оштећење система коагулације и оштећена функција јетре јављају се на крају (49).

Услед оштећења ендотелне баријере долази и до појачане пропустљивости зида капилара и преласка течности у међућелијски простор. Тако се смањује количина интраваскуларне течности и смањује се притисак пуњења срца уз систолну дисфункцију смањује се ударни волумен срца. Клинички се ова ситуације назива септичним шоком. Основна метаболичка карактеристика септичног шока је развој лактатне ацидозе као последица анаеробног метаболизма и поремећаја нивоа лактата. Септични шок има високу смртност (50).

Применом смерница Добре клиничке праксе у лечењу сепсе, пре свега раног постављања сумње и потврде сепсе као и брзог започињања интензивног лечења надокнадом течности, раном антибиотском терапијом и другим неопходним мерама, број смртних случајева у раном периоду акутне хиперинфламаторне фазе сепсе и акутног *MODS*-а су опали.

Пацијенти који преживе почетну фазу сепсе могу ући у трајно и истовремено инфламаторно и антиинфламаторно стање вођено нефункционалним урођеним и потиснутим адаптивним имунитетом. Хронична критична болест и синдром упорне упале/имуносупресије и катаболизма, карактерише отказивање органа, упорно запаљење, катаболизам протеина/кахексија, неефикасно зарастање рана и повећана осетљивост на инфекцију. Ово стање продужава хоспитализацију и број дана проведених у јединици интензивног лечења. Већина пацијената са овим синдромом не успе да се опорави са индолентном трогодишњом смртаношћу од 71% (51).

Сепса је болест која се манифестује на много начина, која поред оштећења ЦНС-а, респираторног, кардиоваскуларног, укључује и ендокрини поремећај, коагулопатију, активацију комплемента и полинеуропатију, а све потиче од нерегулисане инфламације.

1.6. Дисфункција имунског система у сепси

У последње две деценије дошло је до великог напретка у разумевању патофизиологије сепсе где је у основи ирегуларни имунски одговор на инфекцију.

Процес започиње продором патогеног микроорганизма или његовог токсина у организам пацијента. На том месту, као страну супстанцу, препознају га антиген

презентујуће ћелије (АПЋ) урођеног имунитета као што су ткивни макрофаги, дендритичне ћелије, моноцити. АПЋ на својој површини поседују рецепторе за препознавање обрасца (*PRR*) (енгл. *Pattern-recognition receptors*). Ови рецептори препознају молекулуле стране организму као што су пептидогликан грам-позитивних бактерија, липополисахарид ћелиског зида грам-негативних бактерија, липопептид флагелини, делови вирусне РНК и ДНК или бета-глукан гљивица. Када се оствари контакт патогена и рецептора покреће се молекуларни образац повезан са патогенима – *PAMP* (енгл. *pathogen-associated molecular patterns*). *PAMP* се вежу на постојеће рецепторе и изазивају активацију (лимфоцити) а затим презентују на рецепторима ћелијске површине да активирају остале ћелије (моноците).

Тренутно су идентификоване четири различите класе *PRR* породице рецептора. Ове породице укључују трансмембранске протеине као што су ТЛР (енгл. *Toll-like receptors – TLR*) и лектински рецептори Ц – типа, као и цитоплазматске протеинске рецепторе попут РЛР рецептора (енгл. *Retinoic acid-inducible gene-I-like receptors – RLRs*) и рецептори слични НОД-у (енгл. *Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors, or NOD-like receptors – NLRs*). ТЛР започињу каскаду одговора урођеног имунског система директном активацијом неутрофила, моноцита али и систем комплемента што доводи до брзог стварања протеина акутне фазе С3а и С5а (52).

Такође из ткива оштећених траумом, некрозом, исхемијско-реперфузионом повредом као и самом инфекцијом, ослобађају се супстанце које се једним именом називају молекулским обрасцима оштећења – *DAMP* (енгл. *damage-associated molecular patterns*). Одговор *PRR* је врло динамичан и може га изазвати молекуларни образац повезан са патогенима (*PAMP*) и/или молекуларни образац повезан са молекулима ослобођеним из оштећеног ткива молекулским обрасцима оштећења (53-55).

Када *PAMP* и/или *DAMP* активирају рецепторе, започиње процес регулације и транскрипције гена који су укључени у инфламаторне реакције. Ови гени кодирају синтезу и лучење, примарно антиинфламаторних цитокина као што су интерлеукини (IL), интерлеукин-1 (IL-1) и интерлеукин-6 (IL-6), фактор некрозе тумора – TNF (енгл. *Tumor necrosis factor*), интерфероне гама (IFN-γ), хемокине и антимикробне протеине, протеине који учествују у модулацији *PRR* сигнализације.

Цитокини регулишу ћелијску смрт инфламаторних ткива, модификују пропустљивост ендотела, регрутују крвне ћелије у ткивима где постоји инфламација и индукују производњу протеина у акутној фази. Оштећени ендотел у контакту крви са екстраваскуларним ткивним фактором доводи до активације тромбоцита, покретања коагулационе каскаде, актривира фибриногена и фактора *Xa* и *XIa.* Активирани тромбоцити ослобађају интиинфламаторне медијаторе који појачавају *SIRS* реакцију. Следи ширење и активирање имунских ћелијских линија као што су полиморфонуклеарне ћелије (ПМН) и Б лимфоцити стимулисани антиинфламаторним цитокинима (54).

Нагло ослобађање инфламаторних цитокина, у кратком периоду од неколико дана, назива се „цитокинска олуја" (56). Хиперинфламаторни процес покреће интензивну активацију комплемента и урођена имунолошка стимулација потенцира оно што би требало да буде нормалан физиолошки одговор на инфекцију, у прекомерни инфламаторни одговор који резултира оштећењем ткива, ћелијском дисфункцијом и молекуларном дисрегулацијом која покреће дисфункцију органа, па чак и отказивање више органа (49, 56).

Ефекат проинфламаторних медијатора огледа се и у способности да стимулише и адаптивни имунски одговор ефектом на АПЋ (57).

Сепса утиче на имунски систем тако што директно мења животни век, производњу и функцију ефекторских ћелија одговорних за хомеостазу (24, 25).

1.6.1. Дисфункција урођеног имунског система, неспецифичног имунског система

Урођени имунски систем чине поред анатомских баријера коже и слузница, ефекторске ћелије: неутрофили, моноцитно-макрофагни систем, природне ћелије убице – НК (енгл. *Natural killer cells – NK cells*), интраепителни Т и Б лимфоцити. Ситем комплемента са циркулишућим протеинима.

Урођени имунитет постоји и пре контакта са антигеном. Ендотелне ћелије се међу првима активирају након инвазије микроорганизама (58). На њима започиње производња антиинфламаторних цитокина и хемокина. На својој површини експримирају молекуле *MHC* (енгл. *Major Histocompatibility Complex*) I и II класе и представљају АПЋ за Т лимфоците. Такође изражавају ТЛР-2 и ТЛР-4 омогућавајући им да одговоре на присутан липополисахарид у стањима бактеријских инфекција (59).

Стимулисане ендотелне ћелије, активирани неутрофили и моноцитно-макрофагни ситем активирају специфични протеински систем комплемента што доводи до брзог стварања протеина акутне фазе, С3а и С5а (60). Активација система комплемента често је повезана и са активацијом система коагулације и ставарања услова за развој ДИК.

Неутрофили представљају ћелије које долазе као први одговор на месту инфекције. Неопходни су за задржавање и елиминацију микроорганизама, и предуслов су за преживљавање (61, 62). Неутрофили уклањају патогене процесима фагоцитозе и/или дегранулацијом. Запажено је да неутрофили могу елиминисати широк спектар микроорганизама формирањем ”неутрофилних екстраћелијских замки” (енгл. *Neutrophil extracellular traps – NETs*) (63). Измењена функција неутрофила у сепси ствара услове за имунолошку дисфункцију и пролонгира инфламацију (64-66).

Једна од најизраженијих промена у сепси је закаснела апоптоза неутрофила. Одложена апоптоза неутрофила додатно се компликује ослобађањем незрелих форми неутрофила из коштане сржи који продукују велике количине прооксиданаса у процесу неутрализације микроорганизама и индукују оксидациони стрес. Јављају се грешке у миграцији неутрофила ка месту инфекције. Наведени функционални недостаци трају дуго и након смиривања симптома сепсе, доводећи до продужене хоспитализације због развоја болничких инфекција и других компликација у јединици интензивног лечења (67-73). Код великог број пацијената код којих долази до леталног исхода услед сепсе, на обдукцији се потврди присуство септичних фокуса (11).

Моноцитно-макрофагни систем код септичних пацијената има смањени капацитет да ослобађа про-инфламаторне цитокине TNF, IL-1, IL-6 и интерлеукин-12 (IL-12) након контакта са ендотоксином. То је описано као „толеранција на ендотоксине“ и доводи до лошег исхода септичних пацијената (74-76). Такође уочена је трајно смањена моноцитна експресија површинских хуманих леукоцитних антигена (HLA-DR) која је повезана са смањеном антиген-специфичном пролиферацијом лимфоцита (77, 78).

Природне ћелије убице (НК) представљају регулаторе имунолошких функција и продукују IFN-γ. Подељене су у различите подгрупе на основу површинске експресије CD16 и CD56 молекула. Докази указују да је током сепсе цитотоксична функција НК ћелија знатно смањена (79). Смањена функција НК ћелија може довести до реактивирања вируса у организму пацијената са сепсом. Доказане су реактивације цитомегаловируса. Такође је показано да активност НК ћелија пружа заштиту од

запаљења плућа повећаном производњом IFN-γ који инхибира раст бактерија и побољшава исход сепсе (80).

Дендритичне ћелије такође показују смањену експресију HLA-DR и производе повећане количине имуносупресивног IL-10 (81). Заједничка култура дендритичних ћелија са Т лимфоцитима индукује анергију Т ћелија и пролиферацију Т регулаторних лимфоцита, што заједно корелира са имунолошком дисфункцијом изазваном сепсом. Неколико недавних испитивања показало је да превенција септичке индуковане апоптозе или повећање функције дендритичних ћелија побољшава дугорочно преживљавање код сепсе (82, 83).

Супресорске ћелије мијелоидног порекла – *MDSC* (енгл. *Myeloid-Derived Suppressor Cells*) су хетерогена популација незрелих мијелоидних ћелија које су веома бројне у сепси и њихова улога је у имуносупресивним реакцијама. *MDSC* ометају имунски одговор сигнализиран путем ТЛР посредованих путева и инхибирају $CD8^+$ ћелијску функцију лимфоцита (84-86). Прекомерна пролиферација *MDSC* повезује се са развојем хроничне критичне болести или трајним инфламаторно-имуносупресивним и катаболичким синдром, узрокујући лош исход код сепсе (87). Трајним инфламаторно-имуносупресивни и катаболички синдром карактерише отказивање органа, упорна инфламација, катаболизам протеина/кахексија, неефикасно зарастање рана и повећана осетљивост на инфекцију услед супресије имуности (88).

1.6.2. Дисфункција адаптивног имуног система, специфичног имуног система, стеченог имуног система

Адаптивни имунит чине специфичне ћелије лимфоцити који се деле на Т и Б лимфоците. Он не постоји пре контакта са антигеном и развија се постепено током времена.

Урођени и стечени имуни систем су међусобно блиско повезани и функционишу као целина.

Поремећај на нивоу стеченог, адаптивног имунитета примарно доприноси имуносупресији у сепси. Дефект у функционисању Т-лимфоцита огледа се у томе да они не успевају да се размножавају као одговор на митогене стимулусе и да не производе интерлеукин 2 (IL-2), интерлеукин 10 (IL-10) (89-91).

Код већине септичких болесника, лимфоцити у циркулацији и ћелије гастроинтестиналног епитела пролазе кроз значајну апоптозу, док апоптоза/некроза није очигледна у органима који најчешће показују поремећену функцију као што су бубрези, плућа и срце (92).

Такође и апоптоза већ функционалних лимфоцита доприноси септичкој имуносупресији и описана је и на анималним и на хуманим моделима сепсе (93, 94).

Апоптозом су погођене све субпопулације лимфоцита. Субпопулација помоћних Т-лимфоцита (енгл. *T-helper (Th) cells*) помажу другим типовима имунских ћелија у току имунског одговора. Учествују у процесу диференцијације Б ћелија, цитотоксичној активацији Т- лимфоцита и стимулацији моноцита имунолошким процесима. Када се суоче са пептидним антигенима молекулима *MHC* класе II експримираним на АПЋ, активирају на својој површини гликопротеин који их диференцира ка $CD4^+$ лимфоцитима. Брзо се размножавају и ефикасно излучују цитокине који регулишу адаптивне и урођене одговоре. Након активације, ћелије имају способност

диференцијације у један од неколико подскупина Т-лимфоцита, који олакшавају различите имуне одговоре кроз лучење различитих цитокина (95).

Излучују или цитокине са инфламаторним својствима, укључујући ТНФ-α, IFN-γ и IL-2, или цитокине са више антиинфламаторних особина нпр. интерлеукин-4 (IL-4) и IL-10.

Слично феномену примећеном у неутрофилима и моноцитима, један од најштетнијих дефеката Т лимфоцита изазван сепсом је развој апоптозе која дестеткује $CD4^+$ популацију (11, 96). Код људи који умиру од сепсе, апоптоза лимфоцита (посебно $CD4^+$) била је много већа од оне која је преживела сепсу (97).

С обзиром на основну улогу Th17 у искорењивању патолошких гљивичних инфекција, смањена производња Th17 цитокина у сепси је вероватно одговорна за повећану осетљивост на гљивичне инфекције која се често примећује код критично оболелих популација (98).

Регулаторни Т лимфоцити су врста Т лимфоцита са улогом у регулацији адаптивног имунитета и сузбијања реакција осталих подскупова ефекторских Т лимфоцита, помажући у одржавању самоодрживости и сузбијању аутоимуних болести. Сматра се да су регулаторни Т лимфоцити отпорни на апоптозу у сепси, повећавају текућу дисрегулацију Т-ефекторских ћелија, доприносе развоју инфекције и потенцијално служе као циљеви за имунску модулацију. Повећање броја регулаторних Т лимфоцити у сепси сматра се последицом ефекторског губитка Th ћелија у процесу апоптозе, а не апсолутног повећања броја регулаторних Т лимфоцита (99).

Б ћелије (Б лимфоцити) су врло разнолика популација имунских ћелија са различитим функционалним и фенотипским својствима. У прошлости се подразумевало да функција Б ћелија обухвата само производњу антитела и плазма ћелија за дугорочни одговор на антитела.

Недавни извештаји показују да Б лимфоцити играју много важнију улогу у имунолошкој биологији сепсе него што се раније мислило. Представљају АПЋ, и на својој површини експримирају молекуле преко којих се везују за систем комплемента CD21. Активација Б лимфоцита може бити зависна од Т лимфоцита или се могу активирати без њих. Јасно је да људи са септичким шоком имају опште смањење броја Б ћелија. Смањење имунокомпетентних Б лимфоцита може бити повезано са повећањем секундарнихм инфекција након сепсе, нарочито код старијих особа (100).

1.7. Дисфункција ћелијског метаболизма у сепси

1.7.1. Метаболичка регулација имунитета

Улога имуног система је у заштити организма од патогених микроорганизама, у одржавању хомеостазе ткива и омогућавању зарастања повреда током читавог живота. Ове разнолике и интегралне функције захтевају прецизну контролу ћелијских, метаболичких и биоенергетских путева.

Новија истраживања су боље дефинисала молекуларну основу за то, како сигнали који се налазе ван ћелије контролишу унос, анаболизам и катаболизам хранљивих састојака у мирујућим, активираним и инфламаторним имунолошким ћелијама.

Ћелије урођеног имуног одговора за своје метаболичке потребе, у мировању, као извор енергије за производњу АТП-а користе оксидативну фосфорилацију и β-оксидацију. (101-105).

Након стимулације и активирања леукоцити пребацују свој метаболизам ка аеробној гликолизи у процесу познатом као Варбургов ефекат.

Ћелијска енергија се претежно производи повећањем гликолизе праћене млечно-киселинском ферментацијом уз производњу лактата у цитосолу, уместо ниском стопом гликолизе праћене оксидацијом пирувата у митохондријима (106, 107).

Активирани макрофаги прелазе са оксидативне фосфорилације на гликолизу и сукцинат и индукују производњу IL-1β. Глукозни транспортер 1 (GLUT1) посредује у повећању гликолизе која олакшава антиинфламаторни фенотип макрофага. У недавном извештају, људски леукоцити који су постали толерантни излагањем липополисахариду након изолације од пацијената са сепсом и имунолошком парализом показали су генерализовани метаболички дефект на нивоу гликолизе и оксидативног метаболизма, који је обновљен након опоравка пацијента (108-110).

1.7.2. Молекуларне промене у сепси

У погледу структуре ћелије и ткива запаженео је да се вишеструка инсуфицијенција органа *MODS* често реверзибилна, чак и код органа који имају низак степен обнављања као што су срце, плућа, бубрези. Очигледно је да се сепсом изазвана дисфункција органа јавља првенствено кроз ћелијску и молекуларну дисрегулацију уз очувану ћелијску морфологију (49).

Узевши у обзир да су митохондрије кључне за одржавање адекватног снабдевања ћелија енергијом у виду АТП-а, њихова дисфункција или оштећење директно утичу на његово стварање. Смањење АТП-а ће негативно утицати на ћелијске процесе, може покренути ћелијску анергију, при чему ћелија неће нужно умрети, већ ће, уместо тога, добити стање налик хибернацији, што резултира дисфункцијом ткива и отказивањем органа (111).

Значај митохондријалне дисфункције током сепсе наглашавају запажања да су нивои АТП-а у ћелији у корелацији са преживљавањем како на људском, тако и на животињском моделу сепсе (112). Поред тога, оштећене митохондрије могу покренути путеве ћелијске смрти ослобађањем митохондријског цитохрома Ц (112, 113).

Митохондрије су погођене на неколико начина током сепсе. Поремећена перфузија ткива због поремећаја капиларене мембране, доводи до хипоксије ткива. Губитак оксигенације ткива значајно нарушава оксидативну фосфорилацију и може покренути путеве ћелијске смрти (114). Стварање прекомерне количине ROS и RNS може директно инхибисати дисање и оштетити компоненте респираторног ланца у митохондријима (112, 115, 116).

1.8. Редокс неравнотежа у сепси

Измењено функционисање респираторног ланца у митохондријама доводи до неконтролисане производње реактивних кисеоничних врста (ROS) и реактивних азотних врста (RNS) и настанка оксидационог стреса. Активиране имунолошке и епителне ћелије производе велике количине оксид-синтаза, укључујући индуцибилну синтазу азотног оксида као и повећану митохондријску производњу ROS и RNS које играју значајну улогу у напредовању сепсе, ометајући сигналне каскаде азотног оксида и оксидацију. Поред тога, оштећују протеине и нуклеинске киселине што резултира неадекватном функцијом ћелије (117-119).

1.9. Неуроендокрина улога у развоју сепсе

Неуроендокрина улога у развоју сепсе је потврђена великим бројем доказа током последње две деценије. Дошло се до закључка да у системској производњи и ослобађању цитокина улогу има и 10. кранијални нерв (*Nervus Vagus*). Лабораторија *Tracey* је расветлила еферентни део инфламаторног рефлекса и представила га као холинергички антиинфламаторни пут (120-122). Стимулација вагусног нерва делује антиинфламаторно, смањује регулацију производње проинфламаторних цитокина у сепси и побољшава преживљавање у моделима септичког перитонитиса. Хируршка ваготомија повећава ниво антиинфламаторних цитокина у плазми, оштећење ткива и морталитет у сепси (123, 124). Супротно томе, на анималном моделу сепсе, електрична стимулација вагусног нерва умањује и спречава хипотензију, модулира коагулацију и активацију фибринолизе, што све смањује дисфункцију органа. (125, 126). Стога је терапијски потенцијал вагалне еферентне модулације влакана за лечење поремећаја који се карактеришу дисрегулацијом цитокина од великог интереса.

Улога ендокриног система огледа се у функцији адренергичког система који је моћан модулатор имунолошког система (127, 128). Хематопоетска и лимфопоетична ткива попут слезине, тимуса, лимфних чворова и коштане сржи су углавном инервисани симпатичким неуронима. Осим $CD4^+$ Th2 ћелија, већина лимфоцита експримира бета-адренергичке рецепторе на својој ћелијској површини. На производњу и диференцијацију моноцита коштане сржи утиче адренергички систем, а апоптоза имуних ћелија је бар делимично посредована катехоламинима, путем алфа-адренергичких и бета-адренергичких путева (129, 130). Адренергички систем такође модулира ћелијску смрт, функцију митохондрија и инфламаторну сигнализацију (49, 131).

Сепса индкукује промене у функцији органа, морфологији органа, патолошка дешавања у ћелији, имунолошке промене.

1.10. Ћелијска дисфункција

Многи ћелијски аспекти постају дисфункционални у сепси и могу се окарактерисати као прекомерна активација или депресивна функција. Прекомерна активација односи се на ћелије које врло снажно реагују на други подражај. Пример претеране активације могу бити неутрофили који стварају сувишне токсичне производе који оштећују ћелије у близини. Пример депресивне функције би био неуспех неутрофила да фагоцитује и очисти инвазивне патогене. Једна од тренутно активних области која се тичу ћелијске функције је индукција ћелијске апоптозе или некрозе. Сигнални механизми и молекули који индукују апоптозу тренутно су детаљно описани од стране многих истраживача (132, 133).

Апоптоза и некроза у пољу сепсе су прилично добро проучени у недавној прошлости. Апоптоза може допринети патогенези сепсе, одложеним уклањањем оних ћелија које треба уклонити, тј. неутрофилима, и раним одстрањењем оних ћелија које не би требало да буду уклоњене, тј. лимфоцити (134, 135).

1.11. Дијагноза и биомаркери сепсе

За рану потврду инфекције и оштећења ткива у сепси данас су у употреби различити биомаркери: ниво леукоцита, седиментација ертироцита, Ц-реактивни протеин, ниво лактата, прокалцитонин (енгл. *Procalcitonine - PCT*) (136, 137). Рано постављање дијагнозе сепсе и благовремено укључивање антибиотске терапије су заначајни за исход лечења пацијената оболелих од сепсе и септичног шока (138).

Биомаркери су физиолошки параметри који могу порврдити или искључити неко обољење. Према дефиницији Светске здравствене организације из 1993. године, биомаркер је дефинисан као сваки параметар (физички, хемијски или биолошки) који се може користити за мерење интеракције биолошких система и агенаса из околине. Примена биомаркера уз клиничке показатеље болести омогућава уочавање патолошких процеса, праћење тока болести и одговор на примењену терапију.

У биомаркере спадају различити метаболити ткива (ензими, орган специфични изоензими, орган специфични супстрати) који су секретовани у физиолошким или патолошким условима, физиолошки параметри (срчана фреквенца, крвни притисак, телесна температура и др.), подаци добијени употребом дјагностичких апарата, спирална компјутеризована томографија, магнетна резонанца.

Број биомаркера се брзо повећава али и даље није пронађен идеалан. Недавно итраживање објављено 2010. године, идентификовало је 178 потенцијално дијагностичких и прогностичких биомаркера (139).

Новим прегледом литературе од периода 2009. до 2019. године установили су да је идентификовано укупно 258 биомаркера. Најчешће испитивани и коришћени у истраживањима су Ц-реактивни протеин и прокалцитонин (140).

Идеалан биомаркер би требао да са великом прецизношћу раздвоји болесне и здраве особе, да се детектује у раној фази болести и да се ниво одржава довољно дуго да се лабораторијски и клинички може пратити, да је присутан у довољно великој количини у лако доступним телесним течностима. За процену дијагностичке поузданости биомаркер треба да има високу сензитивност, способност да у групи оболелих одвоји оне који су заиста болесни. Специфичност, да у групи здравих утврди да немају болест.

Идеалан биомаркер који испуњава све очекиване особине још увек није пронађен. Тренутно актуеле препоруке за дијагнозу сепсе *Sepsis-3* нису одредиле јасно место биомаркера у постављању дијагнозе сепсе.

За рану потврду инфекције и оштећења ткива у сепси данас су у употреби различити биомаркери: Ц-реактивни протеин, ниво леукоцита, ниво лактата, прокалцитонин, ниво IL-6 и IL-8, маркери леукоцитне активације нарочито CD64.

1.11.1. Ц-реактивни протеин

Ц-реактивни протеин (енгл. *C-Reactive protein* – CRP) је реактант акутне фазе запаљења који се синтетише у јетри и адипоцитима. По започињању инфекције, након латентног периода од 6 сати, серумски ниво се удвостручује на сваких 8 сати. Максималне концентарције достиже између 36 и 48 сати од настанка инфекције. При успешној антибиотској терапији концентрација се за 48 сати смањи за 50%. ЦРП има високу сензитивност од преко 80% док је нискоспецифичан (од 45-60% зависно од студије) и неопходна је корелација са другим биомаркерима у свакодневном мерењу.

Нормалне вредности ЦРП-а у серуму су испод 10 mg/l. Вредности веће од ових се сматрају повишеним и указују на присуство патолошког стања (141, 142).

1.11.2. Укупан број леукоцита у комплетној крвној слици

Нормалне вредности су од 4 до $10x10^9$/l за одрасле. У дечијем узрасту нормалне вредности су од 12 до $15x10^9$/l. Повећан број леукоцита може да укаже на присуство инфекције. Сам параметар иако неспецифичан и несензитиван је у свакодневној пракси, користан је као оријентир дешавања у организму. Повишене вредности указују обично на бактеријску инфекцију док се снижене вредности виде код вирусних инфекција.

1.11.3. Седиментација еритроцита

Седиментација еритроцита представља брзину таложења еритроцита пуне крви у посебно конструисаној стакленој цевчици изражено у јединици времена. Висина талога се мери у милиметрима те је вредност изражена као mm/h. Повећана количина беланчевина плазме, које су повећане у разним патолошким стањима су узрок таложења еритроцита и формирања *Rouleaux* формација. Нормалне вредности разликују се према узрасту и полу. Код деце су до 10 mm/h док код одраслих старијих од 30 година, за мушкарце су до 15 mm/h а за жене до 20 mm/h. Тест сам није довољан за постављање дијагнозе упалног процеса него се мора корелирати са другим анализама (143, 144).

1.11.4. Интерлеукин 6

Интерлеукин 6 један је од првих цитокина који се излучује из активираних Т лимфоцита и макрофага у процесу инфламације. Детектује се 3-4 сата од почетка инфекције. Вредности му значајно смањују на половину својих иницијалних вредности унутар 12 сати. Његова кључна улога је у индукцији синтезе протеина у акутној фази. Ниво IL-6 у плазми детектује се раније од нивоа других протеина акутне фазе али се и подједнако брзо смањује. IL-6 је у поређењу са TNF-α бољи предиктор смртног исхода (145-147).

1.11.5. Интерлеукин 8

Производи се у активираним моноцитима и епителним ћелијама. Основна улога му је да привлачи и активира неутрофиле у зонама упале. Код пацијената са сепсом ниво IL-8 корелира са нивоом IL-6. Ниво IL-8 значајно корелира са нивоима лактата и обрнуто са бројем леукоцита и тромбоцита и средњим артеријским притиском. Ниво IL-8 се у крви брзо смањује без обзира на исход болести. Такође, постоји повезаност нивоа IL-8 са постојањем оксидативног стреса код пацијената са сепсом (148-151).

1.11.6. Фактор некрозе тумора

Фактор некрозе тумора (енгл. *Tumor necrosis factor* – TNF) представља групу цитокина који се стварају у активираним моноцитима и лимфоцитима. У крви се детектује веома рано, унутар 2-3 сата од инфекције. Клиренс му је такође брз и за 24 сата пада испод нивоа детекције. Има два облика алфа и бета. Алфа облик је важан у процесу

инфламације и део је протеина акутне фазе. Важна улога је у програмираној ћелијској смрти, што је посебно значајно у регулацији раста тумора. Бета облик првенствено је значајан за вирусне инфекције. Луче га активирани лимфоцити. Ефекат му може бити инхибиран IL-10. Ниво TNF-α значајно је повишен код пацијента са тешком сепсом (152).

1.11.7. Маркери леукоцитне активације (CD64)

У активираним леукоцитима испољава се више маркера CD43, CD44, CD52, CD60, CD64 i Mac-1. Маркер леукоцитне активације CD64 представља релативно нов биомаркер у дијагностици сепсе. CD64 се издваја сензитивношћу од 88-96% и специфичношћу 71-97%. Истраживања су усмерена на проналазак специфичног биомаркера који би разликовао неинфективан *SIRS* од бактеријске инфекције (153, 154).

1.11.8. Прокалцитонин

Прокацитонин (PCT) је прохормон калцитонина са карактеристикама секреторног протеина који се у физиолошким условима ствара само у Ц ћелијама тиреоидне жлезде. Откривен је 1975. године од стране Моје и сарадника у току испитивања биосинтезе калцитонина. У патолошким условима ствара се у екстратиреоидним ткивима као што су јетра, плућа, моноцитно макрофагни систем. Сензитивност прокалцитонина је 76,5%, док је специфичност 82,8% (155). Концентрације прокалцитонина код здарвих људи су веома ниске, испод 0,1 ng/ml. Патолошким се сматрају вредности веће од 0,5 ng/ml. Нивои прокалцитонина су узимани као одредница за јачину инфекције.

Према препорукама водича за лечење сепсе из 2012. године прокалцитонин је предложен као један од биомаркера који је користан као водич за укључивање антибиотске терапије, праћење ефекта и њено трајање. Концентрација PCT детектује већ након 2-4 сата од почетка инсулта. Највише вредности су у првих 6-24 сата са пиком око 18 сата након иницијалне експозиције. Вредности остају повишене у наредних 36 сати али се висок ниво, ако се инфламација није смирила, запажа до 7 дана (11, 14). И ако се убрзо након откривања PCT мислило да ће он бити добар биомаркер сепсе, досадашња сазнања су показала да он не може да јасно одвоји бактеријске инфекције од других инсулта. Показао се као добар показатељ суперинфекција код пацијента са сепсом праћењем његове кинетике. Значајна улога је у одлуци о започињању а нарочито прекиду антибиотске терапије. Ако су вредности мање од 0,5 ng/ml код пацијената са *SIRS*-ом без доказане инфекције и негативним микробиолошким културама може се обуставити антибиотска терапија (156). Прокалцитонин прати повећање експресије гена код бактеријских инфекција и нисходни ниво генске експресије код вирусних инфекција. У клиничком току значајна је и његива негативна предиктивна вредност од 94% сигурности (157).

1.12. Скорови за дијагностиковање и праћење тока болести – нумерички бодовни ситеми

Систем скорова, скоринг систем, или нумерички бодовни систем подразумева степеновање, квантификацију стања критично оболелих и/или повређених пацијената

на основу анатомских, физиолошких и биохемијских варијабли у циљу објективизације и процене њиховог стања и сврставања у одређену групу (158).
Скоринг системи се деле на:

- анатомске,
- физиолошке и
- комбиноване

Анатомски скоринг системи заснивају се само на видљивим оштећењима или повредама. Непоуздани су и могу послужити као улазни параметри али само у комбинацији са другим дијагностичким процедурама.

Физиолошки скоринг системи прате промене физиолошких параметара (срчана фреквенца, артеријски притисак, респираторна фреквенца, телесна температура...). Њихова поузданост је већа него код анатомских скорова. Комбиновани скорови дају најкомпетнију слику о стању пацијента. Скорови се увек морају посматрати у контексту клиничке слике пацијента.

Скоринг системи се заснивају на праћењу и градирању физиолошких промена у току сепсе, обухватајући праћење рада најважнијих органа и органских система. Формулисани су тако да се тренутно најлошијој измереној физиолошкој промени додељује одређена бројчана вредност. Сабирањем добијених вредности, пацијент се разврстава у припадајућу гупу. Сврставањем у групе и софтверском анализом података могу се извести закључци о кретању тока болести, могућим компликацијама, као и исходу. Могу се планирати даљи дијагностички и терапијски поступци.

Примењују се свакодневно у току лечења критично оболелих пацијената. Избор скоринг система зависи од стања и клиничке слике пацијента. Праћењем динамике промена добија се објективан увид у процену стања пацијента у тренутку испитивања, ефикасност примењеног терапијског приступа као и предвиђање исхода лечења. Скоринг системи омогућавају прикупаљање информација за базу података и научно-истраживачки рад.

Најчешће коришћени скоринг системи у лечењу пацијената са сепсом су:

1. Процена органске дисфункције изазване сепсом SOFA скор (енгл. *Sepsis-related Organ Failure Assessment Score* - SOFA),
2. Брза-SOFA (енгл. quickSOFA - qSOFA),
3. АПАЧ 2 СКОР (енгл. *Acute Physiology And Chronic Health Evaluation* – APACHE II SCORE) (159, 160).

1. Процена органске дисфункције изазване сепсом *(e.g. Sepsis-related Organ Failure Assessment Score -SOFA)*

Скоринг систем за процену органске дисфункције изазване сепсом дизајниран је од стране научника Европског удружења интензивне медицинеса са циљем да се објективизује степен органске дисфункције у сепси. Обимна студија спроведена 1995. године над 1449 пацијената у 40 јединица интензивног лечења показала је значај *SOFA* скора за процену тежине стања и исхода лечења пацијената са сепсом (161).

Препорука *Sepsis-3* кампање за дефиницију и праћење пацијената са сепсом, налаже као обавезан параметар у постављању дијагнозе и праћењу тока болести, примену *SOFA* скора (детаљан начин процене описан у методологији).

2. Брза секвенцијална процена затајења органа (брза- *SOFA*) *(quickSOFA - qSOFA)*

Овај скоринг систем предложен је од стране *Sepsis-3* кампање 2016. године за употребу ван јединице интензивног лечења, код болесника са сумњом на инфекцију који могу бити у ризику од развоја сепсе.

Процена се доноси само на основу клиничког прегледа и може се често и лако понављати. Процењују се три параметра: стање свести, респираторна фреквенца и артеријски притисак. Позитивним тестом се сматрају присуство два од три критеријума (Табела 3).

Табела 3. *qSOFA* – брза секвенцијална процена затајења органа.

Стање свести (ГКС) (Глазгов кома скор - ГКС)	Измењено стање свести (ГКС < 15)
Респираторна фреквенца	Респираторна фреквенца (≥ 22/min)
Артеријски притисак	Хипотензија (≤ 100 mmHg)

У основи *q-SOFA* треба да одвоји пацијенте који су *SIRS* позитивни али узрочник није инфективне природе. У обимној студији поређени су *SIRS* критеријуми са *q-SOFA* критеријумима. Уочено је да су *SIRS* позитивни (више од 2 позитивна критеријума) пацијенти обухватили готово све пацијенте са позитивним *q-SOFA* скором и били су повезани са већом учесталошћу коначне дијагнозе инфекције од пацијената који нису били *SIRS* позитивни, без обзира на дијагнозу *q-SOFA*. Критеријуми *SIRS* били су знатно тачнији у предвиђању утврђене инфекције. Резултати могу сугерисати да се оцена *q-SOFA* може заменити критеријумом *SIRS* као алат за скрининг инфекције која ће вероватно прећи у сепсу. Комбинована примена критеријума *SIRS* и оцене *q-SOFA* код пацијената код којих се сумња да имају инфекцију може побољшати скрининг и прогностичку тачност ових фактора за предвиђање инфекције и/или сепсе и лош исход (162).

3. *APACHE II* скор (енгл. *Acute Physiology And Chronic Health Evaluation – APACHE II score*)

Често коришћен систем иницијалног бодовања болесника у јединицама интензивног лечења је *APACHE II* систем. Он је комплексан за употребу јер обједињује три бодовна система и служи као улазна процена. Састоји се из: акутног физиолошког скора, скора узраста/старости и процене, бодовања ранијих хроничних болести.

Акутни физиолошки скор је у корелацији са тежином актуелне болести. Састоји се од 12 параметара. Физиолошке вредности су бодоване са 0 а патолошке разврстане од 1-4. Вредности за акутни физиолошки скор се узимају у прва 24 сата од пријема. Максималан број бодова је 71. Већи број бодова повећава вероватноћу интрахоспиталне смрти. Као и код других скоровања за обраду података, узимају се најлошије измерене вредности (163-165).

1.13. ОКСИДАЦИОНИ СТРЕС

1.13.1. Слободни радикали

Преко 90% кисеоника у организму подлеже процесу стварања енергије оксидативном фосфорилацијом у митохондријама где се молекуларни кисеоник редукције до воде. Процес се одвија на унутрашњој мембрани митохондрија у транспортном ланацу електрона, који се састоји од пет респираторних комплекса (I-V). Електрони се преносе са једног на други (I-IV) што доводи до стварања АТП-а у комплексу V (*ATP sintaza*). У току овог процеса губи се 0,1-0,5% електрона који се транспортују респираторним ланцем и учествују у производњи реактивних врста кисеоника и реактивних врста азота (166).

Реактивне врсте представљају хетерогену групу која се састоји од слободних радикала и нерадикала. Слободни радикали се деле у више категорија у зависности од тога који атом је у центру: реактивне врсте кисеоника (*Reactive oxygen species* (ROS)); реактивне врсте азота (енгл. *Reactive nitrogen species* (RNS)); реактивне врсте угљеника (енгл. *Reactive carbon species* (RCS)) и реактивне врсте сумпора (енгл. *Reactive sulfur species* (RSS)) (Табела 4) (167).

Реактивне врсте кисеоника (*Reactive Oxygen Species - ROS*) чине слободни кисеонични радикали и нерадикалски реактивни облици кисеоника.

Слободни радикали су молекули, атоми или јони, способни за самостално постојање и садрже један или више неспарених електрона. С друге стране неколико реактивних врста кисеоника не садржи неспарене електроне. Представљају нерадикалске компоненте, али се понашају као слободни радикали и помажу реакције слободних радикала.

У процесу ћелијског дисања у митохондријама стварају се и реактивне врсте азота.

Због ускалђивања терминологије, ROS и RNS се заједничким именом називају „реактивне врсте кисеоника и азота“. С обзиром да су све RNS такође и реактивне врсте које садрже кисеоник, термин ROS се може применити и за RNS (168).

Једињења сумпора и угљеника такође ослобађају своје реактивне врсте (169).

Табела 4. Слободни радикали, врсте и подела

	Радикалски облици	**Нерадикалски облици**
Реактивне врсте кисеоника - ROS	Супероксид анјон радикал - $O_2^{\bullet -}$	Водоник пероксид – H_2O_2
	Хидроксил радикал – $OH^{\bullet}$	Хипохлорна киселина – HOCl
	Пероксил радикал – $ROO^{\bullet}$	Озон – O_3
	Алкоксил радикал – $RO^{\bullet}$	Синглет кисеоник – $^1O_2$
	Хидропероксил радикал – $HOO^{\bullet}$	
Реактивне врсте азота - RNS	Азот-моноксид радикал – $NO^{\bullet}$	Азот-диоксид анјон – NO_2^-
	Азот-диоксид радикал – $NO_2^{\bullet}$	Азот-триоксид – N_2O_3
		Нитронијум јон – NO_2^+
		Пероксинитрит анјон – $OONO^-$
		Алкил пероксинитрит –ROONO

	Нитроксил анјон – NO^-
	Нитроксил анјон – NO^+
	Нитрил хлорид - NO_2Cl
Реактивне врсте угљеника - RCS	Алкил радикал – $R^\bullet$
	Алкоксил радикал – $RO^\bullet$
	Пероксил радикал - ROO•
Реактивне врсте сумпора - RSS	Тиол радикал – $RS^\bullet$
	Глутатион радикал – $GS^\bullet$
	Диглутатион-дисулфид анјон радикал – $GSSG^{\bullet-}$

Слободни радикали настају ендогено у процесу ћелијског дисања, инфламаторног одговора или у току реакција у митохондријама на цитохрому П450. Највећа количина ендогено створених слободних радикала је у митохондријама. Егзогено узрочници су фактори животне средине: загађеност ваздуха, изложеност радијацији, индустријска загађења. И негативне животне навике као што су пушење, прекомерно излагање сунцу, доприносе повећаном генерисању слободних радикала.

У физиолошким условима ROS имају важну улогу у међућелијској сигнализацији, активацији ензима, у метаболичким и детоксикационим процесима, инфламаторним реакцијама, хомеостази калцијума, регулацији транскрипције и апоптозе (170).

У процесу стварања ROS описују се три три фазе. Фаза иницијације, пропагације и терминације. У фази иницијације, слободни радикали добијају или губе електрон од суседних молекула. У фази пропагације настала промена се преноси на околне структуре. Терминација подразумева прекид активности слободних радикала под дејством антиоксидативне заштите.

У здравим ћелијама оксидација и стварање ROS се дешавају контролисаном брзином и повећана количина прооксиданаса се неутралише системом антиоксидационе заштите. У условима стреса или патолошким стањима, као што је сепса, производња ROS је повећана и капацитет антиоксидационе заштите није у могућности да елиминише створене прооксидансе.

Повећано стварање слободних радикала које није праћено адекватним нивоом антиоксидационе заштите која неутралише штетне ефекте прооксиданаса, представља стање оксидационог стреса. Оксидациони стрес узрокује пероксидацију липида и протеина и деаминацију ДНК база, нарушава се способност митохондрија да синтетишу АТП, што води оштећењу основних функција ћелије и организма (171, 172).

Слободни радикали делују негативно на све биолошке молекуле у својој околини узрокују оштећења аминокиселина, липида, нуклеинских киселина. Током последњих деценија доказано је да су у основи многих незаразних болести, кардиоваскуларних, неуродегенеративних, аутоимуних, малигних, управо негативни ефекти оксидационог стреса. Оксидационим оштећењем сулфхидрилних група настају оштећења протеина у структурном и функционалном погледу. Процес липидне пероксидације оштећује мембранске структуре. Оксидационим процесима на структури ДНК настају оштећења на нивоу гена ометајући процес транскрипције (96).

Стварање ROS и RNS може се одвијти у ензимским и неензимским реакцијама. Ензимске реакције које генеришу слободне радикале су укључене у респираторни ланац митохондрија, фагоцитозу, синтезу простагландина и систем цитохрома П450.

Супероксид анјон радикал ($O_2^{\bullet-}$) настаје у процесу ћелијског дисања реакцијом NADPH оксидазе, ксантин оксидазе, пероксидаза. $O_2^{\bullet-}$ сам није јак оксиданс. Полуживот му је кратак и налази се у ниској концентрацији у ткивима. Претеча је већине других ROS учествујући у ширењу оксидационих ланчаних реакција. Поред тога у реакцији уз присуство прелазних метала реагује са H_2O_2, формирајући хидроксил-радикал.

Водоник пероксид (H_2O_2) настаје у пероксизомима у реакцији дисмутације, али може настати и непотпуном редукцијом молекулског кисеоника са два електрона и два протона. Такође, највећи део продукованог $O_2^{\bullet-}$ се конвертује у H_2O_2 под дејством ензима супероксид дисмузазе. Реагује са метионинским и сулфхидрилним групама на протеинима и иницира процес липидне пероксидације (173).

Значај праћења $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 и NO огледа се у чињеници да ови слободни радикали имају значајну улогу у настанку других, изузетно реактивних и токсичних слободних радикала.

Хидроксил радикал (OH•) је веома реактиван и токсичан слободни радикал у организму и ступа у реакцију са свим биолошким молекулима. Настаје када повећане количине H_2O_2 реагују са $O_2^{\bullet-}$ у присуству Fe^{2+} или Cu^{2+}, као катализатора реакције. Ова реакција је позната као *Haber–Weiss*-ова реакција (174).

Хипохлорну киселину (HOCl) производи ензим неутрофила, мијелопероксидаза, који оксидује хлоридне јоне у присуству H_2O_2.

Пероксинитрит ($OONO^-$) настаје реакцијом $O_2^{\bullet-}$ са NO. Веома је токсичан оксиданс, са израженим негативним ефектом на удаљена ткива. Ступа у реакцију са сулфхидрилним и метионинским групама протеина, оштећује ДНК, учествује у процесу оксидације ЛДЛ (175-177).

Азот моноксид радикал (NO•) настаје у биолошким ткивима, оксидацијом Л-аргинина до цитрулина, дејством азот моноксид синтетазе (енгл. *Nitric Oxide Synthases; NOS*). Биолошки је веома активан и учествује у низу реакција као сигнални молекул, инхибира тромбоците, утиче на ангиогенезу, учествује у метаболизму калцијума у попречнопругастим мишићима. Утиче на репарацију ткива, имунски систем, метаболизам глукозе и др. У условима инфламације или исхемије ткива под дејством индуцибилне NOS, повећава се продукција NO• (178-180).

1.13.2. Антиоксидациона заштита

Људски организам је развио систем антиоксидационе заштите у циљу превенције ефеката прооксиданаса и заштите ћелија од оксидационог оштећења. Антиоксидативне супстанце су се развиле у аеробним организмима да би у физиолошким условима заштитили биолошке молекуле од штетног дејства ROS и RNS.

Термин антиоксиданс се може дефинисати као било која супстанца која може спречити, смањити или поправити оштећење настало штетним утицајем оксидационог стреса, услед повећане концентрације прооксиданаса. Циљни молекули подразумевају протеине, липиде и нуклеинске киселине (181, 182).

Постоје три главна начина деловања антиоксиданаса:

1. Антиоксиданси који директно уклањају већ формиране слободне радикале
2. Антиоксиданси који спречавају стварање слободних радикала

3. Антиоксиданси који уклањају или поправљају оштећења или промене изазване слободним радикалима (183, 184).

Антиоксиданаси се могу поделити на неколико начина. Према месту деловања деле се на интраћелијске, екстраћелијске и мембранске. Место на ком се испољава деловање је одређено да ли су молекули растворљиви у води или не. Поред тога, антиоксидациони систем заштите се са састоји из 3 нивоа:

1) *Примарни*: чине га ензими који разграђују слободне радикале: каталаза (CAT), супероксид дисмутаза (SOD), глутатион-пероксидаза (GPx), глутатион редуктаза (GR) и неензимске компоненте као што су глутатион (GSH), аскорбинска киселина, β-каротен, α-токоферол (167, 185, 186);
2) *Секундарни*: обухвата специфичне оксидоредуктазе као што су тиолне-трансферазе, протеин-АДП-рибозилтрансферазе, АТР и Ca_2^+ независне трансферазе, пигменте (као што је мелатонин) и неке стабилне липидне молекуле (ЛДЛ) (167);
3) *Терцијарни*: обухвата протеине који везују прелазне метале (церулоплазмин који везује бакар као и апоферитин који везује гвожђе) (167, 185).

Антиоксидациона заштита се дели и у две целине: ензимски и неензимски антиоксидациони систем. Ензимска антиоксидациона заштита је лоцирана првенствено на местима настанка слободних радикала унутар ћелије, у митохондријама и екстарћелијском простору.

Супероксид дизмутаза (SOD) представља прву линију одбране у биолошким системима и катализује реакцију $O_2^{\bullet-}$ до H_2O_2. Локализована је у митохондијама, у ћелији и изван ње. Има три изоформе које се разликују према кофакторима: гвожђе-супероксид-дисмутаза (Fe-SOD), манган-супероксид-дисмутаза (Mn-SOD) и бакар-цинк-супероксид-дисмутаза (CuZn-SOD) ка и екстрацелуларна супероксид-дисмутаза (EC-SOD). Mn-SOD има улогу у инфламаторном одговору у сепси штитећи липополисахариде од ROS.

Глутатион пероксидаза (GSH-Px) локализована је у митохондријама и цитосолу. Има улогу у потпуној неутрализацији H_2O_2 до H_2O и O_2, када настаје оксидовани глутатион. Такође редукује и хидропероксиде масних киселина штитећи их од ROS. Ензим глутатион редуктаза у присуству NADPH одржава у ћелији резерве редукованог глутатиона у високим количинама. N-ацетилцистеин је хидрофилни антиоксидан који повећава ниво глутатиона.

Каталаза (CAT) је интацелуларни ензим који се налази у пероксизомима. У еритроцитима се налази у цитосолу. Потпуно редукује H_2O_2 до H_2O и O_2. Делимичним редуковањем H_2O_2 настаје јако токсичан хидроксил радикал $OH^{\bullet}$. У реакцији са азот-моноксидом настаје пероксинитрит $OONO^-$ (187, 188).

Неензимски антиоксидациони систем чине антиоксидансе који су растворљиви у води и растворљиви у липидима.

Липосолубилни су, α-токоферол (витамин Е), β-каротен (витамин А), коензим-Q, билирубин. Због своје липосолубилности лоцирани су на ћелијској мембрани. Улога им је у инхибицији липидне пероксидације и стабилизацији ћелијске мембране. Коензим Q има улогу и у процесу регенерације витамина Е и Ц.

Хидросолубилни су аскорбинска киселина (витамин Ц), глутатион, церулоплазмин, трансферин и мокраћна киселин. Витамин Ц неутралише инфламаторне факторе оксидационог стреса, редукује оксидоване форме глутатиона, α-токоферола и

β-каротена. При високим концентрацијама витамин Ц у присуству Fe и Cu може имати нефротоксично и прооксидантно дејство (189). Металопротеини и транспортни протеини трансферин, феритин, албумин и церулоплазмин делују тако што спречавају јоне Fe^{2+} и Cu^{2+} да учествују у продукцији ROS. Аскорбинска киселина је ко-фактор за синтезу допамина, норепинефрина и серотонина (190, 191). Мокраћна киселина везује прелазне метале и редукује интермедијерне слободне радикале. Представља моћан механизам за уклањање слободних радикала у плазми (192, 193).

1.14. Улога оксидационог стреса у сепси

Клинички и експериментални докази показују да септични пацијенти имају повећан оксидациони стрес (194, 195). Механизми оксидационог стреса у сепси су веома сложени. ROS и RNS играју кључну улогу у развоју сепсе, али њихова специфична улога и значај остају нејасни. Ипак, хиперпермеабилност, хипотензија индукована смањеним васкуларним тонусом и неадекватан процес ћелијског дисања су кључни елементи за мултиорганску инсуфицијенцију, а тиме и смртност код септичних пацијената (196).

Реакција производње реактивних кисеоничних врста праћена је повећаном регулацијом различитих ензима као што су NADPH оксидаза, NO синтаза као и ксантин оксидаза. Након тога, комплекс NADPH оксидазе катализира редукцију кисеоника до супероксид анјон радикала. Уколико концентрација $O_2^{\bullet-}$ није неутралисана супероксид дисмутазом, она последично доводи до смртоносне комбинације са азот-моноксидом, синтезе токсичног пероксинитрита (197).

Урођени имунски систем процесом фагоцитозе неутралише патогене микроорганизме. Активирани фагоцити, неутрофили и макрофаги, након ингестије микроорганизама у формираним фаголизозомима луче ензим супероксид-синтетазу која преноси електроне са NADPH оксидазе на кисеоник изазивајући његову редукцију и настанак $O_2^{\bullet-}$. Истовремено се одвија и респираторни прасак и додатно ослобађање ROS. Као што је раније речено, након активирања неутрофилне NADPH оксидазе, одвија се реакција у којој NADPH оксидаза катализује производњу $O_2^{\bullet-}$ и H_2O_2. Затим се одвија и реакција дисмутације са $O_2^{\bullet-}$ да би се добио пероксид. H_2O_2 и $O_2^{\bullet-}$ могу да генерише додатне реактивне врсте кисеоника (ROS) као нпр. хидроксил радикал (OH·), синглет кисеоник ($^1O_2$), озон (O_3). Супероксид може да реагује или са хипохлорном киселином (HOCl) или са азотним оксидом (NO·) (198).

Индуцибилна азот-моноксид синтаза учествује у катализацији аргинина у азот-моноксид који је сам токсичан за микроорганизме. Вазодилатација узрокована азот моноксидом у зони инфламације као и дијапедеза неутрофила преко појачано пермеабилног васкуларног зида у инфламаторни фокус доприносе микробицидном ефекту. Активиране ендотелне ћелије са експримираним рецепторима на површини учествују у имуном одговору (199).

Мијелопероксидаза је хемопротеин који се налази у гранулама полиморфонуклеарних гранулоцита и ослобађа се након контакта са патогеном. Продукцијом ROS и халогенирајућих агенаса учествује у кисеоник-зависном микробицидном дејству (200).

Фокус у разумевању сепсе је донедавно био усмерен на макроциркулаторно затајење попут смањеног средњег артеријског притиска и смањеног срчаног минутног волумена. Сматрало се да оксидативно оштећење митохондрија може повећати тенденцију митохондрија ка процесу програмиране ћелијске смрти, апоптози. Имунохистохемијске анализе откриле су да апоптоза није широко распрострањена у

сепси, сугеришући да су други механизми, осим ћелијске смрти, одговорни за смртност повезану сасепсом (196).

Све већи број доказа указује да неспособност ћелије да користи расположиви кисеоник може играти пресудну улогу у патогенези сепсе. Митохондрије играју кључну улогу у редокс-регулацији. Митохондрије су истовремено извор и мета оксиданаса (201-203).

Измењена функција митохондрија игра улогу у вишеструкој органској дисфункцији код септичних пацијената. Експериментални докази указују да сепса може ометати функцију митохондрија на више начина. До данас су предложена најмање три могућа објашњења дисфункције митохондријалног респираторног система повезаног са сепсом и последично поремећене производње енергије:

1. Митохондријална дисфункција узрокована је ткивном хипоксијом због измењене перфузије ткива.
2. Митохондрије смањено искоришћавају кисеоник и поред адекватне концентрације кисеоника у крви „цитопатска хипоксија“.
3. Митохондрије смањују интезитет ћелијског дисања које представља стратегију преживљавања ћелије у неповољним условима, налик на хибернацију (204, 205).

Снажна фагоцитна активност и повећана производња ROS је механизам којим тело покушава да контролише инфекцију. Ако предузете терапијске мере буду успешне успоставиће се хомеостаза и наступиће опоравак. У супротном, појачаће се дисфункција и оксидациони стрес у организму. Антиоксиданси као помоћна терапија, са циљем смањења оштећења узрокованих ROS, примењује се већ дуг низ година са мање-више променљивим резултатима.

ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

2. ЦИЉ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА

На основу претходно изнетих података, постављени су следећи циљеви овог истраживања:

Код оперисаних и неоперисаних пацијената са дијагнозом сепсе/септичног шока, лечених у јединици интензивног лечења:

I. Утврдити учесталост улазног места инфекције у групи оперисаних и неоперисаних са различитом тежином септичког стања

II. Утврдити дистрибуцију коморбидитета у студијској популацији у односу на претходну хируршку интервенцију и тежину септичног стања.

III. Утврдити да ли постоји корелација између вредности *SOFA* скора и праметара оксидационог стреса (прооксиданаса/антиоксиданаса)

IV. Испитати степен повезаности нивоа прокалцитонина и параметара оксидационог стреса:
   a. Корелацију између нивоа прооксиданаса и нивоа прокалцитонина,
   b. Корелацију између нивоа антиоксиданаса и нивоа прокалцитонина;

V. Испитати степен повезаности нивоа Ц-реактивног протеина и параметара оксидационог стреса:
   a. Корелацију између нивоа прооксиданаса и нивоа Ц-реактивног протеина,
   b. Корелацију између нивоа антиоксиданаса и нивоа Ц-реактивног протеина;

VI. Испитати корелацију параметара оксидационог стреса (прооксиданси/ антиоксиданси) и морталитета.

ХИПОТЕЗЕ

I. Очекује се да постоји позитивна корелација између нивоа прокалцитонина и бар једног од параметара из групе прооксиданаса.
II. Очекује се да постоји позитивна корелација између нивоа Ц-реактивног протеина и бар једног од параметара из групе прооксиданаса.
III. Очекује се да постоји негативна корелација између нивоа прокалцитонина и бар неког од антиоксиданаса.
IV. Очекује се да постоји негативна корелација између нивоа Ц-реактивног протеина и бар неког од антиоксиданаса.
V. Очекује се да постоји корелација између нивоа прокалцитонина, оксидационог стреса и тежине органске дисфункције (*SOFA* скор).
VI. Очекује се да постоји корелација између нивоа прокалцитонина, оксидационог стреса и морталитета.
VII. Очекује се да постоји корелација између нивоа прокалцитонина, оксидационог стреса и тежине органске дисфункције (*SOFA* скор).

VIII. Очекује се да постоји корелација између нивоа прокалцитонина, оксидационог стреса и морталитета.

МЕТОДОЛОГИЈА ИСТРАЖИВАЊА

3. **МЕТОДОЛОГИЈА ИСТРАЖИВАЊА**

3.1.**Дизајн истраживања**

Ово је лонгитудинална, проспективна, клиничка студија спроведена у Општој болници Ваљево. Обухватила је 103 критично оболела пацијената који су у периоду од децембра 2018. до децембра 2019. године боравили у јединици интензивног лечења Опште болнице Ваљево.

Испитаници су били подељени у две групе:

1. Пацијенти који су оперисани/који су били подвргнути хирушком захвату пре узимања узорака (**n=49**):
   a. Пацијенти који имају сепсу (**n=24**)
   b. Пацијенти који имају септични шок (**n=25**)
2. Пацијенти који нису оперисани пре узимања узорака (**n=54**):
   a. Пацијенти који имају сепсу (**n=26**)
   b. Пацијенти који имају септични шок (**n=28**)

Сви учесници истраживања су пре укључења у студију потписали писмени пристанак. У случају да због општег стања пацијента није било могуће добити пристанак, исти је добијен од најближег сродника. Истраживање је одобрено од стране Етичког одбора Опште болнице Ваљево и студија је спроведена пре према принципима Добре клиничке праксе и принципима Хелсиншке декларације.

3.2.**Студијска популација**

У студију су били укључени следећи испитаници:

- пацијенти старији од 18 година
- пацијенти којима је дијагностикована сепса или септични шок
- пацијенти од којих је добијена писана сагласност за учествовање у истраживању. У случају да због општег стања пацијента није било могуће узети пристанак, исти је добијен од најближег сродника.

И искључени:

- пацијенти млађи од 18 година
- труднице
- пацијенти на имуносупресивној терапији
- пацијенти са трансплантираним органима
- пацијенти у терминалној фази малигних болести.

3.3.**Протокол истраживања**

Након потврде присутва односно одсуства свих укључујућих/искључујућих критеријума, забележени су потребни демографски и анамнестички подаци о сваком учеснику истраживања. Том приликом, забележени су подаци о старости и присутним коморбидитетима.

3.3.1. Скор за дијагностиковање и праћење тока болести – процена органске дисфункције изазване сепсом *(e.g. Sepsis-related Organ Failure Assessment Score -SOFA)*

Као дефиниција сепсе узимана је промена SOFA скора >2.

Септични шок је дефинисан као сепса где је неопходно применити вазопресоре да би се одржавао средњи артеријски притисак (MAP) >65 mmHg уз ниво серумских лактата > 2 mmol/L.

SOFA скор израчунат је *on line* помоћу калкулатора за на сајту *MDCalc* или *SFAR (franc. Société Française d'Anesthésie et de Réanimation).*

Пацијенти су укључени у студију када се потврди да имају сепсу на дан када испуњавају *SEPSIS -3* критеријум за сепсу (повећање ≥2 SOFA скора). Тог дана су узети узорци крви у првом тренутку мерења.

Овим скором процењује се функција 6 органских система: респираторног система, система коагулације, функција јетре, уринарног система, ЦНС-а, хемодинамски параметри. Системи се бодују од 1-4 (0 је физиолошко стање) укупан скор може имати од 6-24 бода. У табели 5 приказани су параметри који се прате и начин бодовања SOFA скора. Позитивним се сматра повећање > 2 параметра (11).

Редовно понављање омогућава праћење тока болести и њихово боље разумевање. Оцена SOFA скора може омогућити поређење пацијената у реакцији на примењено лечење (206, 207). Евалуација *SOFA* скора добар је прогностички индикатор (посебно средња и највиша *SOFA* вредност). Независно од почетне вредности, повећање SOFA скора током првих 48 часова од пријема предвиђа стопу морталитета од најмање 50% (208, 209).

Табела 5. SOFA скор – процена органске дисфункције изазване сепсом.

Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)					
Име/презиме/број историје_____ датум : _____/_____/_____					
SOFA скор					
	0	**1**	**2**	**3**	**4**
Респираторни систем PaO2/FiO2(mmHg)	>400	<400	<300	<200*	<100*
Коагулација Тромбоцити (x10³/mm³)	>150	<150	<100	<50	<20
Јетра Bilirubin (mg/dl) (mmol/L)	<1,2 <20	1,2-1,9 20-32	2,0-5,9 33-102	6,0-11,9 102-204	>12 >204
Кардиоваскуларни систем Хипотензија	без хипотензије	*MAP*<70	Допамин<5 или Добутамин (било која доза)+	Допамин>5 или Епи <0,1 или Норепи <0,1+	Допамин или Епи >0,1 или Норепи >0,1+
Централни нервни систем Глазгов кома скала	15	13-14	10-12	6-9	<6
Бубрег Креатинин (mg/dl) (μ mol/L) Дневна диуреза	<1.2 <110	1.2-1.9 110-170	2.0-3.4 171-299	3.5-4.9 300-440 Или <500ml/дан	>5 >440 < 200ml/дан

Епи- Епинефрин, Норепи- Норепинефрин * Вредности са респираторном подршком + Адренергички лек укључен у последњих 1h (дозе изражене у μg/kg/min)
За сваку вредност у SOFA табели: Проверите картон пацијента да ли постоји најлошија физиолошка вредност која је забечежена у протекла 24 сата Најлошија вредност је вредност која има највишу оцену према SOFA табели У табели потражите одговарајући износ бодова за ову вредност Додајте све бодове да бисте дошли до укупног SOFA скора
УКУПАН ЗБИР :

MAP – *Mean Artearial Blood Presure* – средњи артеријски притисак

3.3.2. Узорковање крви

Узорковање крви спроведено је у Општој болници Ваљево, у јединици интензивног лечења. Крв је узоркована након потврде присутва односно одсуства свих укључујућих/искључујућих критеријума.

Први узорци крви су узимана на дан када су испуњени услови за постављање дијагнозе сепсе. Болеснику се у истом акту узимане две епрувете крви. Једна епрувета крви за анализе параметара оксидационог стреса и друга епрувета за одређивање нивоа прокалцитонина (PCT).

Узорковање крви за мерење нивоа прокалцитонина узимани су првог дана, 24 сата након иницијалног узимања и 72 сата након првог узорка. Иста динамика узорковања примењивана је и за параметре оксидационог стреса.

Временски интервали за узорковање су одабрани због утицаја збуњујућих варијабли (започињање или прекид механичке вентилације, накнадне потребе sa увођењем вазопресора, потреба за променом антибиотика, потреба за хирушком интервенцијом).

Израчунавање *SOFA* скора се понављало свакодневно.

За узорковање крви коришћен је вакутајнер систем за узимање венске крви (*BD Vacutainer Blood Collection System*) и игла 21*G*.

3.1.Обрада узорка крви за одређивање параметара оксидационог стреса и параметара антиоксидационе заштите

Параметри оксидационог стреса и антиоксидационе заштите одређивани су спектрофотометријски из плазме и еритроцита. За узорковање крви коришћен је вакутајнер са цитратним пуфером (3,2% натријум-цитрат; 109 mmol/L). Након узорковања, крв је центрифугирана на 3000 rpm 10 минута, издвојена је плазма, након чега је спроведено испирање еритроцита на следећи начин. У односу 1:3 додаје се хладан физиолошки раствор и рецентрифугира под истим условима 3 пута. Након трећег пута, одстрани се супернатант, издвоји се 1ml еритроцита и дода 3ml хладне дестиловане воде. Тако одвојена плазма и еритроцити чувани су на температури од –20˚C до почетка извођења експеримената.

Тако одвојена плазма и еритроцити чували су се у служби трансфузиологије Опште болнице Ваљево, на температури од –20˚C до почетка извођења експеримената. Параметри оксидационог стреса и антиоксидационе заштите одређивани су у

Лабораторији за кардиоваскуларну физиологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу.

3.4.**Методе одређивања биохемијских параметара**

Приликом узорковања крви испитаницима је узета крв за извођење биохемијских анализа. Коришћен је вакутајнер који не садржи пуфер и игла 21*G*. Биохемијске анализе за све учеснике истраживања одређиване су у биохемијској лабораторији Опште болнице Ваљево, док је прокалцитонин одређиван у Лабораторији за микробиологију и паразитологију Опште болнице Ваљево. У табели су наведени сви одређивани биохемијски параметри (Табела 6).

Табела 6. Биохемијски параметри и методе одређивања.

Параметар	Метода и апарат за анализу
Ц-реактивни протеин (mg/L)	Турбидиметријска метода, Beckman Coulter AU680 analyzer
Креатинин (umol/L)	Модификована *Jaffe* метода, биохемијски анализатор Beckman Coulter AU680
Укупни билирубин (umol/L)	Модификација класичне диазо методе, биохемијски анализатор Beckman Coulter AU680
Директни билирубин (umol/L)	Варијанта класичне методе *Van den Bergh* и *Mueller*, биохемијски анализатор Beckman Coulter AU680
Прокалцитонин (ng/ml)	Флуоресцентни есеј повезан са ензимима *(Enzyme-Linked Fluorescent Assay – ELFA)* користећи *Vidas Brahms Pct* тест са опсегом детекције 0.05-200 ng/ml (*Biomerieux Sa France*)

3.5.**Методе одређивања хематолошких параметара**

Поред биохемијских параметара свим пацијентима одређиване су вредности хематолошких параметара, приказаних у табели 7. Коришћен је вакутајнер са ЕДТА пуфером и игла 21G. Хематолошке анализе за све учеснике истраживања одређиване су у хематолошкој лабораторији Опште болнице Ваљево. У табели су наведени сви одређивани хематолошки параметри (Табела 7).

Табела 7. Хематолошки параметри и методе одређивања.

Параметар	Метода и апарат за анализу
Леукоцити (10^9/L)	Бројање крвних ћелија је вршено на хематолошком бројачу Beckman Coulter LH780 који ради на принципу регистровања и мерења промена у електричном отпору који стварају крвне ћелије суспендоване у проводљивом раствору пролазећи кроз пукотину одређеног промера
Неутрофили (%)	Метода бројања ћелија и апарат за анализу исти као код леукоцита

Лимфоцити (%)	Метода бројања ћелија и апарат за анализу исти као код леукоцита
Еритроцити (10^{12}/L)	Метода бројања ћелија и апарат за анализу исти као код леукоцита
Тромбоцити (10^{9}/L)	Метода бројања ћелија и апарат за анализу исти као код леукоцита

3.6.**Методе одређивања параметара редокс статуса**

Параметри оксидационог стреса и параметри антиоксидационе заштите, одређивани су у Лабораторији за кардиоваскуларну физиологију Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу. Сви параметри од интереса за наше истраживање мерени су спектрофотометријски на апарату марке *Specord S-600 Analytik Jena*, Велика Британија.

Из узорака плазме одређивани су следећи параметри оксидационог стреса: индекс липидне пероксидације (TBARS), водоник-пероксид (H_2O_2), нитрити (NO_2^-) и супероксид анјон радикал (O_2^-). Концентрација TBARS је изражавана у μM а концентрација осталих параметара у nM због разлике у укупној количини TBARS, која је за један ранг величина већа од свих осталих параметара.

3.6.1. Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS)

Индекс липидне пероксидације одређиван је индиректном методом, а базирано на стварању реактивних продуката при реакцији са тиобарбитуратном киселином (енг. ***T**hiobarbituric **A**cid **R**eactive **S**ubstances*; **TBARS**) (210). Метода се заснива на одређивању нивоа липидних пероксида на основу реакције једног од њих, малонилдиалдехида (MDA) са тиобарбитурном киселином (TBA).

3.6.2. Одређивање водоник пероксида (H_2O_2)

Концентрација H_2O_2 се одређује након оксидације фенол црвеног коју у присуству H_2O_2 катализује ензим пероксидаза из рена (енгл. *Horse Radish Peroxidase HRPO*). Добијено једињење се спектофотометријски одређује на таласној дужини λ=610nm (211).

3.6.3. Одређивање супероксид анјон радикала (O_2^-)

Приликом одређивања концентрације O_2^- коришћена је особина O_2^- да се у реакцији са нитро тетразолијум плавим (енгл. ***N**itro **T**etrazolium **B**lue* – **NTB**) ствара нитроформазан плаво (212). Мерење се спроводило на таласној дужини максималне апсорпције λ_{max}=550nm.

3.6.4. Одређивање нитрита (NO_2^-)

Количина ослобођеног NO_2^- у плазми се процењује индиректном методом – одређивањем нитрита захваљујући чињеници да се NO у реакцији са кисеоником претвара у нитрит у еквимоларном односу (213). Одређивање нитрита је доступно за разлику од директног мерења NO.

3.7.Методе одређивања параметара антиоксидационог система заштите

Изоловани еритроцити за одређивање параметара антиоксидативне заштите је припремљен према *McCord* и *Fridovich* садржи око 50 g Hb/l (214). Из лизата крви су одређивани параметари антиоксидационог система заштите: каталаза (CAT), супероксид дисмутаза (SOD) и редуковани глутатион (GSH). Активност каталазе и супероксид дисмутазе изражена је у $U/gHbx10^3$, док је ниво глутатион редуктазе изражен као nmol/ml RBCs.

3.7.1. Одређивање каталазе (CAT)

У лизату крви одређивана је концентрација каталазе према *Beutler*-овој методи (215). Метода се заснива на спектрофотометријском праћењу брзине разградње водоник-пероксида у присуству каталазе на таласној дужини од 230 nm при којој H_2O_2 апсорбује светлост.

Концентрација водоник пероксида израчунава се на основу екстинкционог коефицијента, који је за H2O2, на 230 nm, 0,071, по формули:

$$\mathbf{C = \Delta A/0{,}071}$$

Након тога, добијена концентрација се разблажује до 10 mM.

3.7.2. Супероксид дисмутаза (SOD)

Одређивање активности супероксид дисмутазе засновано је на епинефринској методи (216). Мерење се спроводи спектрофотометријски на таласној дужини од 480nm, на којој се детектује брзина аутооксидације. Ова метода припада методи ”негативног” типа јер прати смањење брзине аутооксидације у алкалној средини које зависи од супероксид анјон радикала. Као слепа проба уместо лизата крви коришћена је дестилована вода.

3.7.3. Одређивање редукованог глутатиона (GSH)

Метода одређивања редукованог глутатиона заснива се на реакцији оксидације глутатиона са 5,5-дитиобис-6,2-нитробензоичном киселином, методом по *Beutler*-у (218). Ниво редукованог глутатиона одређиван је спектрофотометријски на таласној дужини од 420 nm. Као слепа проба уместо лизата крви коришћена је дестилована вода.

3.8.Праћење клиничких карактеристика и исхода

Континуираним монитирингом праћени су сви пацијенти који су учествовали у студији. Бележене су вредности PaO_2/FiO_2, средњег артеријског притиска и Глазгов кома

скала, у циљу одређивања SOFA скора. Поред тога, праћена је и диуреза, односно дневно излучивање урина.

Морталитет је праћен током трајања истраживања. Праћена је смртност код пацијената са дијагностикованом сепсом/септичним шоком. Поред тога, забележено је укупно трајање хоспитализације као и трајање хоспитализације у јединици интезивног лечења.

3.9.**Статистичка обрада података**

Статистичка обрада експерименталних података је спроведена на следећи начин:

1) За опис параметара од значаја, у зависности од њихове природе, користила се: фреквенција, проценти, узорачка средња вредност, узорачка медијана, узорачка стандардна девијација, ранг и 95% интервали поверења.
2) За испитивање нормалности расподеле употребљени су тестови *Kolmogorov Smirnov* и *Shapiro Wilk*, и графици: хистограм и *normal QQ plot*.
3) За тестирање разлика између параметара користио се Студентов т-тест, *Mann-Whitney* тест, Фишеров тест апсолутне вероватноће, једнофакторска или двофакторска анализа варијансе (ANOVA). Приликом тестирања разлика између параметара, употребавао се непараметријски аналог једнофакторске анализе варијансе, *Kruskal-Wallis* H тест, са нивоом значајности од 0,05.
4) За тестирање повезаности између континуалних варијабли са другим испитиваним параметрима, коришћен је непараметријски статистички тест корелације, *Pearson* коефицијент корелације, на основу којег је дефинисан смер и јачина повезаности.
5) Статистичка обрада података је рађена у статистичком пакету SPSS 20.0 *for Windows* (*IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.*).
6) Вредности $p<0,05$ сматрале су се значајне, док су вредности $p<0,01$ сматране високо значајним.

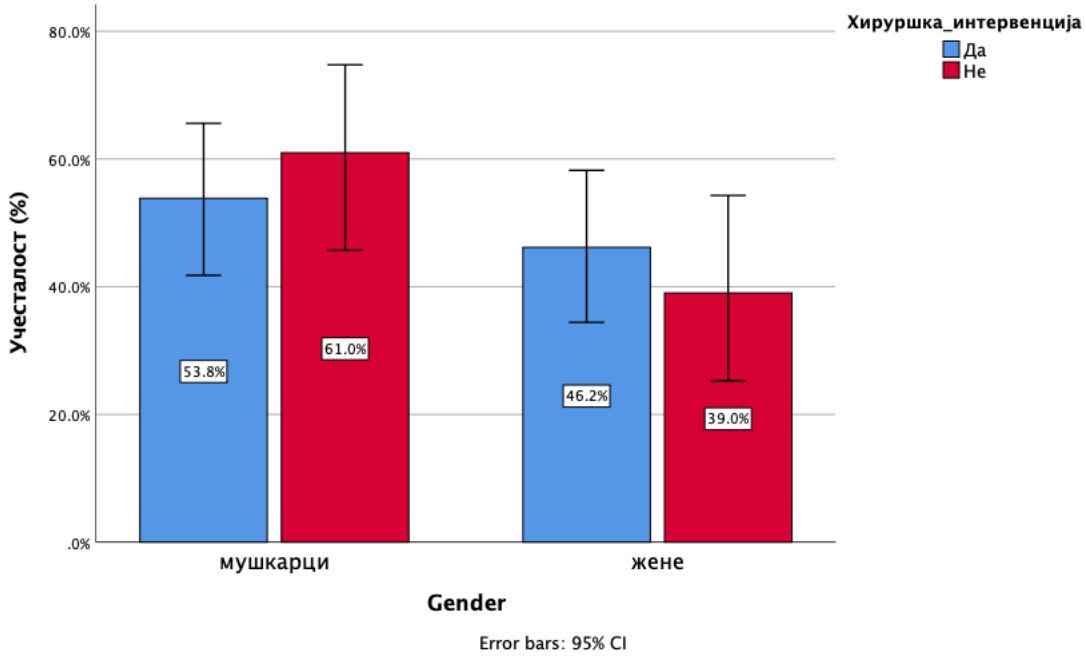
РЕЗУЛТАТИ

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1.ОСНОВНЕ ДЕМОГРАФСКЕ И АНАМНЕСТИЧКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ СТУДИЈСКЕ ПОПУЛАЦИЈЕ

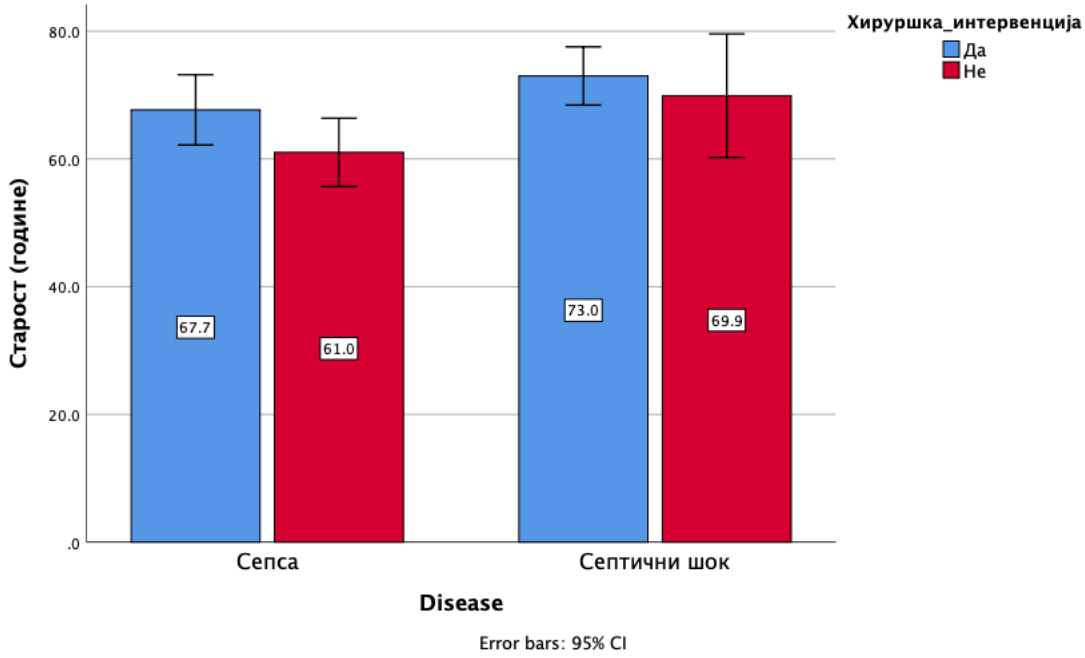
На Графикону 1 је приказана учесталост испитаника у односу на пол и групу пацијената. Највећу заступљеност имале су особе мушког пола који нису оперисани а најмању жене које нису оперисане (Графикон 1).

Графикон бр. 1 Учесталост испитаника у односу на пол и претходне хируршке интервенције. Резултати су приказани као учесталост у процентима у односу на укупну студијску популацију



На Графикону 2 је приказана старост испитаника у односу на групу пацијената. Просечна старост испитаника који нису били оперисани је била виша у односу на оперисане, а такође је примећено да особе које су имале тежу форму болести (септични шок) су биле старије од испитаника код којих се развила сепса (Графикон 2).

Графикон бр. 2 Просечна старост испитаника у односу на тежину болести (сепса/септични шок) и претходне хируршке интервенције. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.

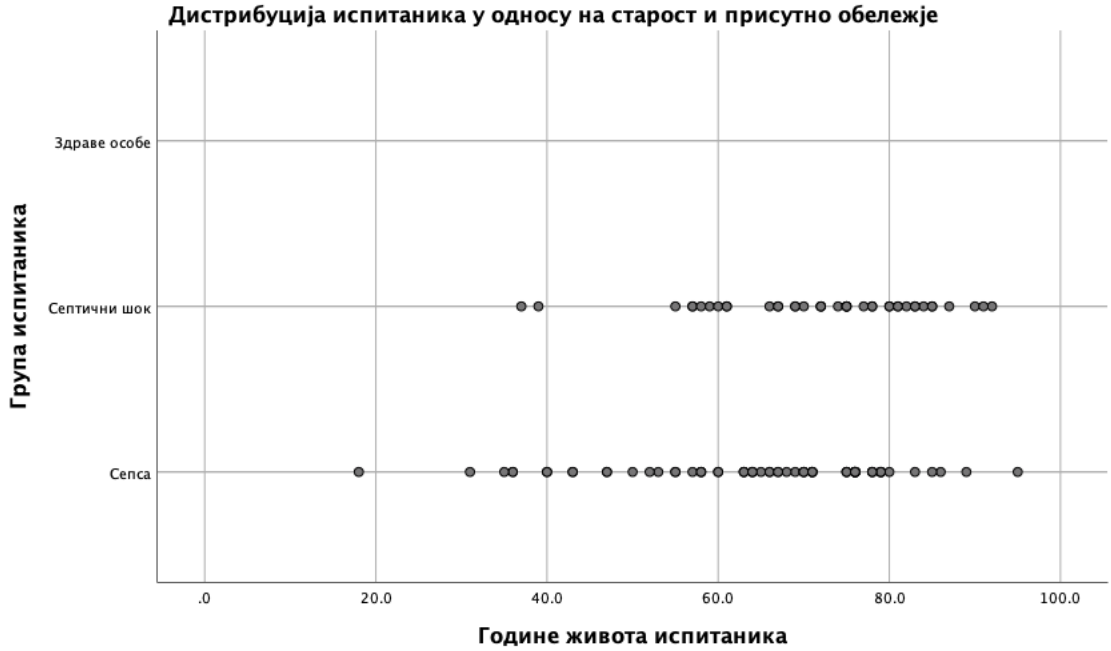


Табела 8. Дистрибуција испитаника у односу на пол и старост као и у односу на форму болести и присуство хируршке интервенције. Резултати су приказани као учесталост у процентима (%) и као средња вредност ± средња стандардна грешка.

Параметар	Здрави (n=17)	Сепса+Оперисани (n=24)	Септични шок+Оперисани (n=25)	Сепса (n=26)	Септични шок (n=28)
Пол (м/ж)	м 10 (58.8%) ж 7 (41.2%)	м 11 (45.8%) ж 13 (54.2%)	м 13 (52.0%) ж 12 (48.0%)	м 14 (53.8%) ж 12 (46.2%)	м 15 (53.6%) ж 13 (46.4%)
Старост (године)	56.02±1.02	62.02±2.34	59.32±1.98	65.87±3.32	68.05±3.55

На Графикону 3 је приказана Дистрибуција испитаника у односу на старост и присутно стање (сепса, септични шок или здраве особе). Старији пацијенти су били више заступљени у групи испитаника са септичним шоком у односу на групу са сепсом (Графикон 3).

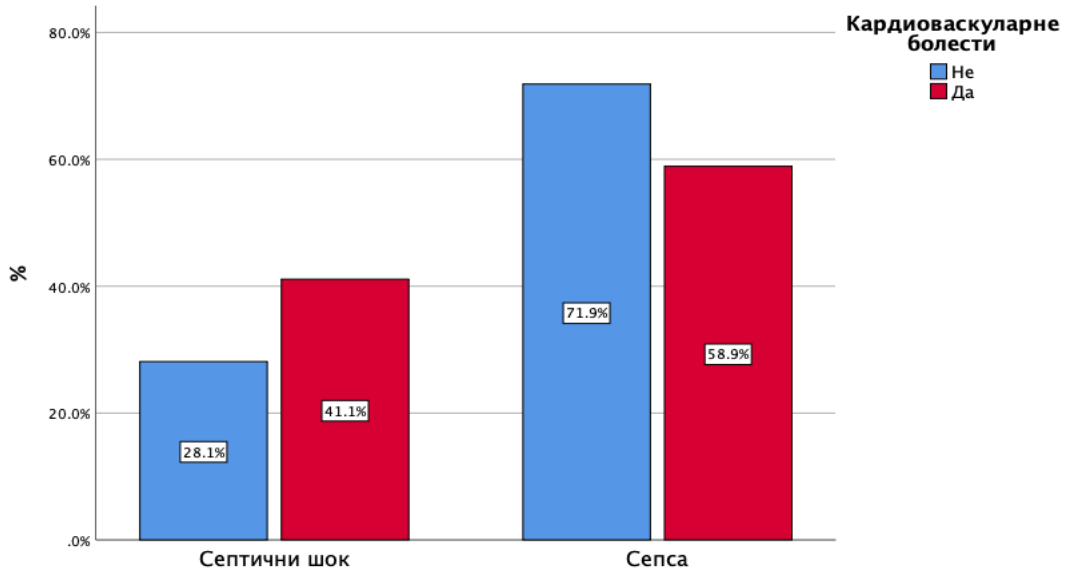
Графикон бр. 3 Дистрибуција испитаника у односу на старост и присутно стање (сепса, септични шок или здраве особе). Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



4.2.**КОМОРБИДИТЕТИ У СТУДИЈСКОЈ ПОПУЛАЦИЈИ**

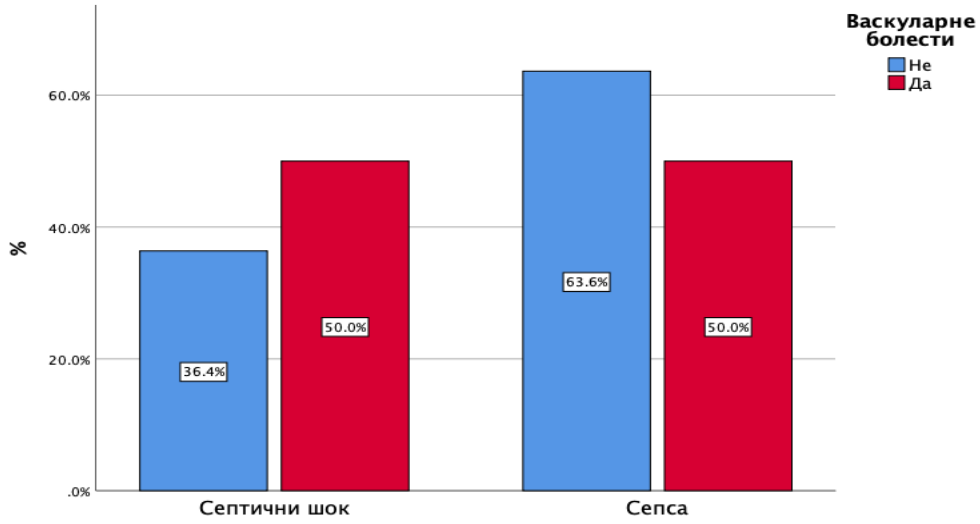
На Графикону 4 је приказана дистрибуција испитаника у односу присутно кардиоваскуларно обележје. У групи септичних пацијената је било најзаступљеније кардиоваскуларно обољење (58,9%) а најмање у групи испитаника са септичним шоком (41,1%) (Графикон 4). Најчешће се појављује дијагноза артеријске хипертензије, затим поремећаја срцаног ритма и стања коронарне болести.

Графикон бр. 4 Дистрибуција испитаника у односу присуство кардиоваскуларних болести. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



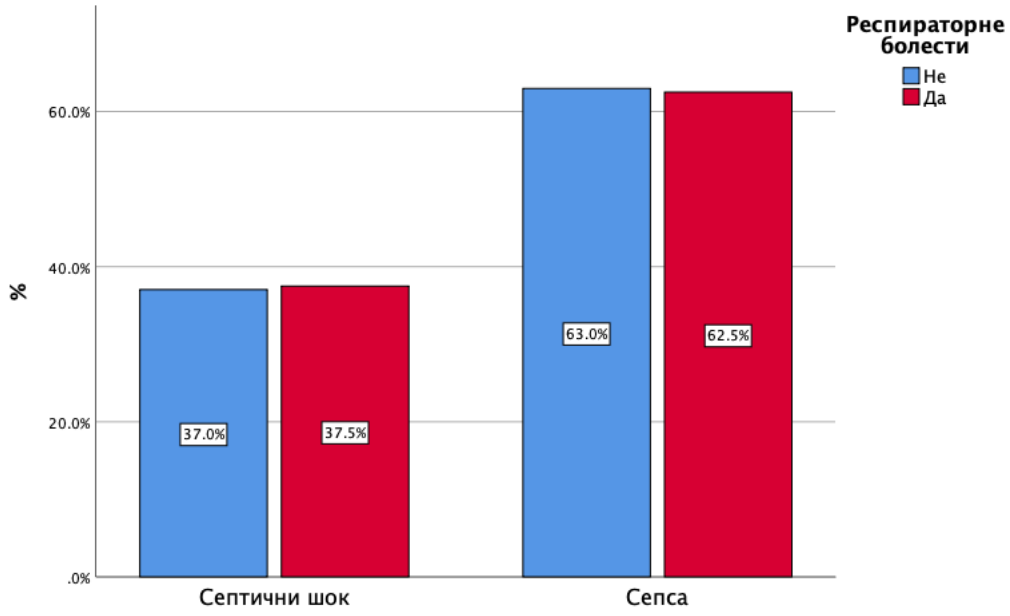
На Графикону 5 је приказана дистрибуција испитаника у односу присутно васкуларног обољења. У групи септичних пацијената је било подједнако заступљено васкуларно обољење као у групи пацијената са септичним шоком (50,0%) (Графикон 5). Највише су били заступљени пацијенти са стањем након прележаног можданог удара и са атеросклеротским променама периферне циркулације.

Графикон бр. 5 Дистрибуција испитаника у односу присуство васкуларних болести. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



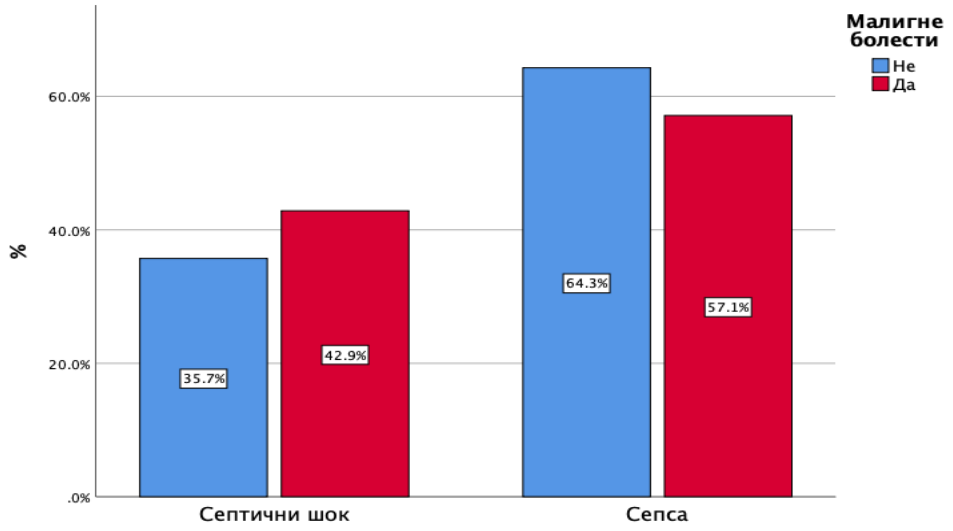
На Графикону 6 је приказана дистрибуција испитаника у односу присутно респираторног обољења. Хронична опструктивна болест плућа је била најзаступљенија као и промене у склопу срчане декомпензације. У групи септичних пацијената је било подједнако заступљено респираторно обољење као у групи пацијената са септичним шоком (50,0%) (Графикон 6).

Графикон бр. 6 Дистрибуција испитаника у односу присуство респираторних болести. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



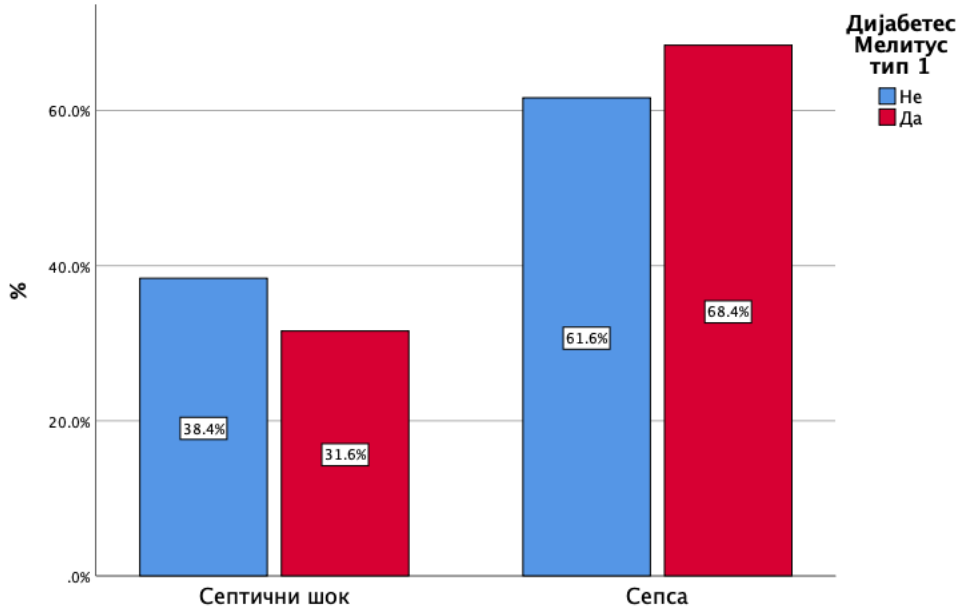
На Графикону 7 је приказана дистрибуција испитаника у односу присутно малигног обољења у периоду пре актуелне хоспитализације. У групи септичних пацијената је малигно обољење је било заступљено код 57,1% а у групи пацијената са септичним шоком 42,9% (Графикон 7).

Графикон бр. 7 Дистрибуција испитаника у односу присуство малигне болести. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



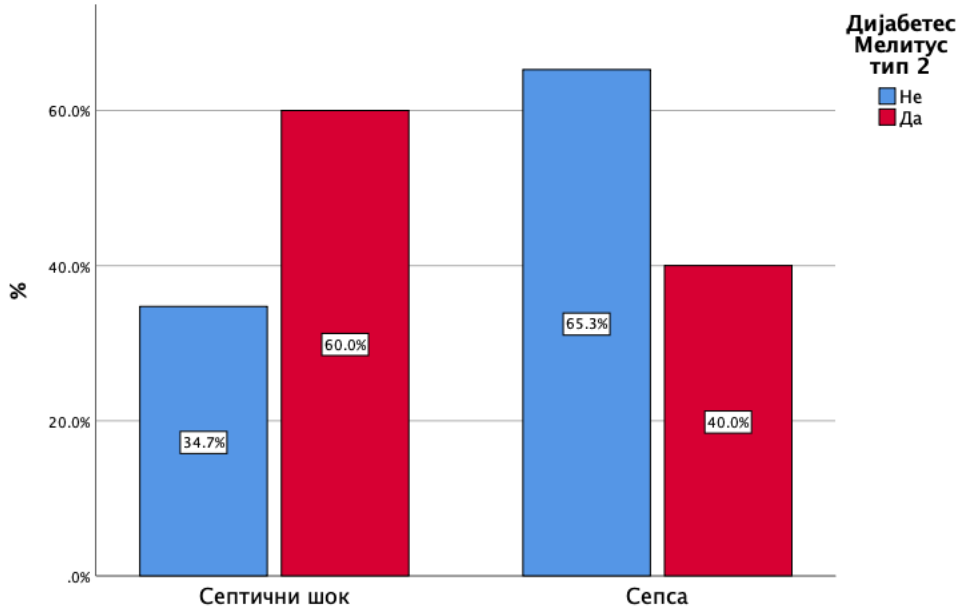
На Графикону 8 је приказана дистрибуција испитаника у односу присутан инсулин зависан облик дијабетес мелитуса. У групи септичних пацијената је ово обољење је било заступљено код 68,4% а у групи пацијената са септичним шоком 31,6% (Графикон 8).

Графикон бр. 8 Дистрибуција испитаника у односу присуство ДМ1. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



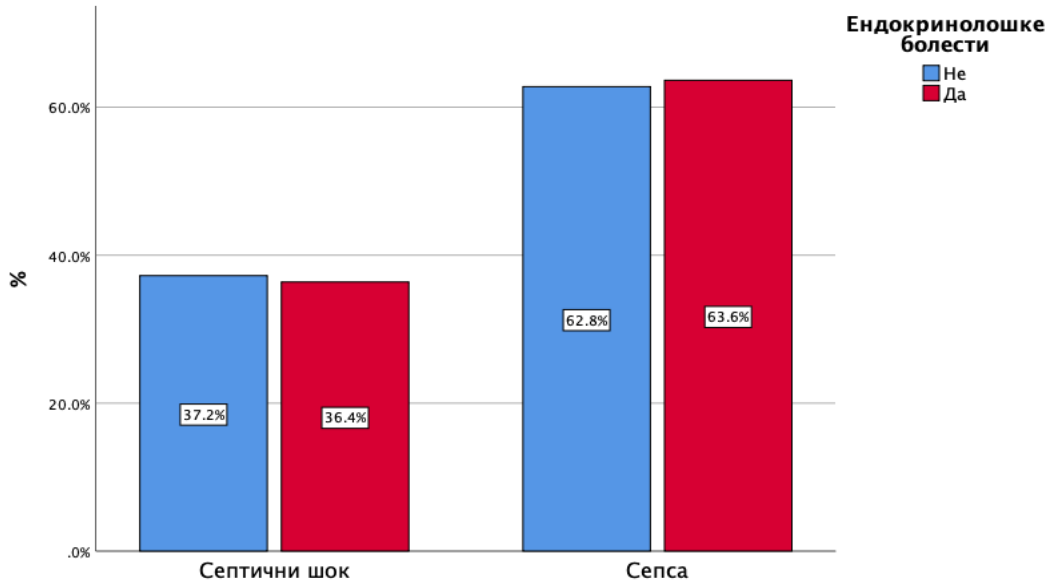
На Графикону 9 је приказана дистрибуција испитаника у односу присутност инсулин независног дијабетес мелитуса, тип 2. У групи септичних пацијената је ово обољење је било заступљено код 40,0% а у групи пацијената са септичним шоком 60,0% (Графикон 9).

Графикон бр. 9 Дистрибуција испитаника у односу присуство ДМ2. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



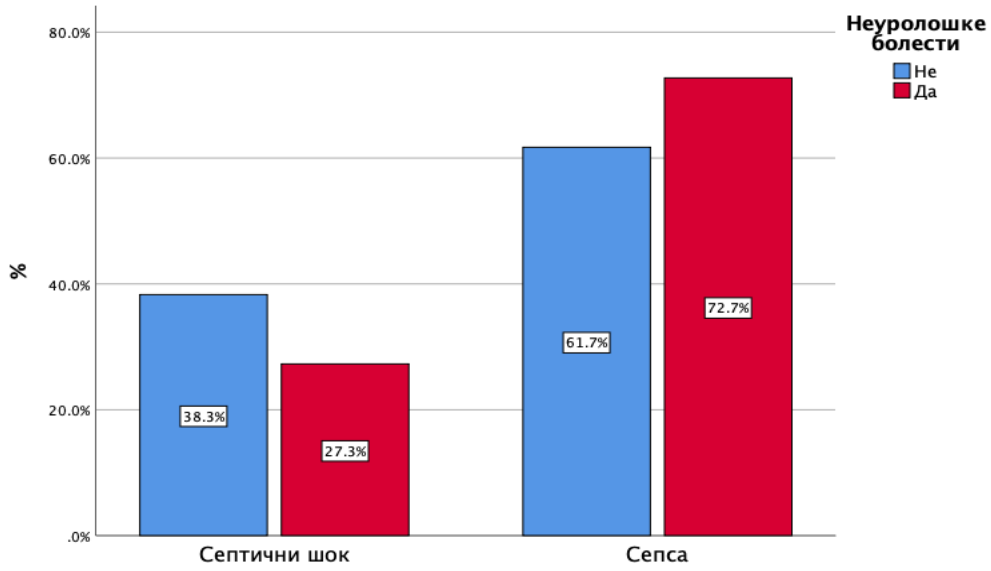
На Графикону 9 је приказана дистрибуција испитаника у односу на присуство свих ендокринолошких болести.Најчешће заступљена су била обољења штитасте жлезде у правцу смањене функције, и урођена обољења хипофизе. У групи септичних пацијената је ово обољење је било заступљено код 63,6% а у групи пацијената са септичним шоком 36,4% (Графикон 9).

Графикон бр. 9 Дистрибуција испитаника у односу присуство ендокринолошких поремећаја. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



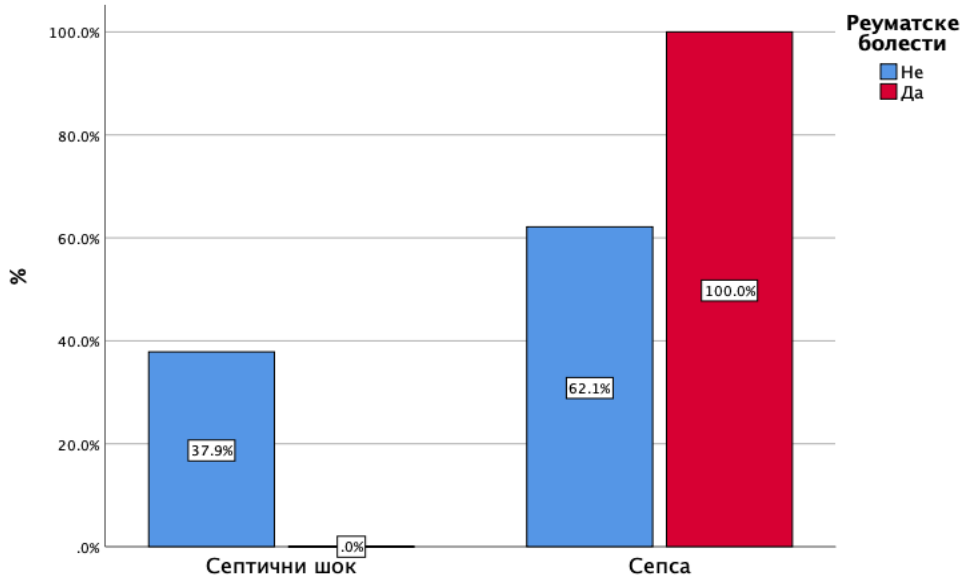
На Графикону 10 је приказана дистрибуција испитаника у односу на присуство свих неуролошких болести. Најчешће је била заступљена Паркинсонова болест. У групи септичних пацијената је ово обољење је било заступљено код 72,7% а у групи пацијената са септичним шоком 27,3% (Графикон 10).

Графикон бр. 10 Дистрибуција испитаника у односу присуство неуролошких поремећаја. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



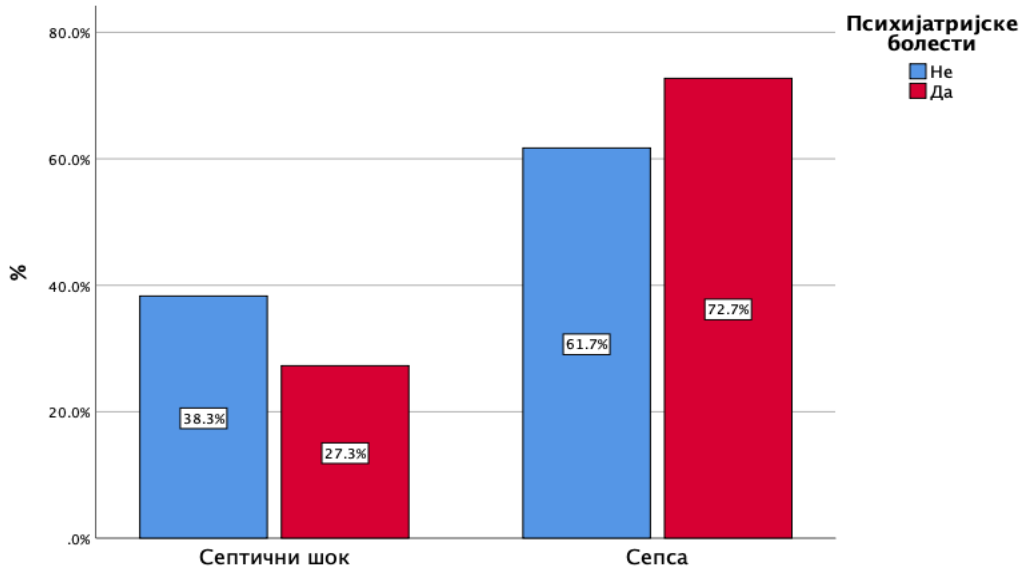
На Графикону 11 је приказана дистрибуција испитаника у односу на присуство реуматских болести. Најчешће су била заступљена хронична инфламаторна обољења зглобова, и повреде. У групи септичних пацијената је ово обољење је било заступљено код 100% а у групи пацијената са септичним шоком их није било (Графикон 11).

Графикон бр. 11 Дистрибуција испитаника у односу присуство реуматских болести. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



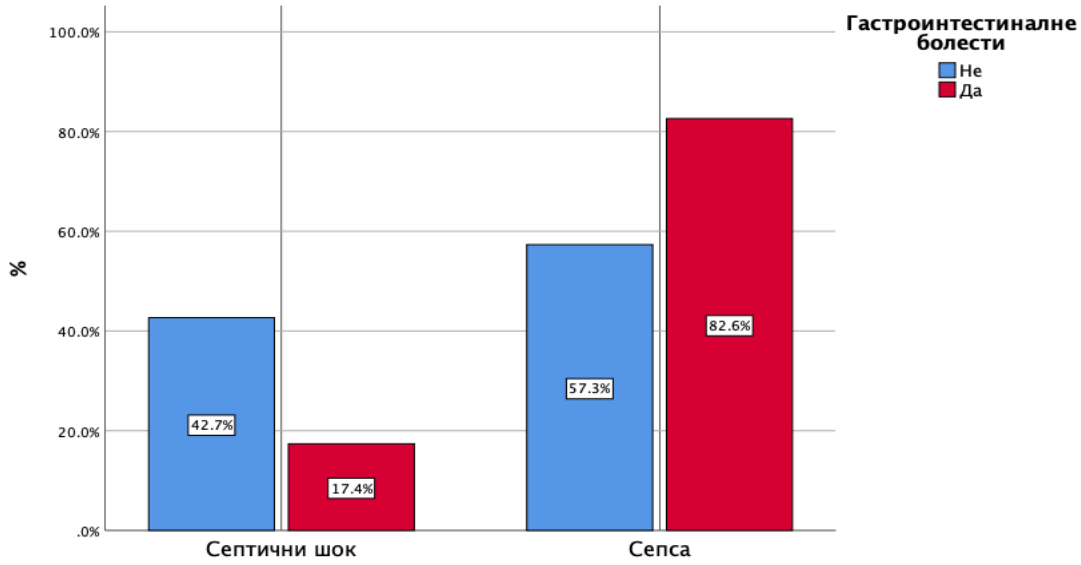
На Графикону 12 је приказана дистрибуција испитаника у односу на присутну психијатријску болест. Депресија је била водећа болест али и раније психозе су биле значајно заступљене.У групи септичних пацијената је ово обољење је било заступљено код 72,7% а у групи пацијената са септичним код 27,3% (Графикон 12).

Графикон бр. 12 Дистрибуција испитаника у односу присуство психијатријских болести. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



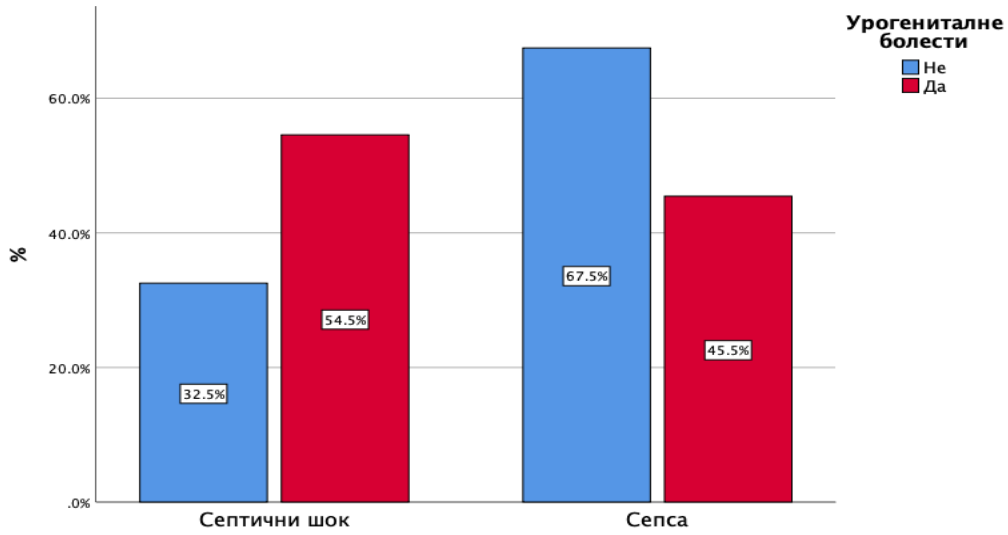
На Графикону 13 је приказана дистрибуција испитаника у односу присуство дигестивних болести. Улкусна болест и инфламаторне болести црева су биле водеће. У групи септичних пацијената је ово обољење је било заступљено код 82,6% а у групи пацијената са септичним код 17,4% (Графикон 13).

Графикон бр. 13 Дистрибуција испитаника у односу присуство гастроинтестиналних болести. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



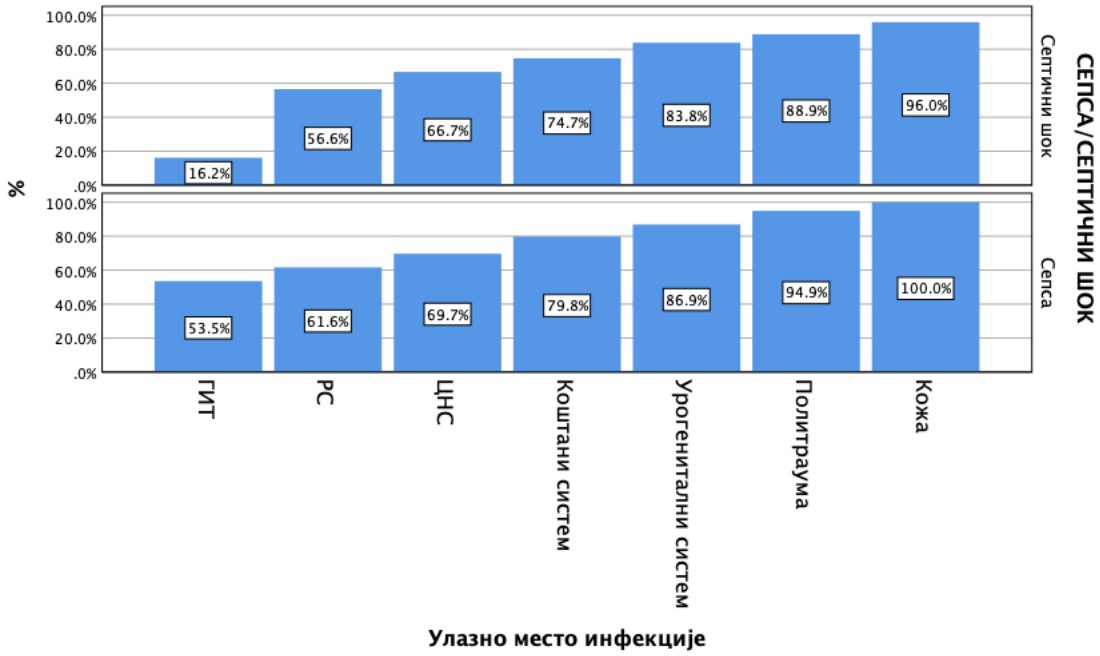
На Графикону 14 је приказана дистрибуција испитаника у односу присуство урогениталних болести. Доминантна је била бубрежна инсуфицијенција различитог степена и са хемодијализом. затим
Бенигна хиперплазија простате код мушкараца.У групи септичних пацијената је ово обољење је било заступљено код 45,5% а у групи пацијената са септичним код 54,5% (Графикон 14).

Графикон бр. 14 Дистрибуција испитаника у односу присуство урогениталних болести. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)

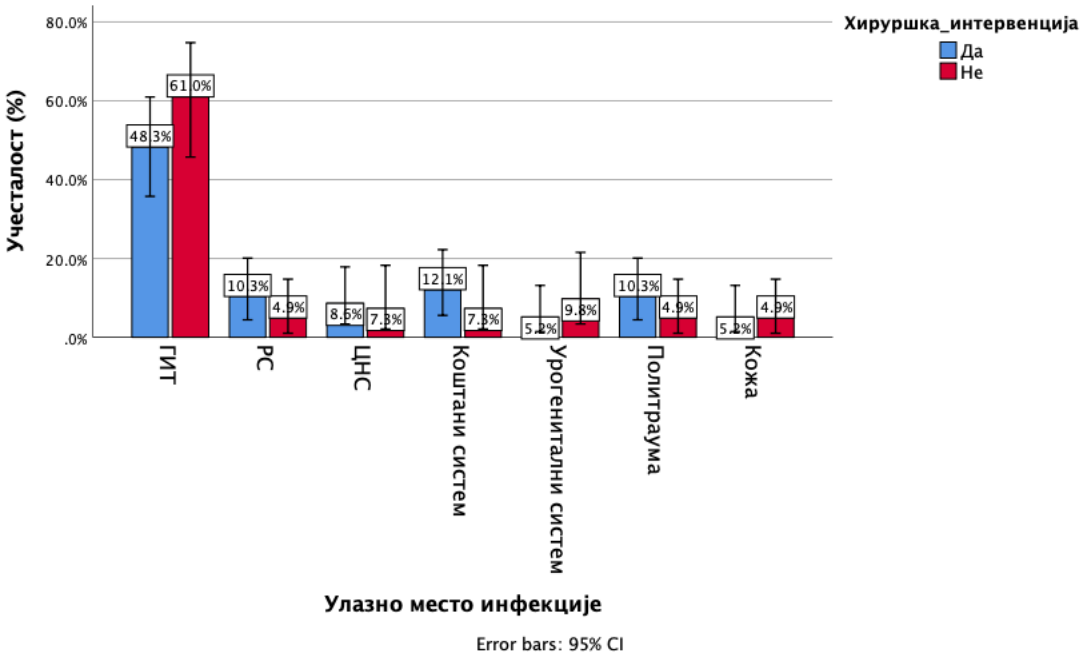


Посматрањем улазног места инфекције код свих испитаника, приметили смо хетерогену заступљеност у односу на примарно место инфекције код пацијената са сепсом и септичним шоком (Графикон 15). Такође, дистрибуција испитаника у односу на примарно место инфекције и постојање хируршке интервенције као терапијске процедуре приказана је на Графикону бр 16.

Графикон бр. 15 Дистрибуција испитаника у односу на примарно место инфекције. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)

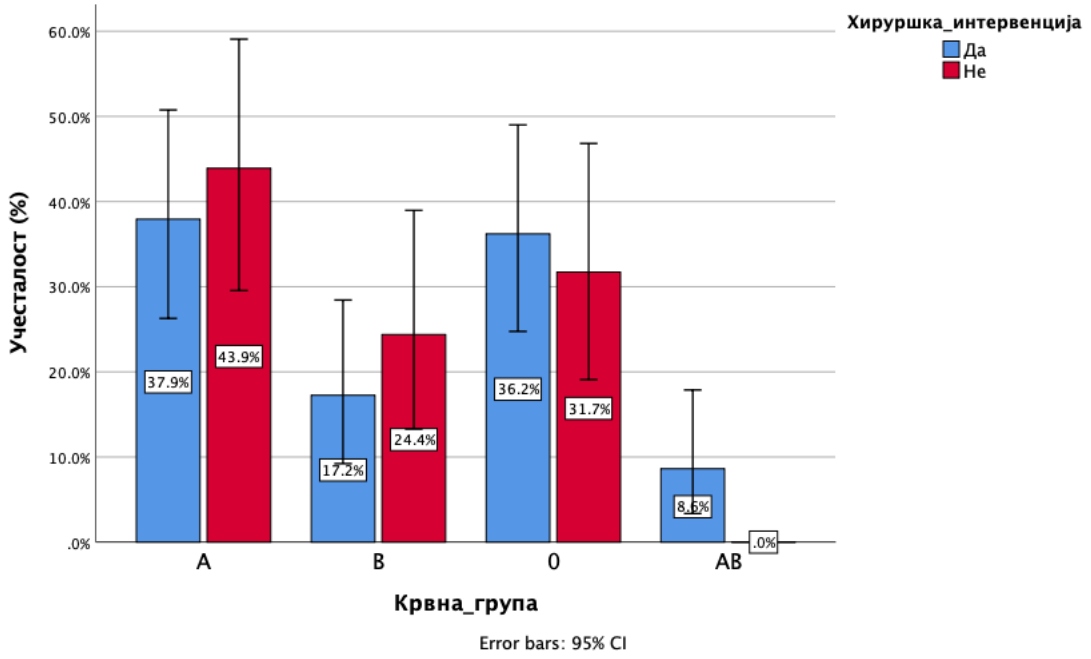


Графикон бр. 16 Дистрибуција испитаника у односу на примарно место инфекције. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)

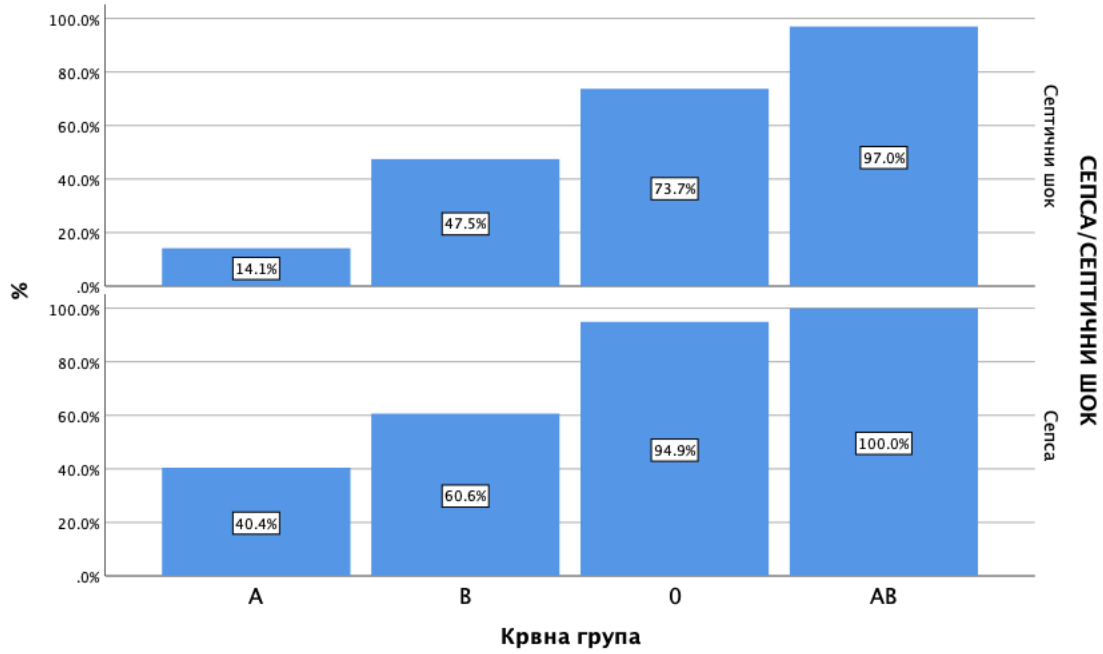


На Графиконима 17 и 18 приказана је дистрибуција испитаника у односу на крвну групу и групу испитаника. Највише су били заступљени оперисани и неоперисани пацијенти са А крвном групом као и пацијенти са септичним шоком и АБ крвном групом.

Графикон бр. 17 Дистрибуција испитаника у односу на крвну групу. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)

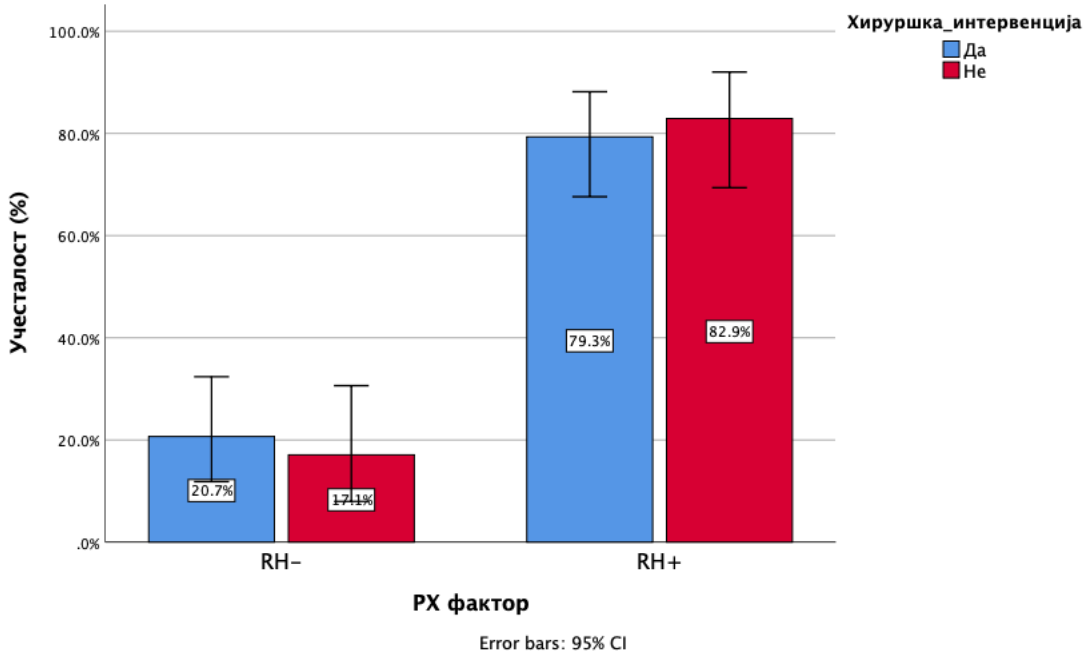


Графикон бр. 18 Дистрибуција испитаника у односу на крвну групу. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)

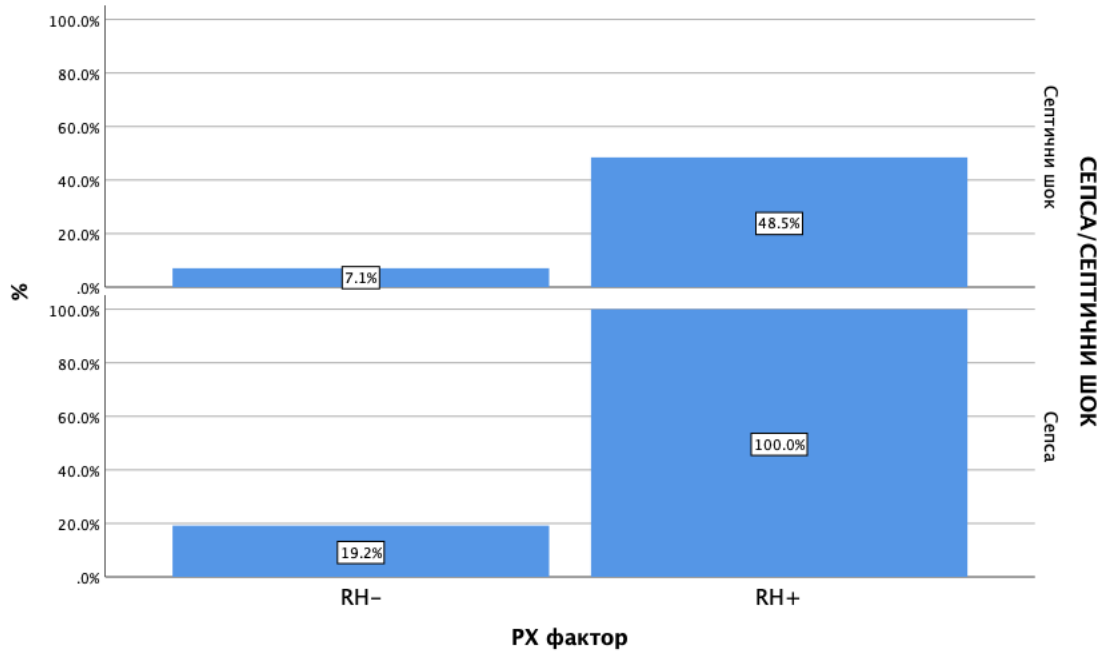


На Графиконима 19 и 20 су приказане учесталости испитаника у односу на RH фактор. Примећено је су у већој мери били заступљени RH+ пацијенти.

Графикон бр. 19 Дистрибуција испитаника у односу на *rhesus* фактор. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



Графикон бр. 20 Дистрибуција испитаника у односу на *rhesus* фактор. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



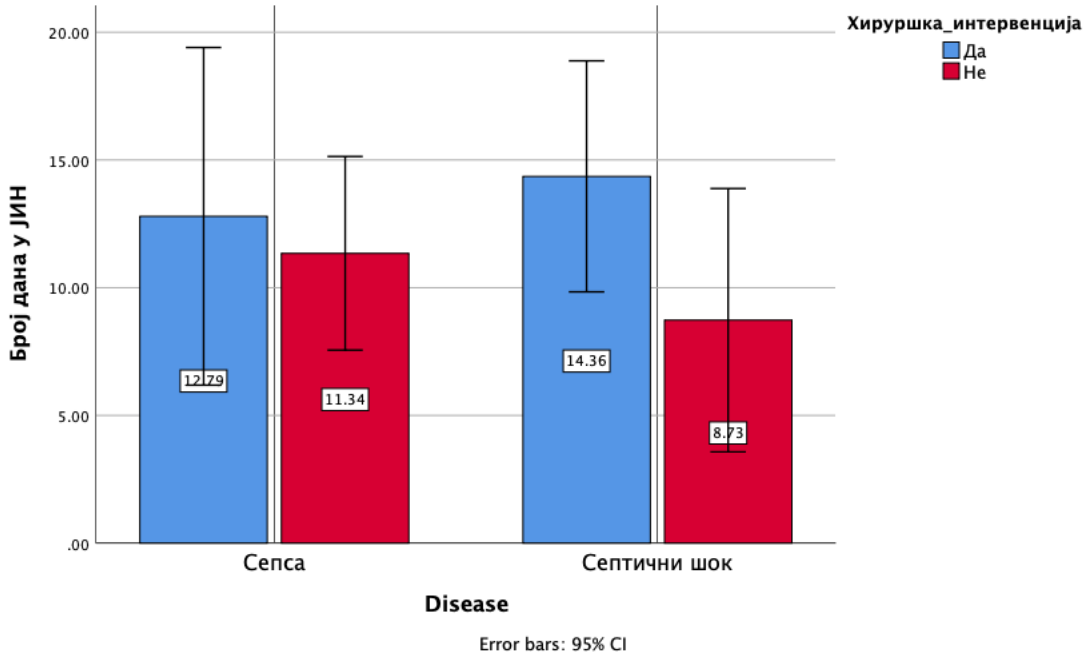
Просечна дужина трајања лечења у јединици интензивне неге била је 14,36 дана код оперисаних пацијената који су имали септични шок, а просечна дужина боравка оперисаних испитаника са сепсом је била 12,29, што је мање (Графикон 21). Укупно трајање хоспиталног лечења испитаника је било сличног трајања код испитаника који имају сепсу и септични шок (Графикон 22). У односу на пријем пацијената, најдужи боравак у болници имали су не-оперисани испитаници са септичним шоком (Графикон

22). У Табели 2 приказане су статистички утврђене значајности добијене поређењем свих ових средњих вредности у односу на групи (Табела 8).

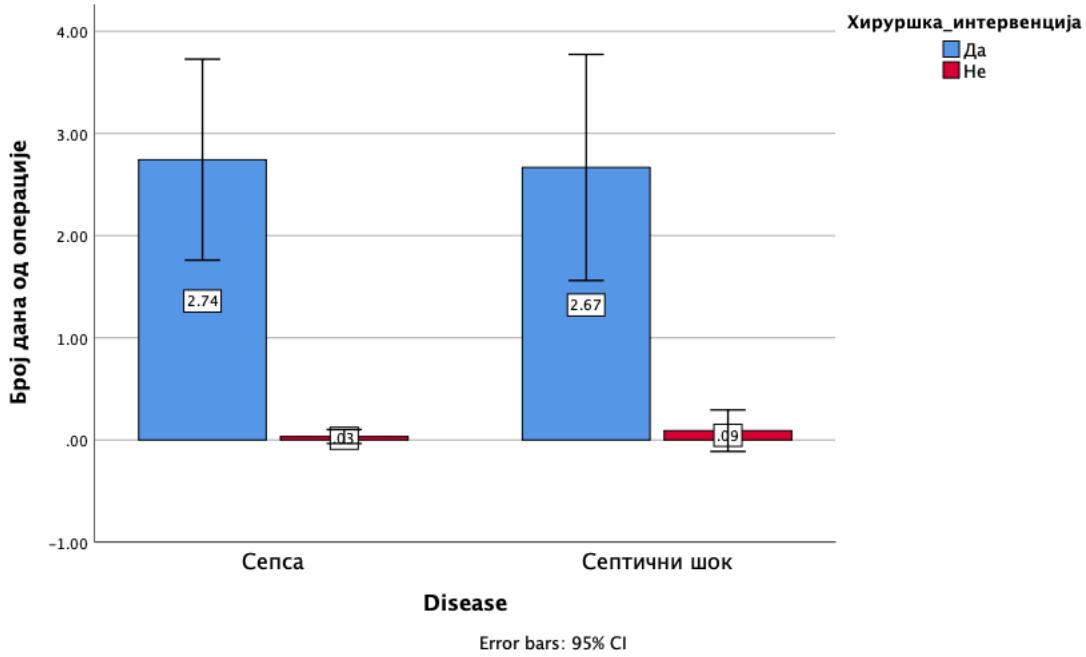
Табела 8. Међусобно поређење дужине боравка у ЈИН и у хоспиталним условима уопште у односу на присутну болест (сепса/септични шок). Статистичка анализа спроведена је ANOVA анализом, а статистички праг утврђен је на 0,05.

СЕПСА *вс* СЕПТИЧНИ ШОК		**Sum of Squares**	**Df**	**Mean Square**	**F**	***p***
Број дана у ЈИН	Between Groups	0,009	1	0,009	0,000	0,994
	Within Groups	19167,834	100	191,678		
Број дана од операције	Between Groups	1,528	1	1,528	0,223	0,637
	Within Groups	711,566	104	6,842		
Број дана од пријема	Between Groups	9,080	1	9,080	0,099	0,754
	Within Groups	9547,005	104	91,798		

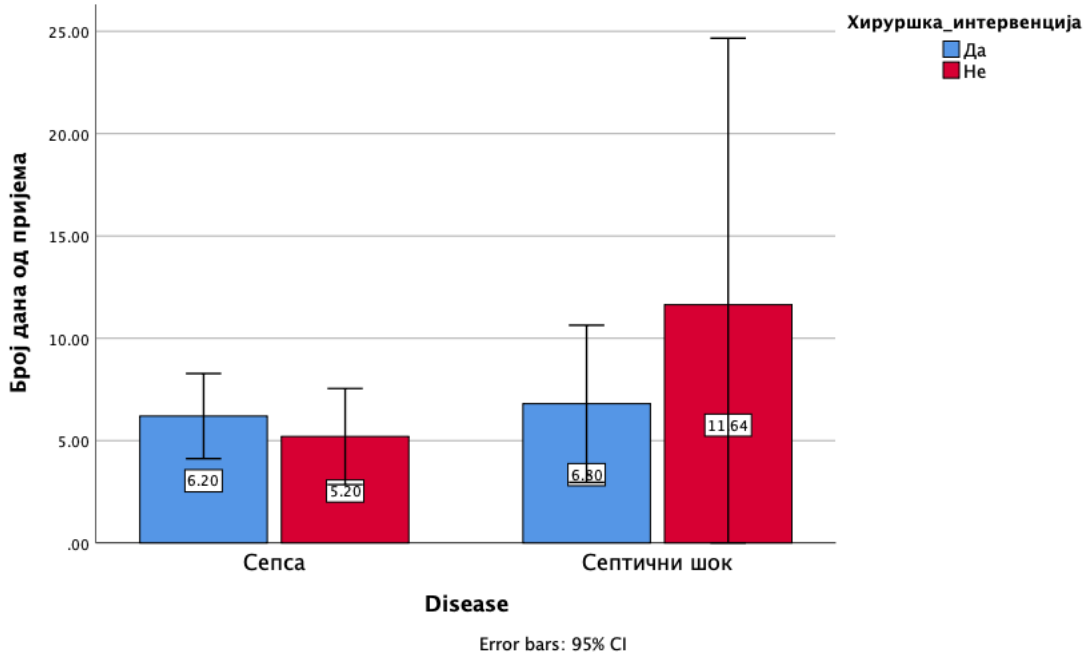
Графикон бр. 21 Средња вредност дужине трајања хоспиталног лечења испитаника у јединицама интензивне неге (ЈИН). Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



Графикон бр. 22 Средња вредност дужине трајања хоспиталног лечења испитаника од операције. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



Графикон бр. 23 Средња вредност дужине трајања хоспиталног лечења испитаника од пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.

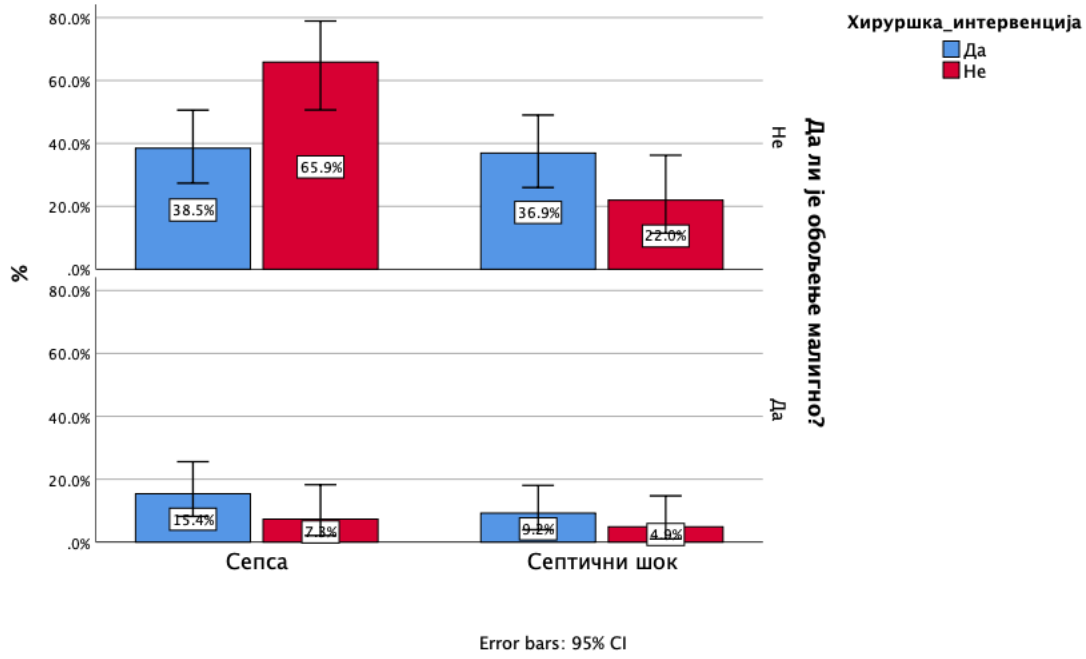


Статистичким анализама утврђена је статистички значајна разлика у дужини хоспиталног лечења у односу на хируршку интревенцију (Табела 9).

Табела 9. Међусобно поређење дужине боравка у ЈИН и у хоспиталним условима уопште у односу на претходну хируршку интервенцију (оперисани/неоперисани). Статистичка анализа спроведена је ANOVA анализом, а статистички праг утврђен је на 0,05.

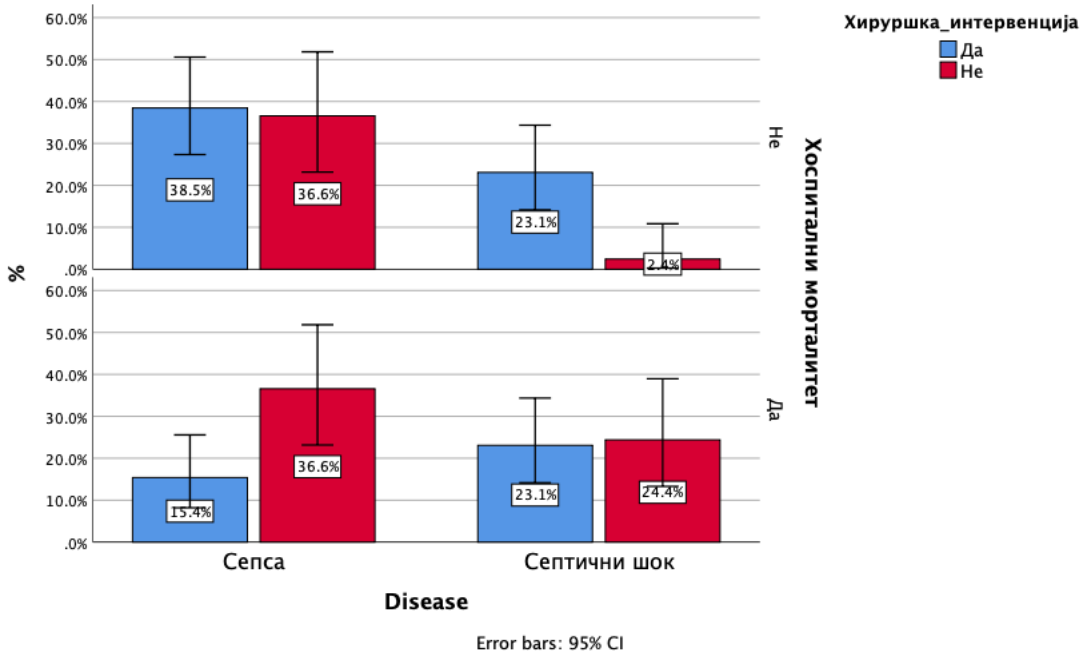
ОПЕРИСАНИ *вс* НЕОПЕРИСАНИ ПАЦИЈЕНТИ		**Sum of Squares**	**df**	**Mean Square**	**F**	***P***
Број дана у ЈИН	Between Groups	200,968	1	200,968	1,060	0,306
	Within Groups	18966,875	100	189,669		
Број дана од операције	Between Groups	177,746	1	177,746	34,530	**0,000**
	Within Groups	535,349	104	5,148		
Број дана од пријема	Between Groups	5,089	1	5,089	0,055	0,814
	Within Groups	9550,996	104	91,836		

Графикон бр. 24 Дистрибуција испитаника у односу на присутно малигно обољење и групу испитаника. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



Негативан исход (фатални исход) је примећен и има највећу учесталост у групи испитаника који су неоперисани и са сепсом (36,6%), док је најнижи хоспитални морталитет био заступљен у оперисаних пацијената са сепсом (Графикон 25).

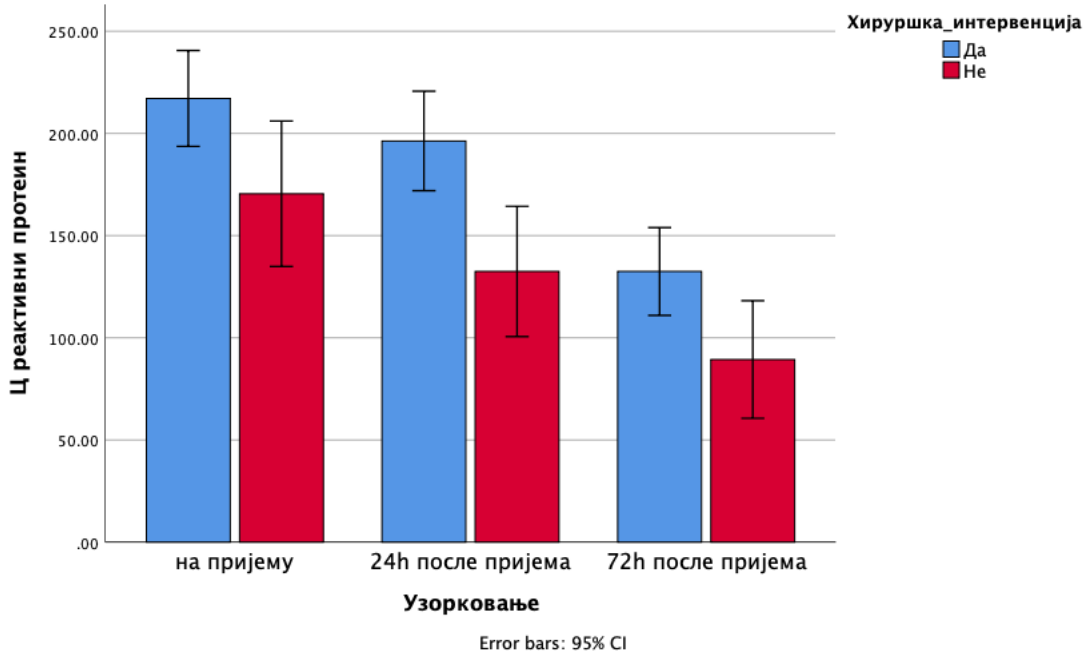
Графикон бр. 25 Хоспитални морталитет (негативан исход) испитаника у односу на групу испитаника. Резултати су приказани као процентуална заступљеност у односу на укупну студијску популацију (%)



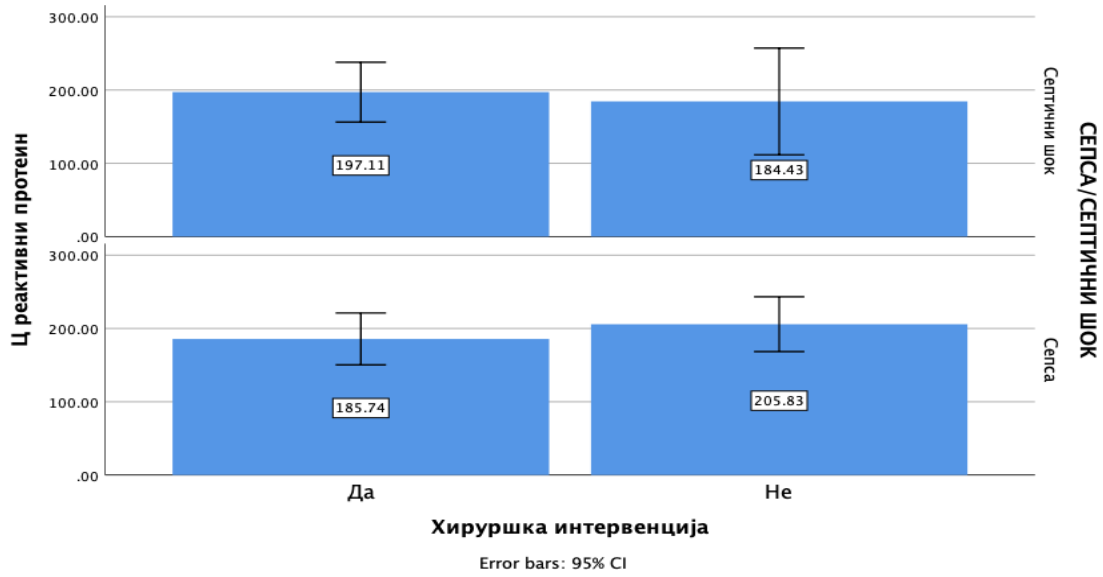
4.3.АНАЛИЗА ПРОИНФЛАМАТОРНИХ МАРКЕРА У СТУДИЈСКОЈ ПОПУЛАЦИЈИ

У односу на узорковање, приметан је пад Ц реактивног протеина током времена и хоспитализације у односу на вредности на пријему. Значајан пад је забележен у групи оперисаних и неоперисаних испитаника (Графикон 26). Највишу вредност овог маркера су имали неоперисани пацијенти са сепсом (205,83) (Графикон 27).

Графикон бр. 26 Ц реактивни протеин у односу на групу испитаника мерен на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.

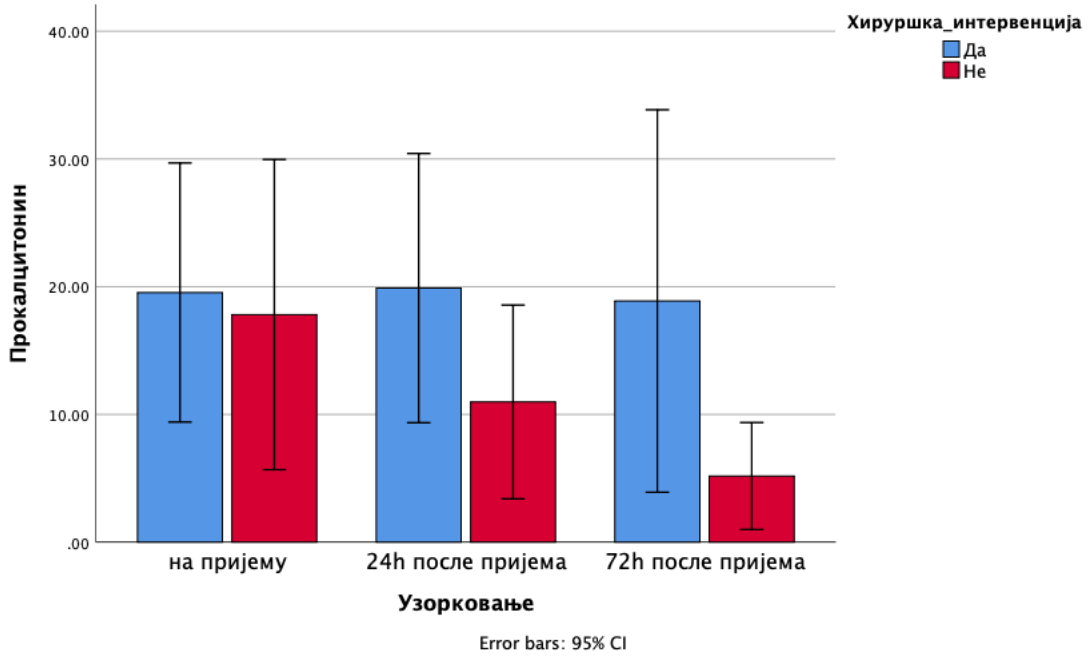


Графикон бр. 27 Ц реактивни протеин у односу на групу испитаника укупно. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.

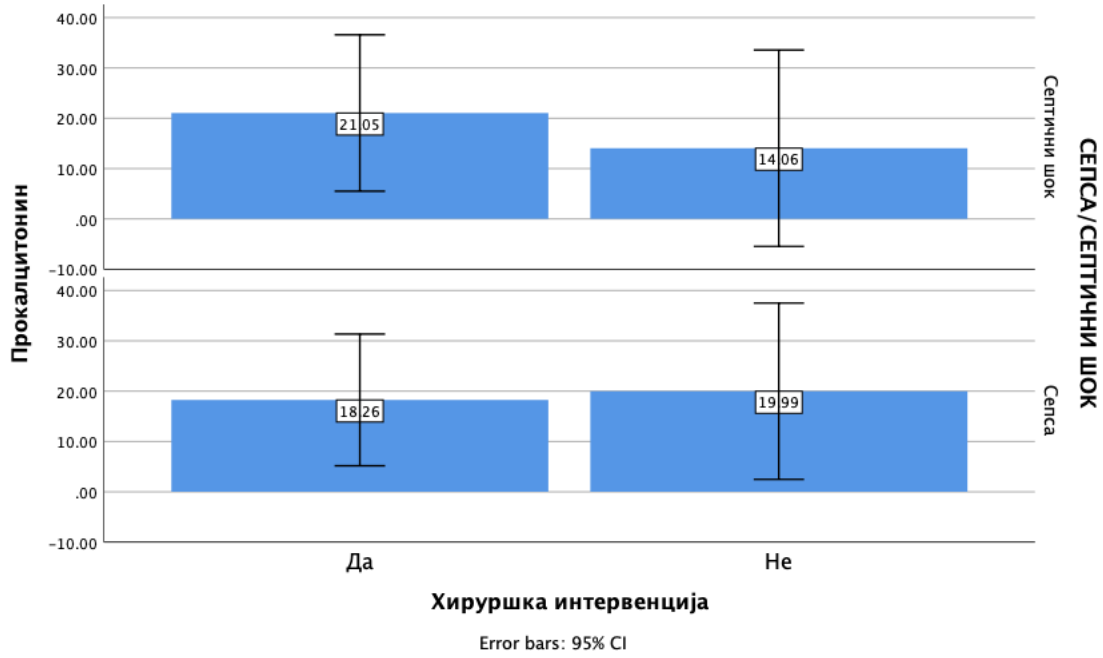


У односу на узорковање, приметан је пад прокалцитонина током времена и хоспитализације у односу на вредности на пријему код неоперисаних испитаника. (Графикон 28). Највишу вредност овог маркера су имали оперисани пацијенти са септичним шоком (21,05) (Графикон 29).

Графикон бр. 28 Прокалцитонин у односу на групу испитаника мерен на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.

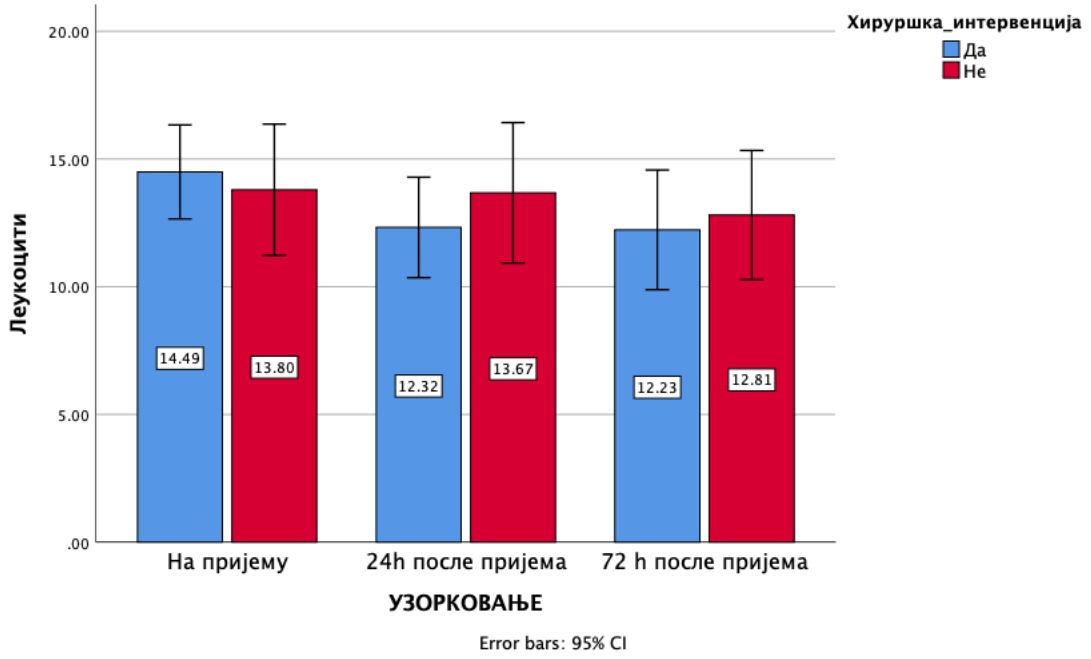


Графикон бр. 29 Прокалцитонин у односу на групу испитаника укупно. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка

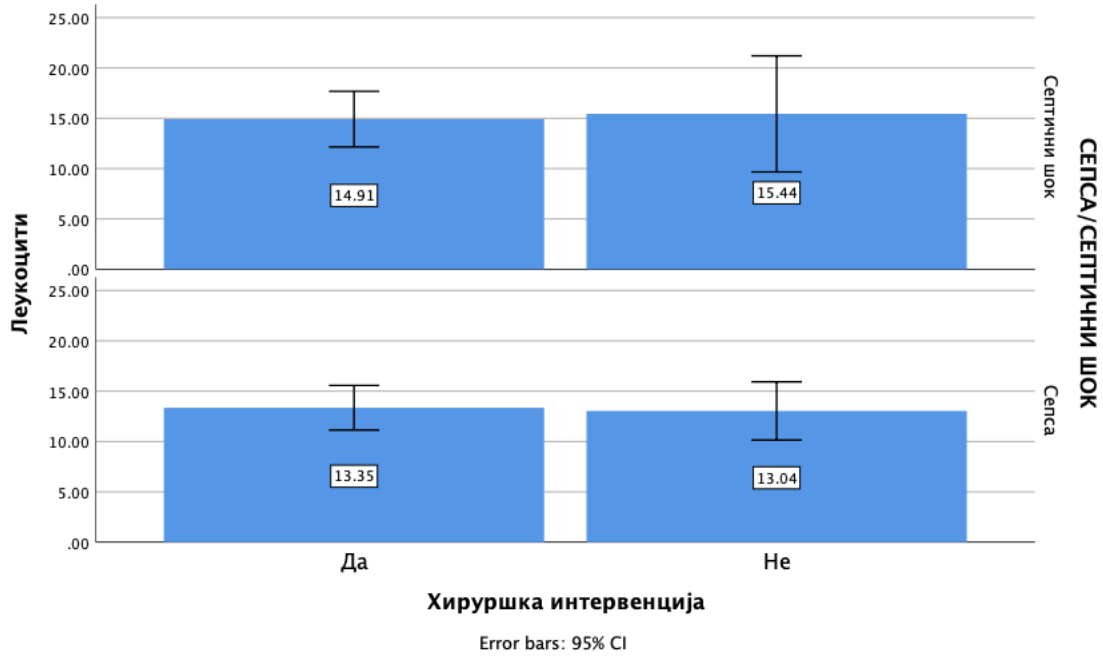


У односу на узорковање, приметан је благи пад леукоцита током времена и хоспитализације у односу на вредности на пријему код оперисаних испитаника. (Графикон 30). Највишу вредност овог маркера су имали неоперисани пацијенти са септичним шоком (15,44) (Графикон 31).

Графикон бр. 30 Леукоцити у односу на групу испитаника мерен на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



Графикон бр. 31 Број леукоцита у односу на групу испитаника укупно. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка

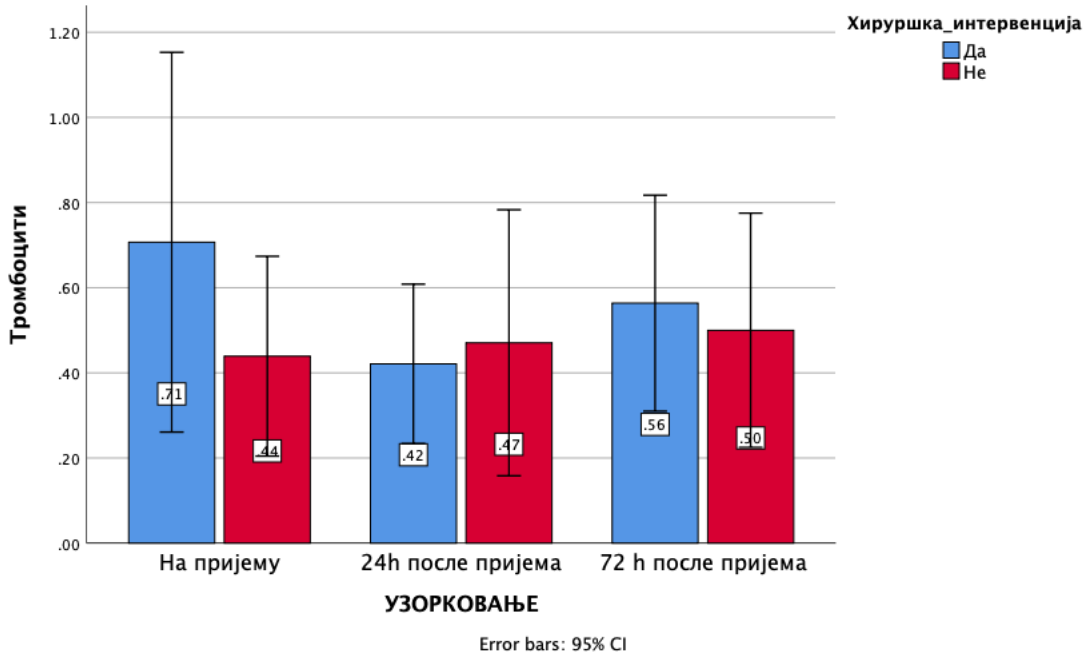


Табела 10. Међусобно поређење средњих вредности инфламаторних маркера у односу на групу испитаника. Статистичка анализа спроведена је ANOVA анализом, а статистички праг утврђен је на 0,05.

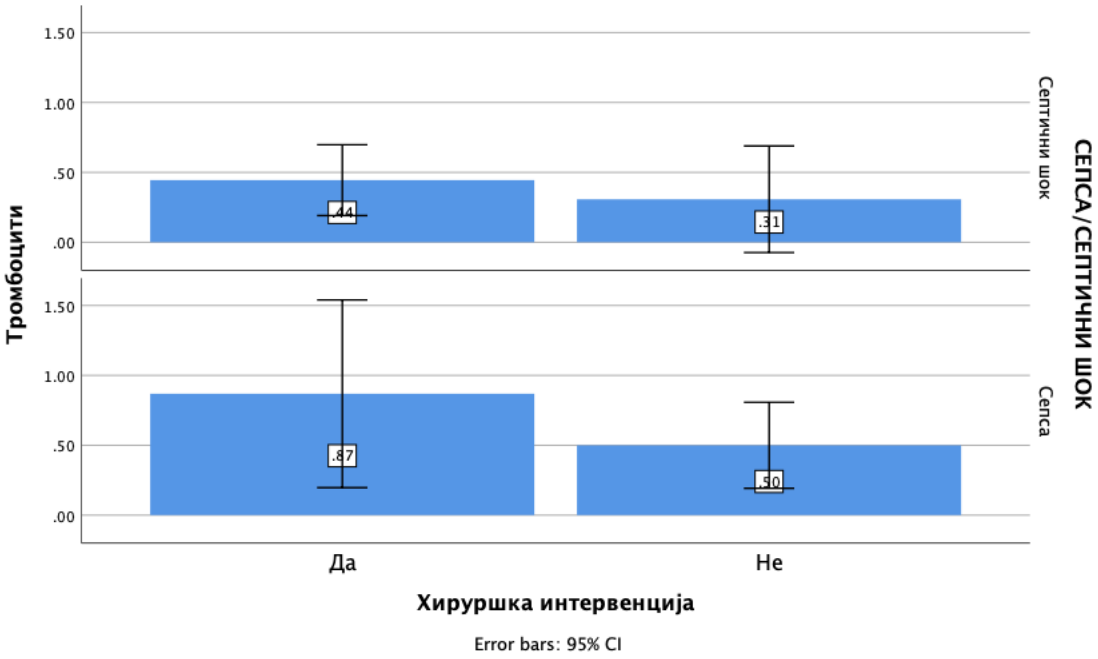
Параметар		Sum of Squares	df	Mean Square	F	*p*
Прокалцитонин	Between Groups	3,243	1	3,243	0,002	0,960
Ц реактивни протеин	Between Groups	3593,926	1	3593,926	0,095	0,758
Леукоцити	Between Groups	14,250	1	14,250	0,226	0,635

У односу на време узорковања, приметан је благи пад тромбоцита а затим и пораст у обе група испитаника (Графикон 32). Највишу вредност овог маркера су имали оперисани пацијенти са сепсом (Графикон 33).

Графикон бр. 32 Тромбоцити у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.

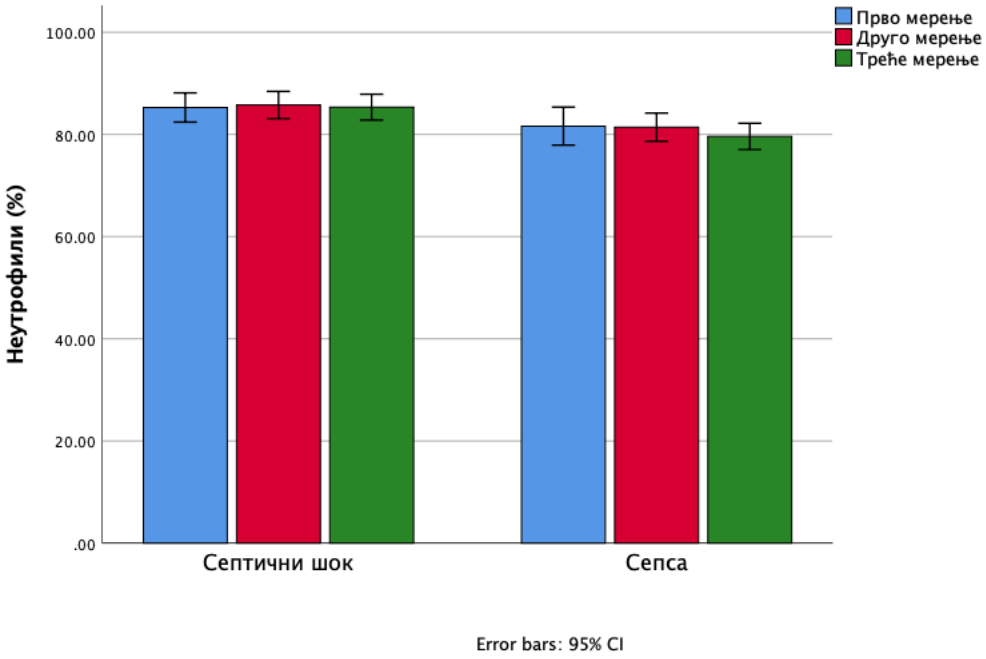


Графикон бр. 33 Број тромбоцита у односу на групу испитаника укупно. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка



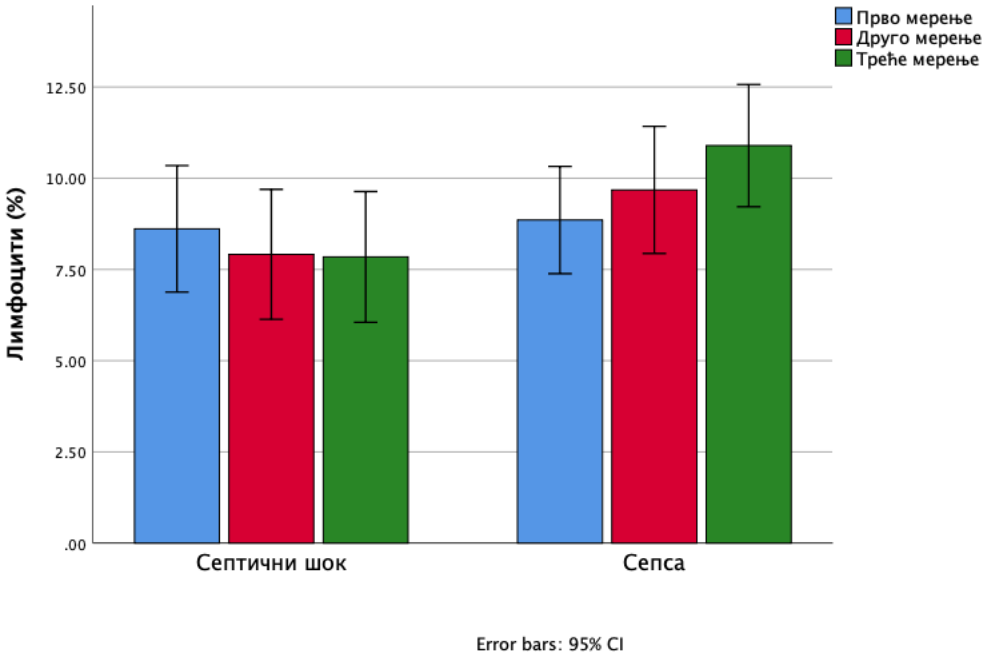
На Графикону 34 приказане су средње вредности неутрофила и приметан је благи пад неутрофила током времена праћења код испитаника са сепсом, за разлику од испитаника са септичним шоком.

Графикон бр. 34 Неутрофили у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



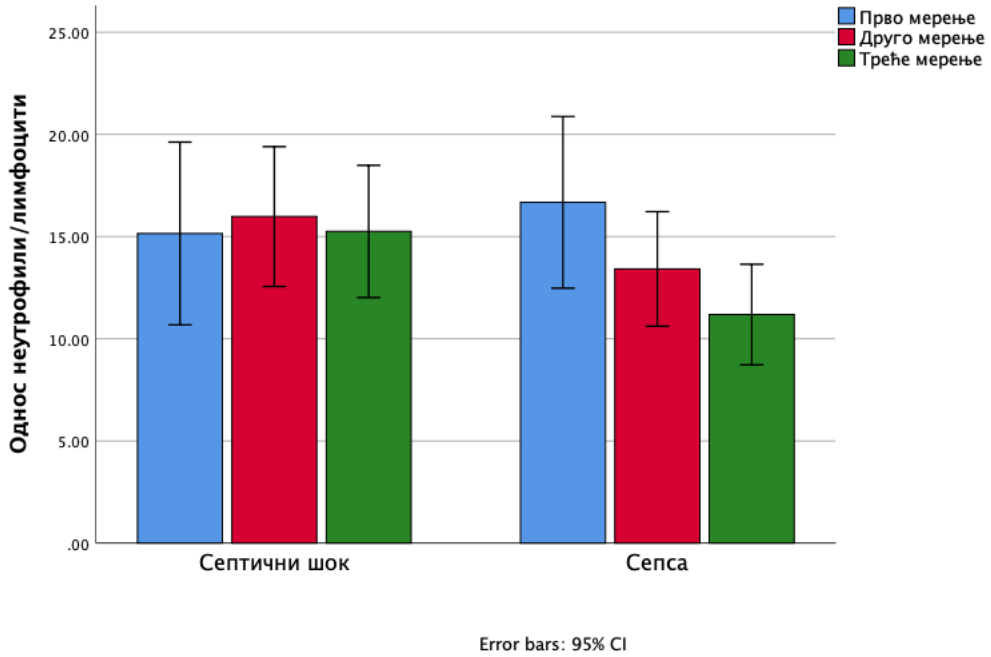
На Графикону 35 приказане су средње вредности лимфоцита и приметан је пораст лимфоцита током времена праћења код испитаника са сепсом, и пад код испитаника са септичним шоком.

Графикон бр. 35 Лимфоцити у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



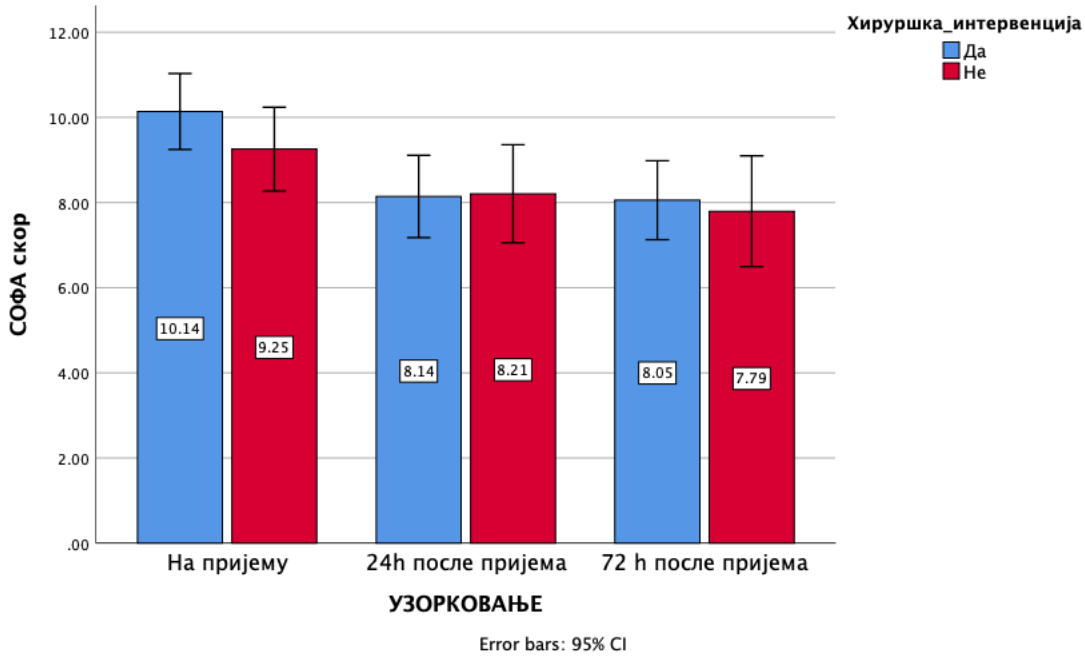
На Графикону 36 приказан однос неутрофила и лимфоцита и приметан је пад овог односа током времена праћења код испитаника са сепсом.

Графикон бр. 36 Однос неутрофила/лимфоцита у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



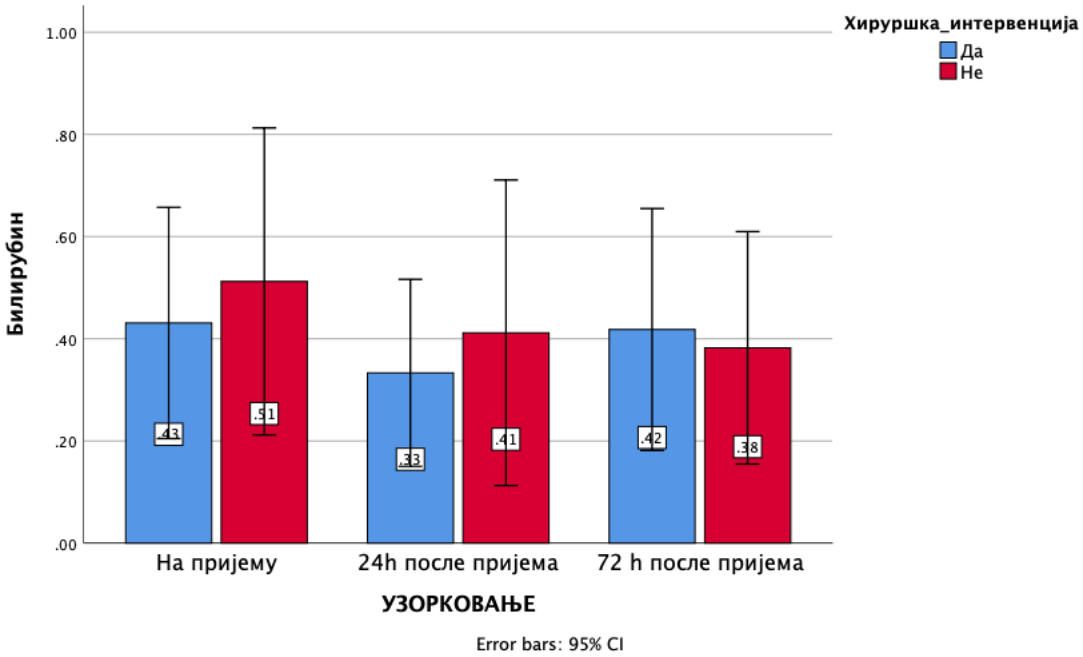
На Графикону 37 приказан СОФА скор и приметан је пад скора током времена праћења код испитаника са и без хируршке интервенције.

Графикон бр. 37 СОФА скор у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



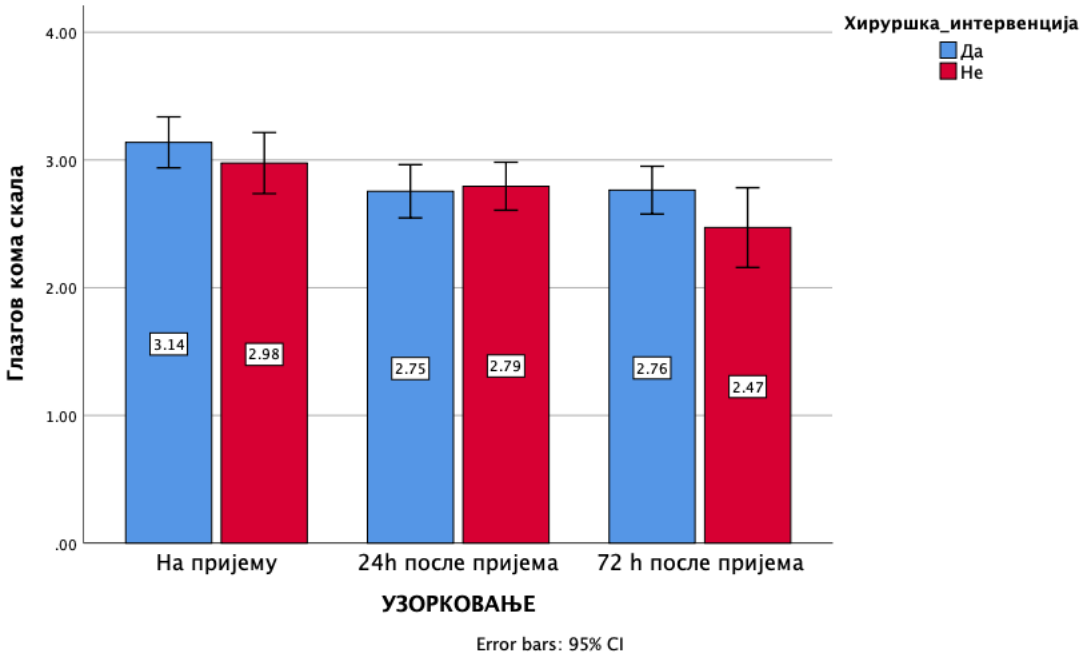
На Графикону 38 приказане вредности билирубина и приметан је пад билирубина у групи неоперисаних а пораст у групи оперисаних испитаника током времена праћења.

Графикон бр. 38 Билирубин у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



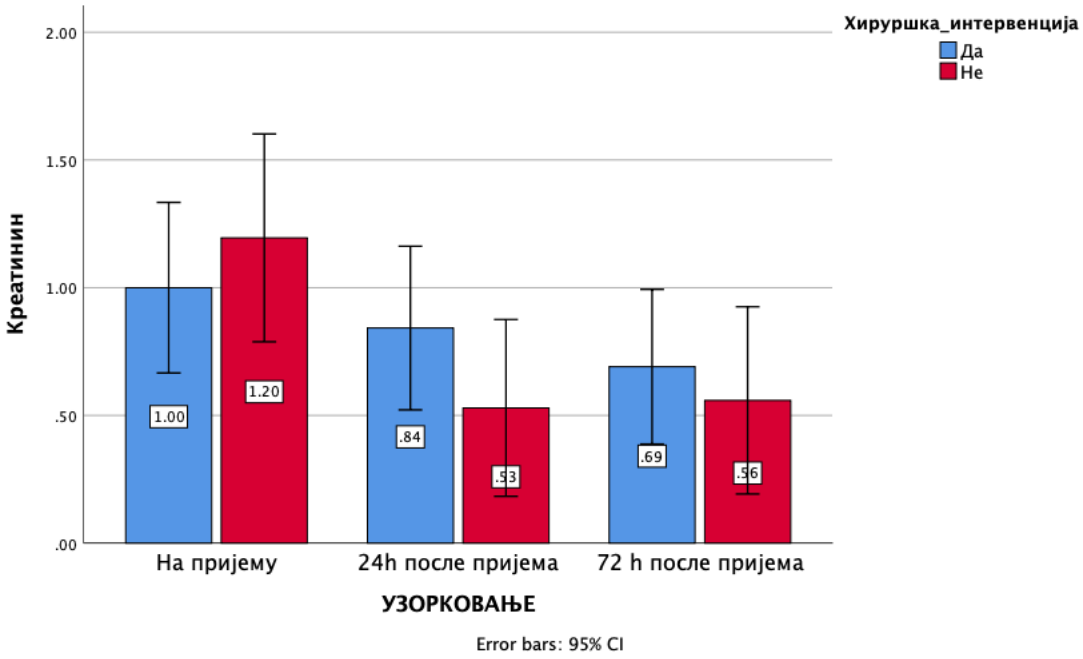
На Графикону 39 приказан је скор Глазгов кома скале и приметан је пад у обе групе испитаника током времена праћења.

Графикон бр. 39 Глазгов кома скор у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



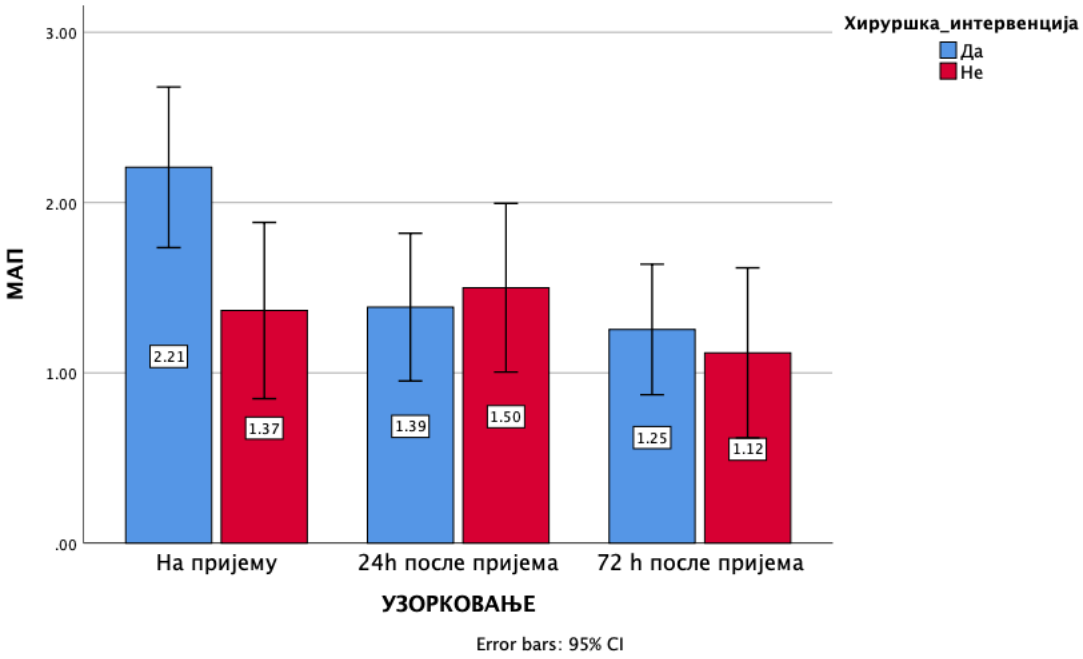
На Графикону 40 приказане су вредности креатинина и приметан је пад у обе групе испитаника током времена праћења.

Графикон бр. 40 Креатинин у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



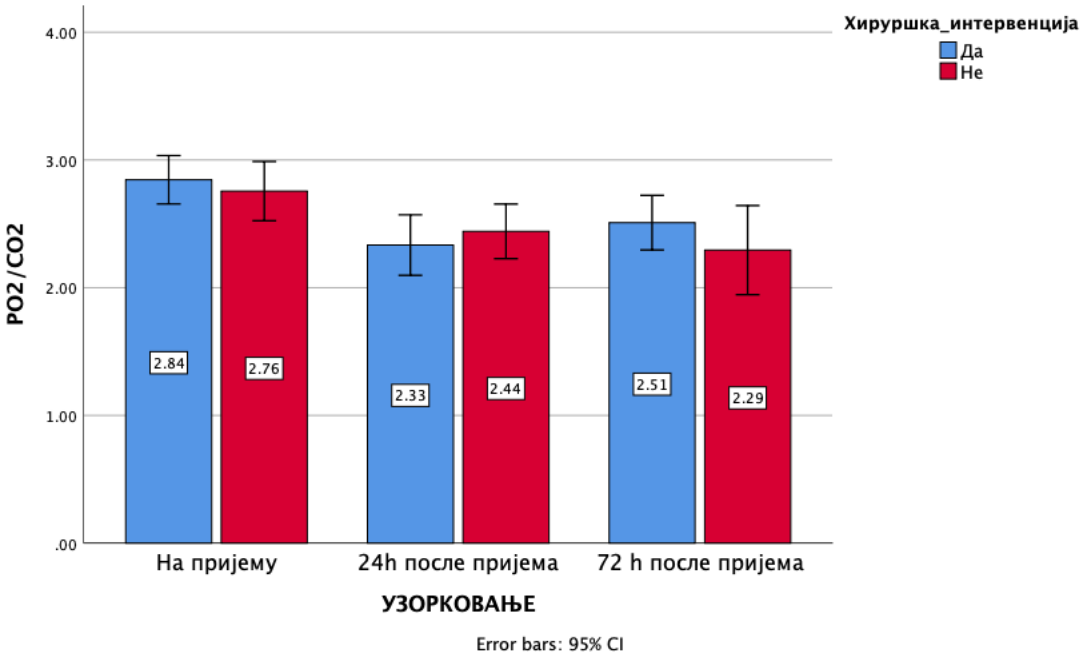
На Графикону 41 приказане су вредности МАП-а и приметан је пад у обе групе испитаника током времена праћења.

Графикон бр. 41 МАП (mean arterial pressure; MAP) у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



На Графикону 42 приказане су вредности pO_2/CO_2 и приметан је пад у обе групе испитаника током времена праћења.

Графикон бр. 42 pO_2/CO_2 у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



Статистичком анализом и међусобним поређењима у вредностима СОФА и Глазгов кома скора, тромбоцита, билирубина, креатинина и MAP (mean arterial pressure) није утврђена статистички знаљна разлика између оперисаних и неоперисаних ни у једној тачки мерења (Табела 11).

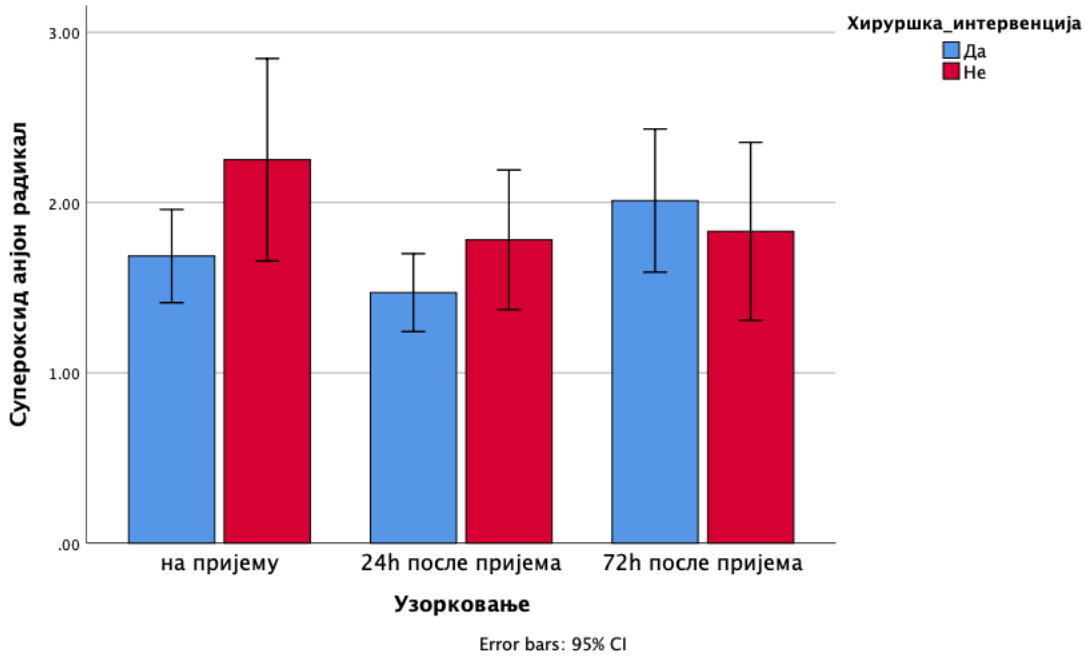
Табела 11. Међусобно поређење средњих вредности маркера сепсе у односу на групу испитаника. Статистичка анализа спроведена је ANOVA анализом, а статистички праг утврђен је на 0,05.

Параметар		Sum of Squares	df	Mean Square	F	p.
СОФА	Between Groups	7,077	1	7,077	0,571	0,450
Тромбоцити	Between Groups	0,623	1	0,623	0,555	0,457
Билирубин	Between Groups	0,142	1	0,142	0,212	0,645
Глазгов кома скала	Between Groups	1,067	1	1,067	1,817	0,179
МАП	Between Groups	5,712	1	5,712	2,210	0,138
Креатинин	Between Groups	0,224	1	0,224	0,159	0,690

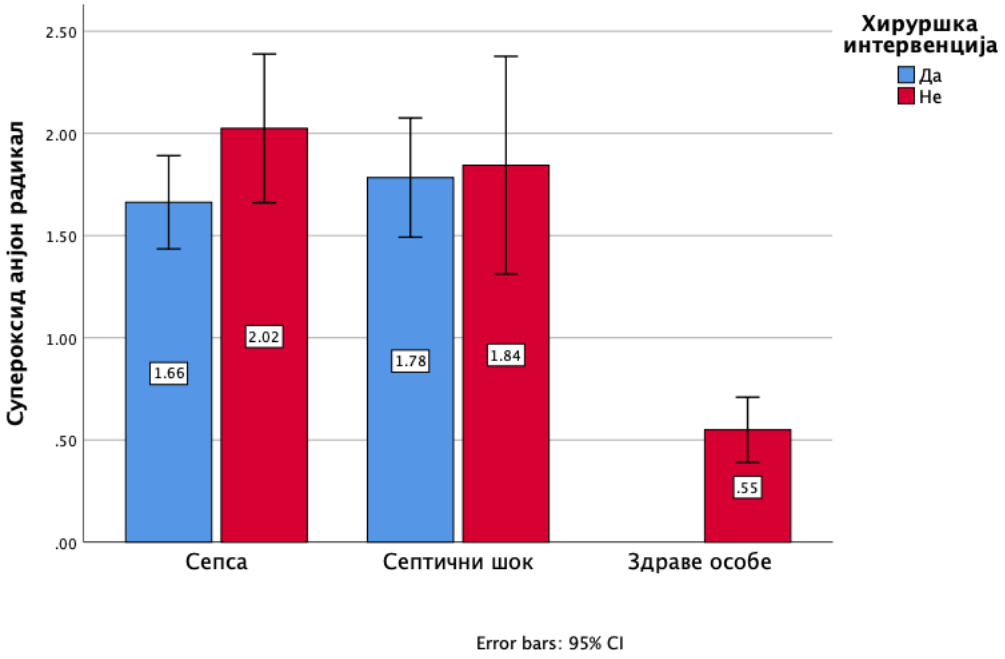
4.4.**ПАРАМЕТРИ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА У КРВИ ПАЦИЈЕНАТА**

На Графикону 43 приказане су вредности супероксид анјон радикала и приметан је пад овог маркера током праћења у групи неоперисаних и пораст код оперисаних испитаника. Највиша вредност овог прооксидационог маркера била у групи неоперисаних пацијената са сепсом (Графикон 44).

Графикон бр. 43 Супероксид анјон радикал (nmol/ml) у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.

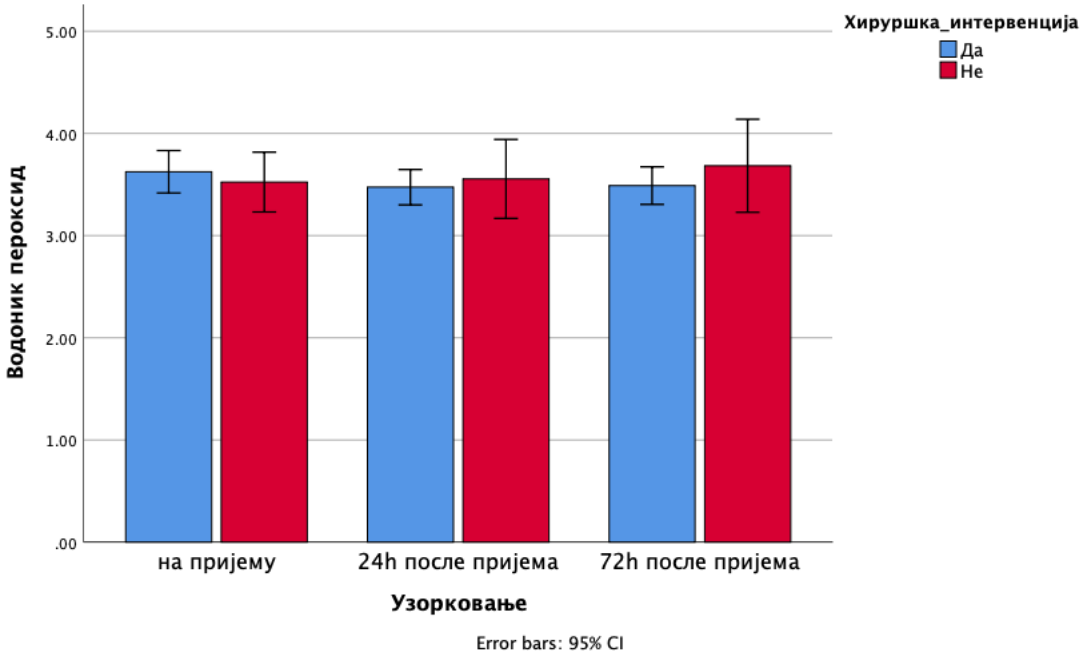


Графикон бр. 44 Супероксид анјон радикал (nmol/ml) у односу на групу испитаника и претходну хируршку интервенцију. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.

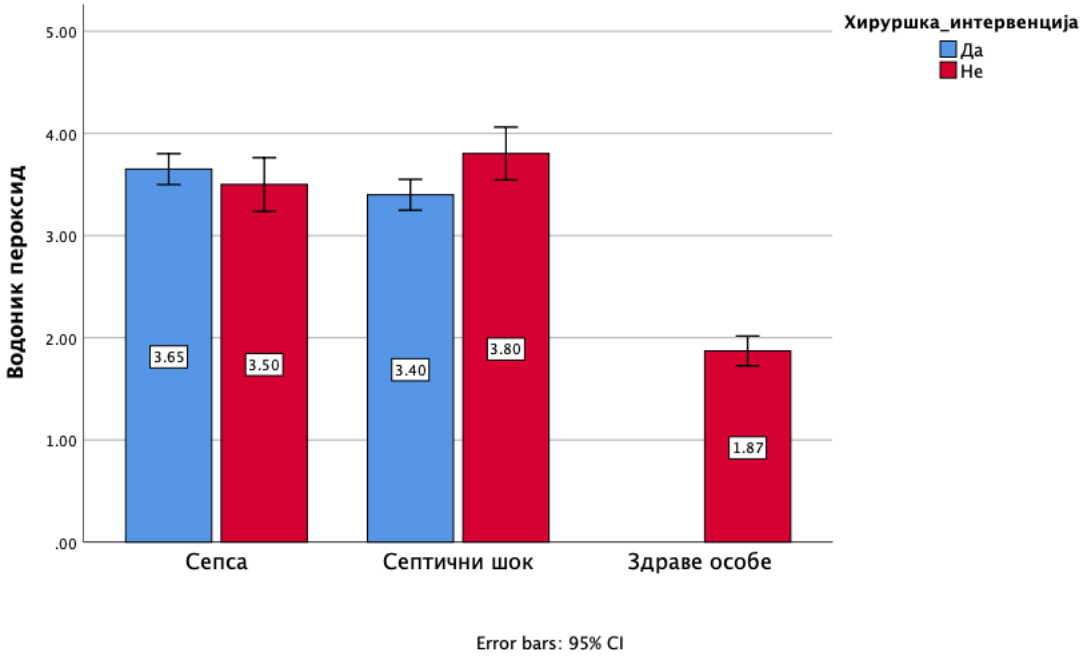


На Графикону 45 приказане су вредности водоник пероксида и слична динамика током различитих мерења. Највиша вредност овог прооксидационог маркера била у групи неоперисаних пацијената са септичним шоком (Графикон 46).

Графикон бр. 45 Водоник пероксид (nmol/ml) у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.

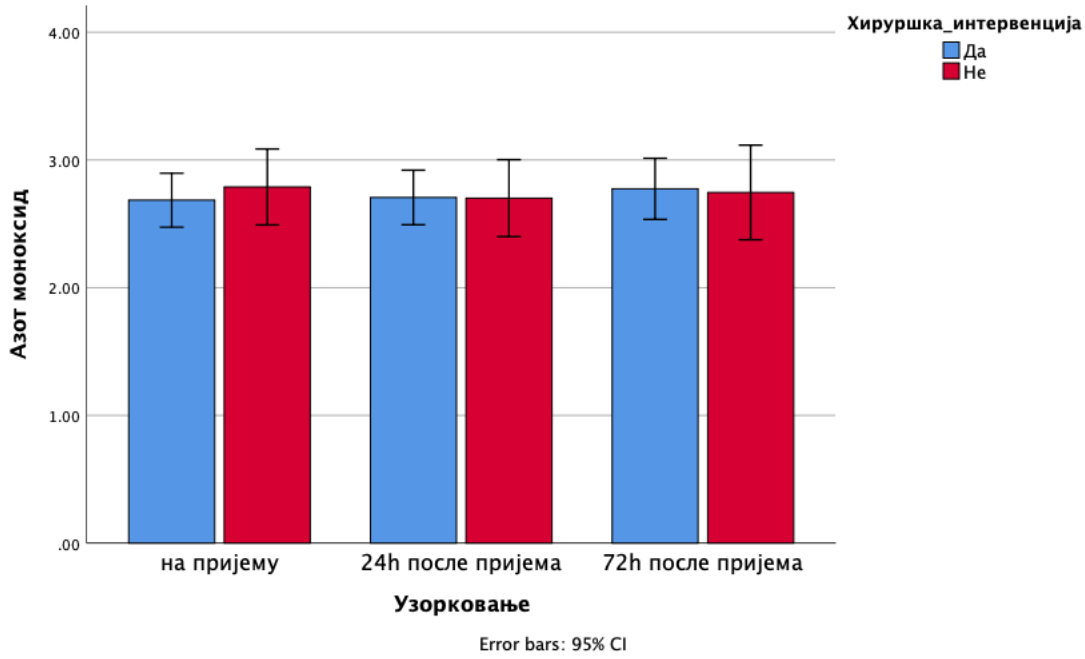


Графикон бр. 46 Водоник пероксид (nmol/ml) у односу на групу испитаника и претходну хируршку интервенцију. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка

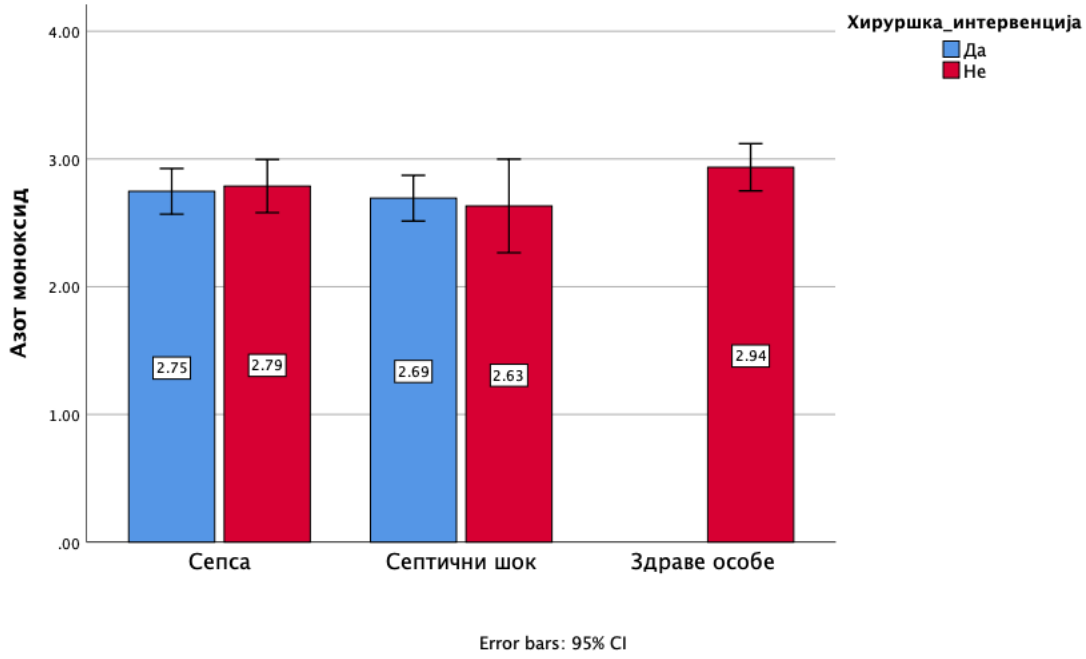


На Графикону 47 приказане су вредности азот моноксида и слична динамика током различитих мерења. Вредности овог маркера се нису значајно разликовале у односу на групу испитаника (Графикон 48).

Графикон бр. 47 Азот моноксид у форми нитрита (nmol/ml) у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.

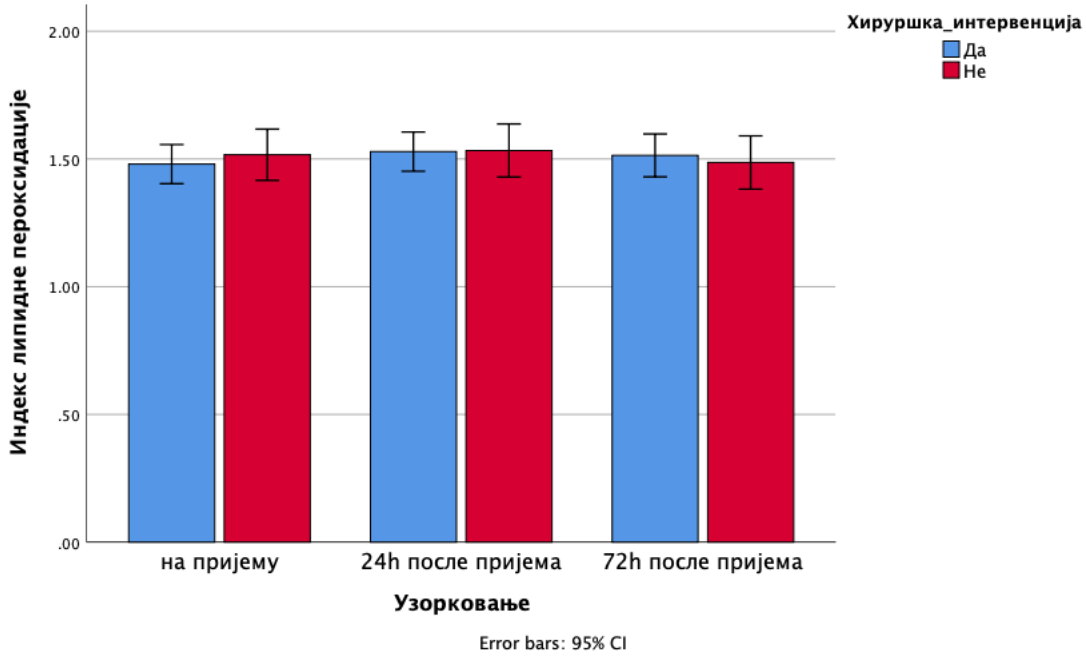


Графикон бр. 48 Азот моноксид у форми нитрита (nmol/ml) у односу на групу испитаника и претходну хируршку интервенцију. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка

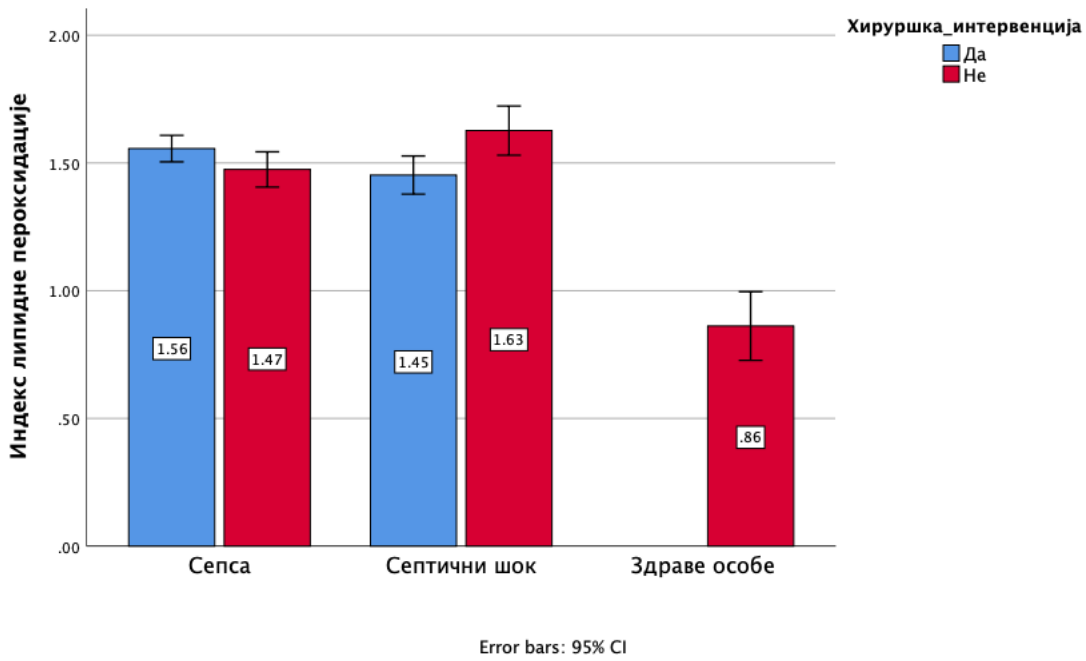


На Графикону 49 приказане су вредности индекса липидне пероксидаације и приметна је слична динамика током различитих мерења. Највише вредности овог маркера су биле у групи неоперисаних испитаника са септичним шоком (Графикон 50).

Графикон бр. 49 Индекс липидне пероксидације у форми TBARS-a (micromol/ml) у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



Графикон бр. 50 Индекс липидне пероксидације у форми TBARS-a (micromol/ml) у односу на групу испитаника и претходну хируршку интервенцију. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка



У Табели 12 су приказане статистичке значајности поређењем група за сваки прооксидациони параметар посебно.

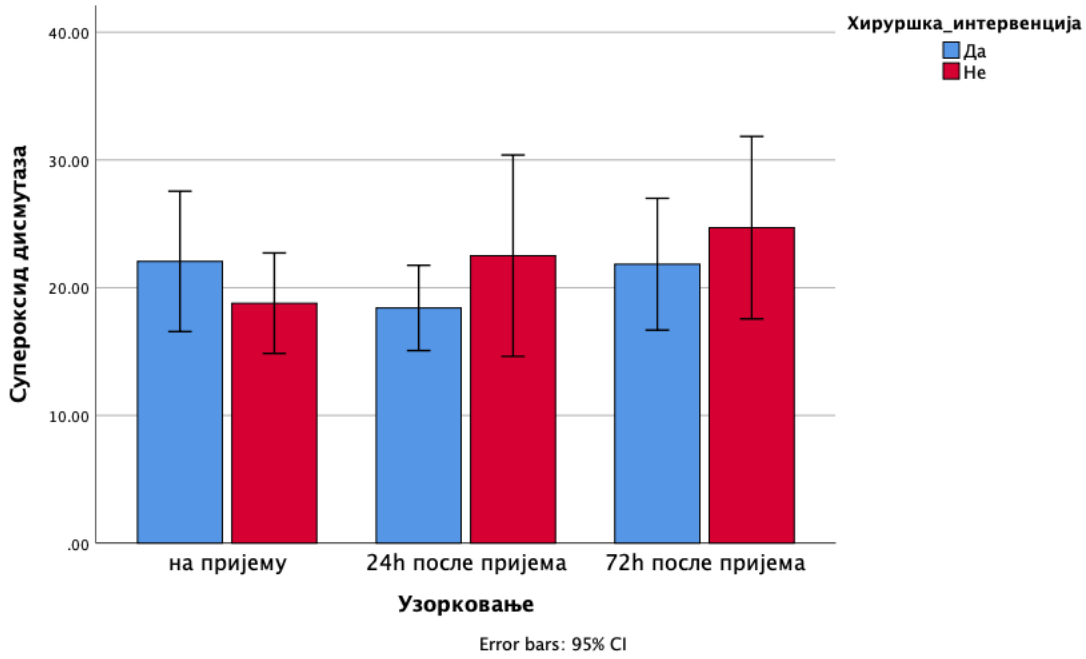
Табела 12. Међусобно поређење у односу на групу за сваки про-оксидациони маркер. Статистичка анализа је спровођена употребом *Kruskal-Wallis* тестом. Статистички праг је утврђен на 0,05.

Параметар	**Поређење**		**Mean Difference (I-J)**	**Std. Error**	**P**
Супероксид анјон радикал	Сепса	Септични шок	0,02611	0,16318	1,000
		Здраве особе	1,27429	0,56438	0,074
	Септични шок	Сепса	-0,02611	0,16318	1,000
		Здраве особе	1,24817	0,56924	0,087
	Здраве особе	Сепса	-1,27429	0,56438	0,074
		Септични шок	-1,24817	0,56924	0,087
Водоник пероксид	Сепса	Септични шок	0,08934	0,10384	1,000
		Здраве особе	1.71176*	0,35914	**0,000**
	Септични шок	Сепса	-0,08934	0,10384	1,000

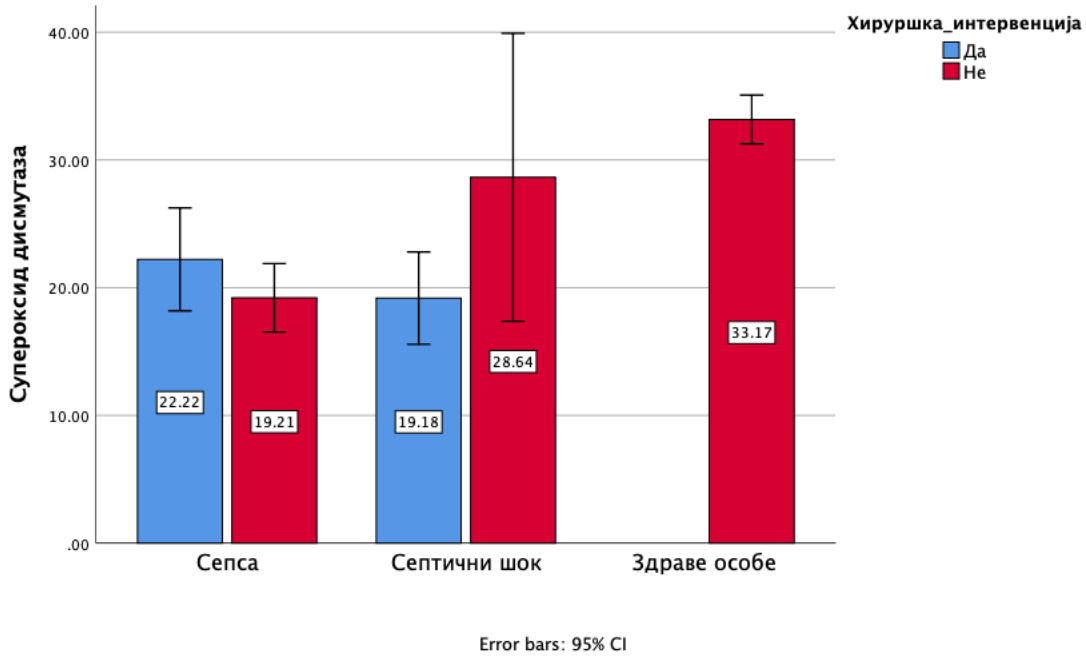
		Здраве особе	1.62242*	0,36223	**0,000**
	Здраве особе	Сепса	-1.71176*	0,35914	**0,000**
		Септични шок	-1.62242*	0,36223	**0,000**
Азот моноксид	Сепса	Септични шок	0,08619	0,10532	1,000
		Здраве особе	-0,17020	0,36427	1,000
	Септични шок	Сепса	-0,08619	0,10532	1,000
		Здраве особе	-0,25639	0,36740	1,000
	Здраве особе	Сепса	0,17020	0,36427	1,000
		Септични шок	0,25639	0,36740	1,000
TBARS	Сепса	Септични шок	0,02646	0,03640	1,000
		Здраве особе	.65828*	0,12588	**0,000**
	Септични шок	Сепса	-0,02646	0,03640	1,000
		Здраве особе	.63181*	0,12697	**0,000**
	Здраве особе	Сепса	-.65828*	0,12588	**0,000**
		Септични шок	-.63181*	0,12697	**0,000**

У последњем делу истраживања пратили смо динамику активности антиоксидативних ензима у крви испитаника. На Графикону 51 приказане су средње вредности активности супероксид дисмутазе и приметан је пораст активности овог ензима током праћења у обе групе. Највише вредности овог маркера су биле у групи неоперисаних испитаника са септичним шоком (Графикон 52).

Графикон бр. 51 Супероксид дисмутаза (U/g Hgx10^3) у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.

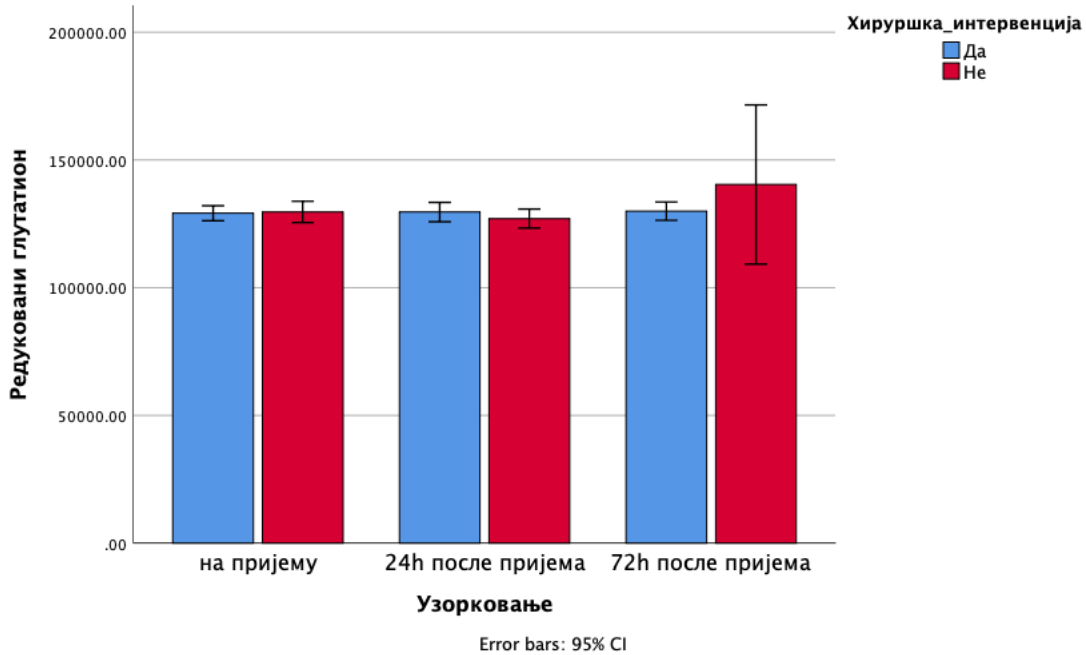


Графикон бр. 52 Супероксид дисмутаза (U/g Hgx10^3) у односу на групу испитаника и претходну хируршку интервенцију. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка

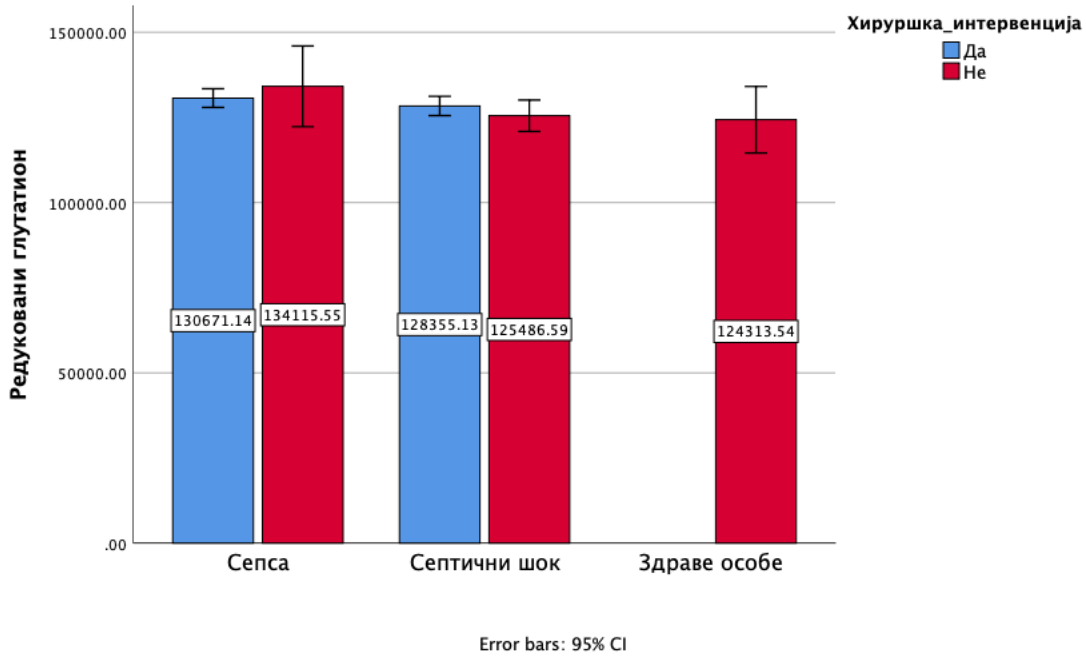


На Графикону 53 приказане су средње вредности активности редукованог глутатиона и приметан је пораст активности овог ензима током праћења у обе групе. Највише вредности овог маркера су биле у групи неоперисаних испитаника са сепсом (Графикон 54).

Графикон бр. 53 Редуковани глутатион (U/g Hgx10^3) у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.

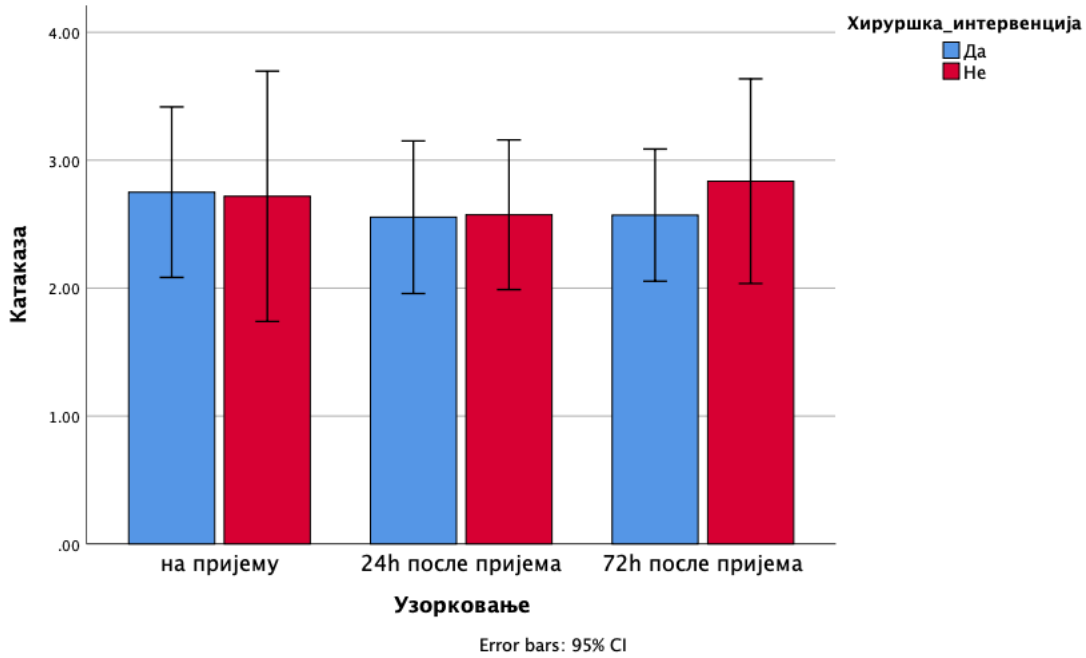


Графикон бр. 54 Редуковани глутатион (U/g Hgx10^3) у односу на групу испитаника и претходну хируршку интервенцију. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка

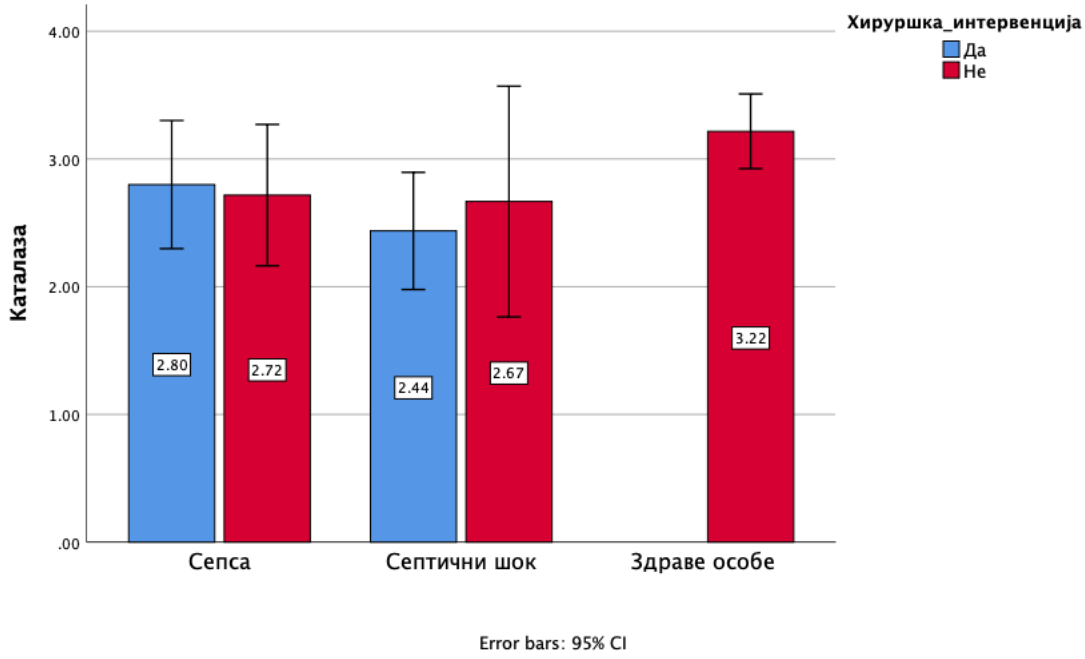


На Графикону 55 приказане су средње вредности активности каталазе и приметан је пораст активности овог ензима током праћења у обе групе. Највише вредности овог маркера су биле у групи неописаних испитаника са сепсом (Графикон 56).

Графикон бр. 55 Каталаза (U/g Hgx10^3) у односу на групу испитаника мерени на пријему, 24 ч и 72 ч после пријема. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка.



Графикон бр. 56 Каталаза (U/g Hgx10^3) у односу на групу испитаника и претходну хируршку интервенцију. Резултати су приказани као средња вредност ± средња стандардна грешка



Табела 13. Поређење средњих вредности антиоксидационих ензима у односу на групу испитаника. Статистичка анализа је спровођена употребом *Kruskal-Wallis* тестом. Статистички праг је утврђен на 0,05.

Зависна варијабла	**Група**		**Mean Difference (I-J)**	**Std. Error**	**p.**
SOD	Сепса	Септични шок	-0,52	2,20	1,00
		Здраве особе	-12,27	7,57	0,32
	Септични шок	Сепса	0,52	2,20	1,00
		Здраве особе	-11,75	7,64	0,37
	Здраве особе	Сепса	12,27	7,57	0,32
		Септични шок	11,75	7,64	0,37
GSH	Сепса	Септични шок	4506,10	3440,51	0,57
		Здраве особе	7868,31	11818,55	1,00
	Септични шок	Сепса	-4506,10	3440,51	0,57
		Здраве особе	3362,20	11918,29	1,00

	Здраве особе	Сепса	-7868,31	11818,55	1,00
		Септични шок	-3362,20	11918,29	1,00
CAT	Сепса	Септични шок	0,27	0,28	1,00
		Здраве особе	-0,45	0,96	1,00
	Септични шок	Сепса	-0,27	0,28	1,00
		Здраве особе	-0,73	0,97	1,00
	Здраве особе	Сепса	0,45	0,96	1,00
		Септични шок	0,73	0,97	1,00

У Табели 14 је приказана динамика промене свих маркера редокс равнотеже у односу на вредности код здравих испитаника. Приметне су екстремно високе вредности прооксидационих и ниске вредности антиоксидационих маркера у односу на здраве испитанике.

Табела 14. Динамика свих тестираних маркера редокс равнотеже и инфламаторних маркера у групи пацијената са сепсом/септичним шоком у поређењу са здравим испитаницима.

Параметар	Група	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Проценат (%)
Супероксид анјон радикал	Сепса	1.82	1.38	0.10	+231.7%
	Септични шок	1.80	1.36	0.13	+226.9%
	Здрави	0.55	0.15	0.06	0.0%
Водоник перокси	Сепса	3.58	0.96	0.07	+91.5%
	Септични шок	3.49	0.72	0.07	+86.7%
	Здрави	1.87	0.14	0.06	0.0%
Нитрити	Сепса	2.76	0.90	0.07	-5.8%
	Септични шок	2.68	0.86	0.08	-8.7%
	Здрави	2.94	0.18	0.07	0.0%
TBARS	Сепса	1.52	0.28	0.02	+76.4%
	Септични шок	1.49	0.34	0.03	+73.3%
	Здрави	0.86	0.13	0.05	0.0%
SOD	Сепса	20.90	16.80	1.28	-37.0%
	Септични шок	21.42	20.55	1.93	-35.4%
	Здрави	33.17	1.82	0.74	0.0%
GSH	Сепса	132181.85	35464.72	2712.05	+6.3%
	Септични шок	127675.74	12944.06	1212.32	+2.7%

	Здрави	124313.54	9297.29	3795.60	0.0%
CAT	Сепса	2.76	2.44	0.19	-14.1%
	Септични шок	2.49	2.18	0.20	-22.6%
	Здрави	3.22	0.28	0.11	0.0%
Прокалцитонин	Сепса	7.97	22.95	1.70	+5952.2%
	Септични шок	30.46	57.09	5.32	+23033.9%
	Здрави	0.13	0.01	0.01	0.0%
Ц-реактивни протеин	Сепса	151.86	105.83	7.60	+2556.5%
	Септични шок	178.97	101.85	9.18	+3030.7%
	Здрави	5.72	0.77	0.31	0.0%

Табела 15. Корелациона анализа између маркера редокс равнотеже, маркера инфламације и тежине болести. Постојањем корелације се сматра уколико је p вредност мања од 0,05 (p) а јачина корелације би се изразила кроз коефицијент корелације (R) (у опсегу од -1 до +1, односно од непостојања до јаке линеарне корелације).

Маркер		**Болест**	**O_2^-**	**H_2O_2**	**NO**	**TBARS**	**PCT**	**CRP**
Болест	*R*	/	0.009	0.050	0.048	0.043	0.266	0.126
	p		0.874	0.394	0.418	0.471	0.000**	0.025*
O_2^-	*R*		/	0.047	0.082	0.050	0.010	0.080
	p			0.428	0.163	0.397	0.289	0.172
H_2O_2	*R*			/	0.228	0.396	0.018	0.052
	p				0.000**	0.000**	0.759	0.376
NO	*R*				/	0.443	0.039	0.003
	p					0.000**	0.512	0.964
TBARS	*R*					/	0.133	0.053
	p						0.024*	0.366
PCT	*R*						/	0.247
	p							0.000**
CRP	*R*							/
	p							

Табела 16. Корелациона анализа између антиоксидационих ензима, маркера инфламације и тежине болести. Постојањем корелације се сматра уколико је p вредност мања од 0,05 (p) а јачина корелације би се изразила кроз коефицијент корелације (R) (у опсегу од -1 до +1, односно од непостојања до јаке линеарне корелације).

Параметар		Болест	SOD	GSH	CAT	PCT	CRP
Болест	*R*	/	0.014	0.077	0.057	0.266	0.126
	p		0.814	0.195	0.337	0.000**	0.025*
SOD	*R*		/	0.007	0.001	0.027	0.001
	p			0.909	0.998	0.652	0.297
GSH	*R*			/	0.048	0.052	0.053
	p				0.421	0.386	0.374
CAT	*R*				/	0.023	0.007
	p					0.696	0.906
PCT	*R*					/	0.247
	p						0.000**
CRP	*R*						/
	p						

Корелациона анализа показала постојање позитивне корелације између хоспиталног морталитета и хируршке интервенције као и међусобна повезаност инфламаторних маркера. Улазно место инфекције није повезано са променама инфламаторних маркера и хоспиталним морталитетом (Табела 17).

Табела 17. Корелациона анализа између улазног места, маркера инфламације и постојања хируршке интервенције. Постојањем корелације се сматра уколико је p вредност мања од 0,05 (p) а јачина корелације би се изразила кроз коефицијент корелације (R) (у опсегу од -1 до +1, односно од непостојања до јаке линеарне корелације).

Параметар		Улазно место инфекције	Хоспитални_морталитет	Хируршка_интервенција	Прокалцитонин	Ц реактивни_протеин	Леукоцити
Улазно место инфекције	Pearson Correlation	1	-0,033	-0,082	-0,125	-0,043	0,051
	p		0,746	0,418	0,217	0,670	0,619
Хоспитални морталитет	Pearson Correlation	-0,033	1	.220*	-0,071	0,008	0,008
	p	0,746		**0,024**	0,467	0,936	0,933

Хируршка интервенција	Pearson Correlation	-0,082	.220*	1	-0,003	-0,018	0,028
	p	0,418	**0,024**		0,960	0,758	0,635
Прокалцитонин	Pearson Correlation	-0,125	-0,071	-0,003	1	.119*	.197**
	p	0,217	0,467	0,960		**0,047**	**0,001**
Ц реактивни протеин	Pearson Correlation	-0,043	0,008	-0,018	.119*	1	.241**
	p	0,670	0,936	0,758	**0,047**		**0,000**
Леукоцити	Pearson Correlation	0,051	0,008	0,028	.197**	.241**	1
	p	0,619	0,933	0,635	**0,001**	**0,000**	

Затим, утврђена је међусобна корелација појединих прооксидационих маркера, али није утврђена повезаност промене прооксидационих маркера, улазног места инфекције и хоспиталног морталитета (Табела 18).

Табела 18. Корелациона анализа између улазног места, прооксидационих маркера и тежине болести. Постојањем корелације се сматра уколико је p вредност мања од 0,05 (p) а јачина корелације би се изразила кроз коефицијент корелације (R) (у опсегу од -1 до +1, односно од непостојања до јаке линеарне корелације).

Параметар		**Улазно место инфекције**	**Прокалцитонин**	**O_2**	**H_2O_2**	**NO**	**TBARS**	**Хоспитални морталитет**
Улазно место инфекције	Pearson Correlation	1	-0,125	0,076	-0,060	-0,108	-0,094	-0,033
	p		0,217	0,459	0,559	0,289	0,358	0,746
Прокалцитонин	Pearson Correlation	-0,125	1	0,094	0,017	-0,065	0,104	-0,071
	p	0,217		0,129	0,778	0,294	0,092	0,467
O_2-	Pearson Correlation	0,076	0,094	1	-0,010	-0,086	0,085	0,124
	p	0,459	0,129		0,865	0,141	0,145	0,208

H_2O_2	Pearson Correlation	-0,060	0,017	-0,010	1	.211**	.441**	-0,049
	p	0,559	0,778	0,865		**0,000**	**0,000**	0,618
NO	Pearson Correlation	-0,108	-0,065	-0,086	.211**	1	.414**	-0,007
	p	0,289	0,294	0,141	**0,000**		**0,000**	0,944
TBARS	Pearson Correlation	-0,094	0,104	0,085	.441**	.414**	1	-0,114
	p	0,358	0,092	0,145	**0,000**	**0,000**		0,245
Хоспитални морталитет	Pearson Correlation	-0,033	-0,071	0,124	-0,049	-0,007	-0,114	1
	p	0,746	0,467	0,208	0,618	0,944	0,245	

Корелационом анализом између улазног места прокалцитонина и активности ензима антиоксидативног система није утврђена значајна повезаност (Табела 19).

Табела 19. Корелациона анализа између улазног места прокалцитонина и активности ензима антиоксидативног система. Постојањем корелације се сматра уколико је p вредност мања од 0,05 (p) а јачина корелације би се изразила кроз коефицијент корелације (R) (у опсегу од -1 до +1, односно од непостојања до јаке линеарне корелације).

		Улазно место инфекције	**Прокалцитонин**	**SOD**	**GSH**	**CAT**	**Хоспитални морталитет**
Улазно место инфекције	Pearson Correlation	1	-0,125	0,031	0,017	-0,015	-0,033
	p		0,217	0,770	0,874	0,887	0,746
Прокалцитонин	Pearson Correlation	-0,125	1	-0,015	-0,032	-0,085	-0,071
	p	0,217		0,812	0,612	0,173	0,467
SOD	Pearson Correlation	0,031	-0,015	1	0,004	0,003	0,037
	p	0,770	0,812		0,944	0,958	0,711

GSH	Pearson Correlation	0,017	-0,032	0,004	1	-0,049	0,033
	p	0,874	0,612	0,944		0,404	0,740
CAT	Pearson Correlation	-0,015	-0,085	0,003	-0,049	1	0,130
	p	0,887	0,173	0,958	0,404		0,192
Хоспитални морталитет	Pearson Correlation	-0,033	-0,071	0,037	0,033	0,130	1
	p	0,746	0,467	0,711	0,740	0,192	

ДИСКУСИЈА

5. ДИСКУСИЈА

Сепса је глобални здравствени проблем (219, 220). Поред сложене савремене терапије, смртност код критично оболелих пацијената остаје један од водећих узрока смрти. (220, 221). На Трећем међународном консензусу о дефиницији сепсе и септичног шока 2016. успостављен је консензус за дефинисање и лечење сепсе. Нова класификација укључује сепсу и септички шок. Сепса је дефинисана као органска дисфункција која угрожава живот изазвана неконтролисаним одговором тела на инфекцију (222). Септични шок је подврста сепсе коју карактерише продубљивање циркулаторне, ћелијске и метаболичке дисфункције и носи већи ризик од фаталног исхода од саме сепсе. Клиничке карактеристике пацијената у септичком шоку су немогућност одржавања средњег артеријског притиска > од 65 mmHg без вазопресора у условима нормоволемије и нивоа лактата у серуму > од 2 mmol /L (223).

Током развоја сепсе долази до поремећаја физиолошких функција међусобно зависних органа, који могу да се крећу од благог степена оштећене функције до потпуног, неповратног затајења органа који се назива синдромом вишеструке дисфункције органа (МОДС). Процена озбиљности стања дисфункције органа и исхода лечења прати се помоћу нумеричког бодовног система названог СОФА скор. Процењују се респираторна функција, коагулациони статус, функција јетре, уринарни систем, стање свести, хемодинамски параметри. Сваком од система се додељује оцена од 1-4 (0 је физиолошко стање) укупан резултат може бити од 6-24 поена. Повећање за > 2 параметра од претходног мерења сматра се позитивним. (224)

Патофизиолошки догађаји током сепсе су сложени. Циљ им је да елиминишу патогене и врате одговор организма у стање хомеостазе. Сепса се развија након што се изгуби контрола организма над одговором на инфекцију. Најчешће последице су оштећење васкуларне пропустљивости праћено циркулаторном нестабилношћу и митохондријска дисфункција која доводи до оштећења ћелијског дисања.

У телу постоји равнотежа између оксидационог стреса и антиоксидативног система. Оксидациони стрес се јавља када нивои прооксиданаса прелазе нивое антиоксиданата, што доприноси септичком процесу и може довести до оштећења органа (226).

У стимулисаним ткивима настаје активација полиморфонуклеарних леукоцита и моноцитно/макрофагни систем. Ова активација доводи до повећане производње реактивних кисеоничких радикала (Реактивних кисеоничних врста - РОС), као и реактивних азотних радикала (Реактивних кисеоничних врста - РОС) (225-227). Сепса је стање у којем се производе велике количине азотног оксида (NO) који имају директан инхибиторни ефекат на респираторни ланац митохондрија и њихова физичка оштећења узрокујући митохондријску и ендотелну дисфункцију која погоршава МОДС (228). Поред тога, истраживање указује на улогу одложене апоптозе неутрофила и продужених одговора неутрофила у неконтролисаном одговору тела на инфекцију (229).

Сходно томе, ранија клиничка испитивања обављена на пацијентима и животињама показала су да током сепсе постоји повећана концентрација прооксиданаса и смањење антиоксидативне заштите. Такође је потврђено да пацијенти са озбиљном сепсом имају виши ниво прооксиданаса од пацијената у групи са сепсом (230).

Рано дијагностиковање сепсе и благовремено започињање антибиотске терапије значајни су за исход лечења пацијената са сепсом и септичким шоком (231). Тренутно се за рану потврду инфекције и оштећења ткива у сепси користе различити биомаркери: Ц-реактивни протеин, ниво леукоцита, ниво лактата, прокалцитонин (PCT).

Према препорукама водича за лечење сепсе из 2012. године, прокалцитонин је предложен као један од биомаркера који је користан као водич за укључивање антибиотске терапије, праћење ефекта и њеног трајања. Концентрација PCT се открива

након 2-4 сата од почетка болести. Највише вредности су у првих 6-24 сата и остају повишене наредних 7 дана (232). Пацијенти са сепсом често се подвргавају хируршким интервенцијама. За ове септичне пацијенте контрола инфекције, која укључује уклањање зараженог и некротичног ткива, хируршку дренажу апсцеса, у комбинацији са раном антимикробном терапијом, од суштинског је значаја за успешно лечење сепсе (233).

У првом делу истраживања пратили смо дистрибуцију основних анамнестичких података и коморбидитета у студијској популацији.

Просечна старост испитаника који нису били оперисани је била виша у односу на оперисане, а такође је примећено да особе које су имале тежу форму болести (септични шок) су биле старије од испитаника код којих се развила сепса. Највећу заступљеност имале су особе мушког пола који нису оперисани а најмању жене које нису оперисане (Графикон 1).

Просечна дужина трајања лечења у јединици интензивне неге била је 14,36 дана код оперисаних пацијената који су имали септични шок, а просечна дужина боравка оперисаних испитаника са сепсом је била 12,29, што је мање (Графикон 21). Укупно трајање хоспиталног лечења испитаника је било сличног трајања код испитаника који имају сепсу и септични шок (Графикон 22). У односу на пријем пацијената, најдужи боравак у болници имали су не-оперисани испитаници са септичним шоком (Графикон 22). Улазно место инфекције и присутни коморбидитети нису значајно корелирали са развојем теже клиничке слике код испитаника.

У другом делу истраживања пратили смо динамику промене прооксидационих маркера и активности антиоксидационих ензима у крви пацијената са сепсом/септичним шоком како би се проверили молекуларни механизми који посредују у патофизиологији настанка сепсе/септичног шока.

Сепса је потенцијално животно угрожавајуће стање са дисрегуларним одговором имуног система организма где се као последица истог развија интензиван оксидациони стрес (234-235). Оксидациони стрес као читава каскада биохемијских реакција представља сложен одговор организма који у основи има ендотелну дисфункцију.

Реактивне врсте кисеоника (РОС) као највећа група прооксиданаса који се могу створити током оксидационог стреса, играју и физиолошку и патофизиолошку улогу у организму. Слободни радикали свакодневно учествују у одбрани домаћина од бактеријских инфекција (236), регулацији васкуларног тонуса и реакцијама адхезије ћелија и делују као сензор за концентрацију кисеоника. Укључени су у стварање деоксирибонуклеотида, производњу простагландина, оксидацију и реакције карбоксилације и хидроксилације које су од суштинске важности за нормалан рад ћелија. У сепси је због свега тога, јако тешко одвојити физиолошку од патофизиолопке улоге истих слободних радикала односно реактивни кисеоничних и азотних врста.

Поред тога, у сепси нарочито, улога имуног система је веома значајна и штити организам од патогених микроорганизама, у циљу одржавања хомеостазе ткива и омогућавању зарастања повреда током читавог живота. Ове разнолике и сложене функције захтевају прецизну контролу ћелијских, метаболичких и биоенергетских путева.

Новија истраживања су боље дефинисала молекуларну основу за то, како сигнали који се налазе ван ћелије контролишу унос, анаболизам и катаболизам хранљивих састојака у базалним, активираним и инфламаторним имунолошким ћелијама.

Ћелије урођеног имуног одговора за своје метаболичке потребе, у мировању, као извор енергије за производњу АТП-а користе оксидативну фосфорилацију и β-оксидацију (101-105).

Након стимулације и активирања леукоцити пребацују свој метаболизам ка аеробној гликолизи у процесу познатом као Варбургов ефекат.

Дакле, инфламаторни одговор организма као и истовремени антиоксидациони потенцијал организма на инфекцију и сепсу је основни патофизиолошки механизам код оболелих у тогу прогресије али терапије болести.

У свакодневној клиничкој пракси, без обзира на улогу оксидационог стреса у патофизиологији сепсе, није уобичајено мерење свих маркера инфламације и маркера оксидационог стреса. Упркос све већим доказима да је оксидациони стрес камен темељац у патогенези сепсе, улога оксидационог стреса у сепси може бити потцењена. На пример, у недавним смерницама за сепсу није истакнут њен значај. У том погледу, клиничари можда нису свесни потенцијално кључне улоге оксидационог стреса у еволуцији сепсе.

Подаци о нивоу прооксиданаса и антиоксиданаса могу у клиничкој пракси водити кориговању и ефикасности терапије. Испробане су многе и разне терапије усмерене на смањење оксидационог стреса са променљивим резултатима. Заправо, код хируршких пацијената процена оксидационог стреса, побољшање разумевања његове улоге, позитивне и негативне, и осмишљавање одговарајућих терапија имају велику клиничку важност и представљају плодна поља за даља истраживања. С друге стране, у различитим стадијумима сепсе, оксидациони стрес такође може бити различит, а подвргавање хируршкој интервенцији и отклањање фокуса, који је покретач инфламације, може бити средство за смањење оксидационог стреса код ових критично болесних испитаника (236).

Ипак, у доступној литератури доступно је мало података о корелацији параметара прокалцитонина и оксидационог стреса. На основу улоге оксидационог стреса у патофизиолошким механизмима сепсе и значаја PCT-а као клинички применљивог биомаркера за рано откривање покретања инфламаторног одговора, циљ овог истраживања био је да испита корелацију између нивоа PCT-а и параметара оксидационог стреса (прооксидани и антиоксиданти) код пацијената са сепсом.

Посебан циљ ове студије био је да истражи везу између биорасположивости маркера оксидационог стреса у плазми и параметара покренутог инфламаторним процесом, као што су PCT и CRP код пацијената са сепсом и септичким шоком. Такође, ова студија је обухватила оперисане и неоперисане пацијенте лечене у јединици интензивне неге где је операција примењена као терапијски поступак у склопу актуелне болести. Оксидациони стрес може негативно утицати на опоравак пацијената у свим обалстима хирургије, укључујући кардиохирургију, општу хирургију, хирургију трауме, ортопедску хирургију, па је из тог разлога било значајно испитати улогу хируршке процедуре као антиоксидационо средство код пацијената код којих је већ нарушена редокс равнотежа услед системске инфламаторне инфекције.

У нашој студији, нивои супероксид анјон радикала били су значајно повишени код неоперисане групе пацијената. Слично, нивои O_2- били су значајно нижи у групи пацијената са септичким шоком у поређењу са неоперисаним пацијентима са сепсом. У оперисаној групи нивои овог маркера нису се значајно променили. Нивои водоник-пероксида значајно су повећани код групе пацијената са септичким шоком који нису оперисане у поређењу са оперисаном групом са септичким шоком. У осталим групама нивои водоник-пероксида нису били значајно промењени.

Са друге стране, биорасположивост азот моноксида није се значајно разликовала ни код једне групе (Графикон 40-45). Индекс липидне пероксидације измерен у облику TBARS-а мерен је у свим групама и установили смо да су нивои TBARS нижи у групи оперисаних пацијената са септичким шоком у поређењу са неоперисаним и оперисаним пацијентима са сепсом (Графикон 40-45).

Дефинитивно, нивои прооксиданата били су већи у шоку у поређењу са сепсом, као што смо и очекивали. Механизми оксидационог стреса у сепси су веома сложени. РОС и РНС играју кључну улогу у еволуцији сепсе, али њихова специфична улога и значај остају нејасни. Клинички значај оксидационог стреса у сепси показује неколико студија. Covlei и сар. открили су да они који су преживели сепсу поседују веће антиоксидативне способности од испитаника код којих је забележен фатални исход (237). Штетни механизми повећаног нивоа прооксиданаса у сепси укључују модификацију протеина, липида и нуклеинских киселина који доприносе дисфункцији ендотела. Поред тога, оштећење гликокаликса и ћелијских спојева између ендотелних ћелија доводе до повећане васкуларне пропустљивости, што је камен темељац развоја сепсе (238). Дакле, читав низ повезаних биохемијских реакција настају након иницијалног оштећења организма услед нагомиланих слободних радикала, што у ситуацијама када је већ наружена редокс равнотежа може бити фатално.

Даље, активност супероксид дисмутазе била је значајно већа код неоперисане групе пацијената са септичким шоком у поређењу са неоперисанима и сепсом и оперисанима и сепсом (Графикон 40-50). Супротно томе, садржај редукованог глутатиона није се значајно разликовао у нашој студији (Графикон 40-50). Такође, промењена је активност каталазе, па смо установили да је најнижи ниво овог ензима био код оперисане групе пацијената са септичким шоком у поређењу са другим групама (Графикон 40-50). У претходној студији прогностички потенцијал антиоксидативних ензима супероксид дисмутаза (SOD) и каталаза (CAT) процењиван је у сепси (26). Концентрације ензима одређене су у узорцима добијеним од септичних пацијената у време дијагнозе. Статистички значајан пораст активности укупног SOD и CAT у плазми пронађен је код септичних пацијената у поређењу са здравим одраслим контролама (26). Слично нашим резултатима, сепса и септички шок били су повезани са нижим нивоом ових ензима у поређењу са здравим учесницима. Такође, хируршка интервенција је била главни фактор за промену нивоа прооксиданата, смислу протекције. Веома важно, током тешких облика сепсе, установили смо различиту активност антиоксидативних ензима. Такође, тешко је рећи у ком степену се мења због одсуства одговарајуће контролне (здраве) групе пацијената, али постоје неки докази у вези са нарушавањем редокс статуса код критично болесних пацијената. Идеално би било да смо имали вредности прооксиданаса и антиоксиданаса код сваког испитаника пре почетка сепсе, па са тим вредностима упоредили редокс стање током сепсе/септичног шока, али то је било неизводљиво јер тешко је предвидети ко од испитаника ће развити системски инфламаторни одговор.

И други аутори су потврдили наше резултате (229, 239). Активност супероксид дисмутазе катализује конверзију O_2- у H_2O_2, CAT посредује разградњом H_2O_2 на воду (H_2O) и кисеоник, а GPx помаже у конверзији H_2O_2 у H_2O. Постоји равнотежа између стварања оксиданата и њиховог чишћења антиоксидантима у нормалним условима. Дефинитивно, код пацијената са септичним шоком приметили смо неуравнотежену редокс хомеостазу и због те лошије прогнозе болести.

Прокалцитонин (PCT) је биомаркер који показује већу специфичност од осталих проинфламаторних маркера (нпр. цитокини) у идентификовању сепсе и може се користити у дијагнози бактеријских инфекција (240). Прокалцитонин такође производе неуроендокрине ћелије плућа и црева и ослобађа се као реактант акутне фазе као одговор на инфламаторне стимулусе, посебно оне бактеријског порекла. Овај повишени ниво прокалцитонина током упале повезан је са бактеријским ендотоксином и инфламаторним цитокинима.

У нашој студији, корелациона анализа потврдила је везу између PCT и маркера оксидативног стреса (241). Као и у претходној студији, чини се да процес пероксидације

липида корелира са степеном инфекције на шта указују високи нивои PCT (242). Због високе стопе смртности код пацијената са сепсом и септичким шоком, веома је важна информација да је PCT добар прогностички маркер, што смо испитивали. Као што смо утврдили, прокалцитонин би могао бити предиктор тока болести, као и прогнозе у различитим фазама септичких поремећаја. Недавне студије показале су значајну корелацију прокалцитонина (PCT) са инфекцијом и сугеришу да је PCT користан за рану дијагнозу системске инфекције (243-248). Рано дијагностиковање и брзи третман инфекције значајно ће побољшати прогнозу и избећи непотребну употребу антибиотика за пацијенте без инфекција.

Са друге стране, CRP није показао сензитивност у погледу процене тока и прогнозе болести Због тога, изоловано посматрање концентрације Ц реактивног протеина има мали клинички значај нарочито код тешких инфекција.

PCT је потврдио позитивну корелацију са вредностима прооксидационим маркера и типом критичне болести, а извођењем хируршке интервенције смањен је настали оксидативни стрес и то нарочито код пацијената са септичким шоком. Прогноза код критично болесних пацијената била је снажно повезана са променама нивоа PCT, али не и са променама концентрација Ц-реактивним протеином.

ЗАКЉУЧЦИ

6. ЗАКЉУЧЦИ

На основу циља истраживања и резултат ове студије, можемо закључити следеће:

1. Нивои прооксидационих маркера (супероксид анјон радикал, водоник пероксид, индекс липидне пероксидације) су били статистички значајно виши у групи пацијената са септичним шоком у поређењу са испитаницима са сепсом.
2. Прокалцитонин је биомаркер који показује већу специфичност од осталих проинфламаторних маркера у идентификовању сепсе и може се користити у дијагнози бактеријских инфекција.
3. Резултати нашег истраживања указују да би прокалцитонин могао бити предиктор тока болести, као и прогнозе у различитим фазама сепсе.
4. Ц реактивни протеин је показао ниску сензитивност у погледу процене стања и прогнозе тока болести.
5. PCT је потврдио позитивну корелацију са прооксидационим маркерима и тежином болести (сепса/септични шок).
6. Извођењем хируршке интервенције смањен је оксидациони стрес код пацијената са септичким шоком.
7. Прогноза исхода болести код пацијента са сепсом била је у позитивној линеарној корелацији са нивом прокалцитонина, док није било корелације исхода са нивоом Ц-реактивног протеина код болесника са сепсом и септичким шоком.
8. Процена инфламаторног одговора код пацијената са сепсом/септичним шоком би се требала вршити уз процену редокс статуса, са циљем процене тежине и прогнозе болести.
9. Значај одређивања параметара редокс статуса код испитаника са сепсом/септичним шоком може имати огроман утицај и на избор терапијске процедуре и значајно утицати на ток лечења и оздрављења.

ЛИТЕРАТУРА

7. ЛИТЕРАТУРА

1. Majno G. The ancient riddle of sigma eta psi iota sigma (sepsis). J Infect Dis 1991; 163(5): 937-945.
2. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992; 101(6): 1644–1655.
3. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. Crit Care Clin 2009; 25: 83–101.
4. Esposito S, De Simone G, Boccia G, De Caro F, Pagliano P. Sepsis and septic shock: New definitions, new diagnostic and therapeutic approaches. J Glob Antimicrob Resist. 2017; 10: 204-212.
5. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med. 1992; 20(6): 864-874.
6. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. International Sepsis Definitions Conference, 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS. Intensive Care Med 2003; 29: 530–538.
7. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS.2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Crit Care Med. 2003; 31: 1250–1256.
8. Dellinger RP, Levy MM, Carleet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, Reinhart K,Angus DC, Gerlach H, Vincent JL, et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock. Critical Care Med. 2008; 34(1): 17–60.
9. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Djillali A, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. Critical Care Med. 2013; 41(2): 580–637.
10. Levy MM, Dellinger RP, Townsend SR, Linde-Zwirble WT, Marshall JC, Bion J,Schorr C, Artigas A, Ramsay G, Beale R, Parker MM, Gerlach H, Reinhart K, et al. SSC Results of an international guideline-based performance improvement program targeting severe sepsis. Crit Care Med. 2010; 38(2): 367–374.
11. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). JAMA. 2016; 315(8): 801-810.
12. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, et al. Assessment of clinical criteria for sepsis: for the third international consensus definition for sepsis and septic shock (Sepsis-3). JAMA. 2016; 315(8): 762-774.
13. Seymour CW, Coopersmith CM, Deutschman CS, et al. Application of a framework to assess the usefulness of alternative sepsis criteria. Crit Care Med. 2016; 44(3): e122-e130.
14. Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, Seymour CW, Liu VX, Deutschman CS, Angus DC, Rubenfeld GD, Singer M; Sepsis Definitions Task Force. Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016; 315(8): 775-787.
15. Leligdowicz, A., Matthay, M.A. Heterogeneity in sepsis: new biological evidence with clinical applications. Crit Care. 2019; 23(1): 80.

16. Zhang Z, Zhang G, Goyal H, Mo L, Hong Y.Identification of subclasses of sepsis that showed different clinical outcomes and responses to amount of fluid resuscitation: a latent profile analysis.Crit Care. 2018; 22(1): 347.
17. Seymour CW, Kennedy JN, Wang S, et al. Derivation, Validation, and Potential Treatment Implications of Novel Clinical Phenotypes for Sepsis. JAMA. 2019; 321(20): 2003–2017.
18. Gårdlunda B, .Dmitrieva NO et al. Six subphenotypes in septic shock: Latent class analysis of the PROWESS Shock study. J Crit Care. 2018 Oct;47:70-79.
19. Antcliffe, David B; Gordon, Anthony C. Why Understanding Sepsis Endotypes Is Important for Steroid Trials in Septic Shock Crit Care Med. 2019; 47(12): 1782-1784.
20. Manu Shankar-Hari 1 2, Gordon D Rubenfeld, Population Enrichment for Critical Care Trials: Phenotypes and Differential Outcomes. Curr Opin Crit Care. 2019; 25(5): 489-497.
21. Mellhammar, Lisa et al. Sepsis Incidence: A Population-Based Study. Open Forum Infect Dis. 2016; 3(4): ofw207.
22. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States:analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med. 2001; 29(7): 1303-1310.
23. Liu V, Escobar GJ, Greene JD, et al. Hospital deaths in patients with sepsis from 2 independent cohorts. JAMA 2014; 312: 90–92.
24. Vogel L. Sepsis kills one million newborns a year: WHO. CMAJ. 2017; 189(40): E1272.
25. Todorovic Markovic M, Pedersen C, Gottfredsson M, Todorovic Mitic M, Gaini S. Epidemiology of community-acquired sepsis in the Faroe Islands: a prospective observational study. Infect Dis (Lond). 2019; 51: 38–49.
26. Yébenes JC, Carlos J, Rodriguez R, Ferrer R, Bosch A. Epidemiology of sepsis in Catalonia: analysis of incidence and outcomes in a European setting. Ann Intensive Care. 2017; 7: 1–10.
27. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL. Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. Crit Care Med. 2007; 35: 1244–50.
28. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000.N Engl J Med. 2003; 348: 1546–1554.
29. Vincent JL, Marshall JC, Namendys-Silva SA, et al. Assessment of the worldwide burden of critical illness: the intensive care over nations (ICON) audit. Lancet Respir Med. 2014;2(5):380-386.
30. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NKJ, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. Am J Respir Crit Care Med. 2016; 193(3): 259-272.
31. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, Colombara DV, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality,1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study; Lancet. 2020; 395(10219): 200-211.
32. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study. Crit Care Med. 2006; 34(2): 344-353.
33. Vincent J, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. JAMA. 2009; 302(21): 2323-2329.
34. Phua J, Ngerng W, See K, et al. Characteristics and outcomes of culture-negative versus culture-positive severe sepsis. Crit Care. 2013; 17(5): R202.
35. Gupta S, Sakhuja A, Kumar G, McGrath E, Nanchal RS, Kashani KB. Culture-Negative Severe Sepsis: Nationwide Trends and Outcomes. Chest. 2016; 150(6): 1251-1259.
36. Girard TD, Opal SM, Ely EW. Insights into Severe Sepsis in Older Patients: From Epidemiology to Evidence-Based Management. Clin Infect Dis. 2005; 40(5): 719-727.

37. Gruver AL, Hudson LL, Sempowski GD. Immunosenescence of ageing. J Pathol. 2007; 211(2): 144-156.
38. Heffner AC, Horton JM, Marchick MR, Jones AE. Etiology of illness in patients with severe sepsis admitted to the hospital from the emergency department. Clin Infect Dis. 2010; 50(6): 814-820.
39. Abe et al. Variations in infection sites and mortality rates among patients in intensive care units with severe sepsis and septic shock in Japan:Journal of Intensive Care.c2019; 7: 28
40. Grimaldi D, Louis S, Pène F, Sirgo G, Rousseau C, Claessens YE, Vimeux L, Cariou A, Mira JP, Hosmalin A, Chiche JD. Profound and persistent decrease of circulating dendritic cells is associated with ICU-acquired infection in patients with septic shock. Intensive Care Med. 2011; 37(9): 1438-1446.
41. Nedeva C, Menassa J, Puthalakath H. Sepsis: Inflammation Is a Necessary Evil. Front Cell Dev Biol. 2019; 7: 108.
42. Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. Crit Care Med. 1996; 24(7): 1125–1128.
43. Ward NS, Casserly B, Ayala A. The compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS) in critically ill patients. Clin Chest Med. 2008; 29(4): 617–625.
44. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. Nat Rev Immunol. 2013; 13(12) :862-874.
45. Tamayo E, Fernández A, Almansa R, et al. Pro- and anti-inflammatory responses are regulated simultaneously from the first moments of septic shock. Eur Cytokine Netw. 2011; 22(2): 82-87.
46. Novotny AR, Reim D, Assfalg V, et al. Mixed antagonist response and sepsis severity-dependent dysbalance of pro- and anti-inflammatory responses at the onset of postoperative sepsis. Immunobiology. 2012; 217(6): 616-621.
47. Weighardt H, Heidecke CD, Emmanuilidis K, et al. Sepsis after major visceral surgery is associated with sustained and interferon-gamma-resistant defects of monocyte cytokine production. Surgery. 2000; 127(3): 309-315.
48. Singer M. Mitochondrial function in sepsis: acute phase versus multiple organ failure. Crit Care Med. 2007; 35(9 Suppl): S441-448.
49. Delano MJ, Ward PA. The immune system's role in sepsis progression, resolution, and long-term outcome. Immunol Rev. 2016; 274(1): 330-353.
50. Colbert JF, Schmidt EP. Endothelial and Microcirculatory Function and Dysfunction in Sepsis. Clin Chest Med. 2016; 37: 263–275.
51. Gentile LF, Cuenca AG, Efron PA, Ang D, Bihorac A, McKinley BA, Moldawer LL, Moore FA. Persistent inflammation and immunosuppression: a common syndrome and new horizon for surgical intensive care. J Trauma Acute Care Surg. 2012; 72(6): 1491-1501.
52. Mogensen TH. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. Clin Microbiol Rev. 2009; 22(2): 240-273.
53. Hauser CJ, Otterbein LE. Danger signals from mitochondrial DAMPS in trauma and post-injury sepsis. Eur J Trauma Emerg Surg. 2018; 44(3): 317-324.
54. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. Cell. 2010; 140(6): 805-820.
55. Scumpia PO, Kelly-Scumpia KM, Delano MJ, Weinstein JS, Cuenca AG, Al-Quran S, Bovio I, Akira S, Kumagai Y, Moldawer LL. Cutting edge: bacterial infection induces hematopoietic stem and progenitor cell expansion in the absence of TLR signaling. Journal of immunology. 2010; 184(5): 2247–2251.
56. Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. Nat Rev Immunol. 2008; 8:776–787.

57. Chan JK, Roth J, Oppenheim JJ, Tracey KJ, Vogl T, Feldmann M, et al. Alarmins: Awaiting a clinical response. J Clin Invest. 2012; 122(8): 2711–2719.
58. Opitz B, Eitel J, Meixenberger K, Suttorp N. Role of Toll-like receptors, NOD-like receptors and RIG-I-like receptors in endothelial cells and systemic infections. Thromb Haemost. 2009; 102: 1103–1109.
59. Faure E, et al. Bacterial lipopolysaccharide activates NF-kappaB through toll-like receptor 4 (TLR-4) in cultured human dermal endothelial cells. Differential expression of TLR-4 and TLR-2 in endothelial cells. J Biol Chem. 2000; 275: 11058–11063.
60. Unnewehr H, et al. Changes and regulation of the C5a receptor on neutrophils during septic shock in humans. J Immunol. 2013; 190: 4215–4225.
61. Link DC. Neutrophil homeostasis: a new role for stromal cell-derived factor-1. Immunol Res. 2005; 32: 169–178.
62. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. Nat Rev Immunol. 2006; 6: 173–182.
63. Brinkmann V, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. Science. 2004; 303:1532–1535.
64. Remick DG. Pathophysiology of sepsis. Am J Pathol. 2007; 170(5) :1435-1444.
65. Yonathan F. ; Najla L.; Evguenia K. et al. Prognostic Accuracy of Sepsis-3 Criteria for In-Hospital Mortality Among Patients With Suspected Infection Presenting to the Emergency Department. JAMA. 2017; 317(3): 301-308.
66. Kangelaris KN, Prakash A, Liu KD, Increased expression of neutrophil-related genes in patients with early sepsis-induced ARDS. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2015; 308(11): L1102–L1113.
67. Hotchkiss RS, Nicholson DW. Apoptosis and caspases regulate death and inflammation in sepsis. Nat Rev Immunol. 2006; 6: 813–822.
68. Delano MJ, et al. Sepsis induces early alterations in innate immunity that impact mortality to secondary infection. J Immunol. 2011; 186: 195–202.
69. Nacionales DC, et al. Aged mice are unable to mount an effective myeloid response to sepsis. J Immunol. 2014; 192: 612–622.
70. Eash KJ, Greenbaum AM, Gopalan PK, Link DC. CXCR2 and CXCR4 antagonistically regulate neutrophil trafficking from murine bone marrow. J Clin Invest. 2010; 120: 2423–2431.
71. Delano MJ, et al. Neutrophil mobilization from the bone marrow during polymicrobial sepsis is dependent on CXCL12 signaling. J Immunol. 2011; 187: 911–918.
72. Alves-Filho JC, et al. Regulation of chemokine receptor by Toll-like receptor 2 is critical to neutrophil migration and resistance to polymicrobial sepsis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009; 106: 4018–4023.
73. Wilkinson TS, et al. Ventilator-associated pneumonia is characterized by excessive release of neutrophil proteases in the lung. Chest. 2012; 142: 1425–1432.
74. Cheadle WG, Wilson M, Hershman MJ, Bergamini D, Richardson JD, Polk HC Jr. Comparison of trauma assessment scores and their use in prediction of infection and death. Ann Surg. 1989; 209: 541–545.
75. Livingston DH, Appel SH, Wellhausen SR, Sonnenfeld G, Polk HC Jr. Depressed interferon gamma production and monocyte HLA-DR expression after severe injury. Arch Surg. 1988; 123: 1309–1312.
76. Munoz C, Carlet J, Fitting C, Misset B, Bleriot JP, Cavaillon JM. Dysregulation of in vitro cytokine production by monocytes during sepsis. J Clin Invest. 1991; 88: 1747–1754. [
77. Venet F, et al. Human CD4+CD25+ regulatory T lymphocytes inhibit lipopolysaccharide-induced monocyte survival through a Fas/Fas ligand-dependent mechanism. J Immunol. 2006; 177: 6540–6547.

78. Monneret G, Venet F, Pachot A, Lepape A. Monitoring immune dysfunctions in the septic patient: a new skin for the old ceremony. Mol Med. 2008; 14: 64–78.
79. Chiche L, et al. Interferon-gamma production by natural killer cells and cytomegalovirus in critically ill patients. Crit Care Med. 2012; 40: 3162–3169.
80. Broquet A, Roquilly A, Jacqueline C, Potel G, Caillon J, Asehnoune K. Depletion of natural killer cells increases mice susceptibility in a Pseudomonas aeruginosa pneumonia model. Crit Care Med. 2014; 42: e441–450.
81. Pastille E, et al. Modulation of dendritic cell differentiation in the bone marrow mediates sustained immunosuppression after polymicrobial sepsis. J Immunol. 2011; 186: 977–986.
82. Efron PA, et al. Characterization of the systemic loss of dendritic cells in murine lymph nodes during polymicrobial sepsis. J Immunol. 2004; 173: 3035–3043.
83. Scumpia PO, et al. CD11c+ dendritic cells are required for survival in murine polymicrobial sepsis. J Immunol. 2005; 175: 3282–3286.
84. Mathias B, Delmas AL, Ozrazgat-Baslanti T, Vanzant EL, Szpila BE, Mohr AM, Moore FA, Brakenridge SC, Brumback BA, Moldawer LL, Efron PA; the Sepsis, Critical Illness Research Center Investigators. Human Myeloid-derived Suppressor Cells are Associated With Chronic Immune Suppression After Severe Sepsis/Septic Shock. Ann Surg. 2017; 265(4) :827-834.
85. Delano MJ, et al. MyD88-dependent expansion of an immature GR-1(+)CD11b(+) population induces T cell suppression and Th2 polarization in sepsis. J Exp Med. 2007; 204: 1463–1474.
86. Ochoa JB, et al. Arginase I expression and activity in human mononuclear cells after injury. Ann Surg. 2001; 233: 393–399.
87. Talmor M, Hydo L, Barie PS. Relationship of systemic inflammatory response syndrome to organ dysfunction, length of stay, and mortality in critical surgical illness: effect of intensive care unit resuscitation. Arch Surg. 1999; 134(1): 81-7.
88. Mira JC, Gentile LF, Mathias BJ, et al. Sepsis Pathophysiology, Chronic Critical Illness, and Persistent Inflammation-Immunosuppression and Catabolism Syndrome. Crit Care Med. 2017; 45(2): 253-262.
89. Partrick DA, Moore FA, Moore EE, Barnett CC Jr, Silliman CC. Neutrophil priming and activation in the pathogenesis of postinjury multiple organ failure. New Horiz. 1996 ;4(2) :194-210.
90. Winters BD, Eberlein M, Leung J, Needham DM, Pronovost PJ, Sevransky JE. Long-term mortality and quality of life in sepsis: a systematic review. Crit Care Med. 2010; 38:1276–1283.
91. Moore FA, Moore EE. Envolving concepts in the pathogenesis of postinjury multiple organ failure. Surg Clin North Am. 1995; 75: 257–277.
92. Hotchkiss RS, Coopersmith CM, Karl IE. Prevention of lymphocyte apoptosis--a potential treatment of sepsis? Clin Infect Dis. 2005; 41(Suppl 7):S465–469.
93. Lang JD, Matute-Bello G. Lymphocytes, apoptosis and sepsis: making the jump from mice to humans. Crit Care. 2009; 13: 109.
94. Hotchkiss RS, Swanson PE, Cobb JP, Jacobson A, Buchman TG, Karl IE. Apoptosis in lymphoid and parenchymal cells during sepsis: findings in normal and T- and B-cell-deficient mice. Crit Care Med. 1997; 25: 1298–1307.
95. Gutcher I, Becher B. APC-derived cytokines and T cell polarization in autoimmune inflammation. J Clin Invest. 2007; 117: 1119–1127.
96. Galley HF. Bench-to-bedside review: Targeting antioxidants to mitochondria in sepsis. Crit Care. 2010;14(4): 230.
97. Boomer JS, et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. JAMA. 2011; 306: 2594–2605.

98. Smeekens SP, et al. Functional genomics identifies type I interferon pathway as central for host defense against Candida albicans. Nat Commun. 2013; 4: 1342.
99. Venet F, et al. Increased circulating regulatory T cells (CD4(+)CD25 (+)CD127 (-)) contribute to lymphocyte anergy in septic shock patients. Intensive Care Med. 2009; 35: 678–686.
100. Mauri C, Bosma A. Immune regulatory function of B cells. Annu Rev Immunol. 2012; 30: 221–241.
101. Kempner W. The Nature of Leukemic Blood Cells as Determined by Their Metabolism. J Clin Invest. 1939; 18: 291–300.
102. Levene PA, Meyer GM. On the action of leucocytes on glucose. Journal of Biological Chemistry. 1912; 12: 265–273.
103. Ardawi MS, Newsholme EA. Maximum activities of some enzymes of glycolysis, the tricarboxylic acid cycle and ketone-body and glutamine utilization pathways in lymphocytes of the rat. Biochem J. 1982; 208: 743–748.
104. Newsholme EA, Crabtree B, Ardawi MS. Glutamine metabolism in lymphocytes: its biochemical, physiological and clinical importance. Q J Exp Physiol. 1985; 70: 473–489.
105. Vachharajani V, Liu T, McCall CE. Epigenetic coordination of acute systemic inflammation: potential therapeutic targets. Expert Rev Clin Immunol. 2014; 10: 1141–1150.
106. Palsson-McDermott EM, O'Neill LA. The Warburg effect then and now: from cancer to inflammatory diseases. Bioessays. 2013; 35: 965–973.
107. Warburg O. On the origin of cancer cells. Science. 1956; 123: 309–314.
108. Rodriguez-Prados JC, et al. Substrate fate in activated macrophages: a comparison between innate, classic, and alternative activation. J Immunol. 2010; 185: 605–614.
109. Tannahill GM, et al. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1beta through HIF-1alpha. Nature. 2013; 496: 238–242.
110. Freemerman AJ, et al. Metabolic reprogramming of macrophages: glucose transporter 1 (GLUT1)-mediated glucose metabolism drives a proinflammatory phenotype. J Biol Chem. 2014; 289: 7884–7896.
111. Singer M. The role of mitochondrial dysfunction in sepsis-induced multi-organ failure. Virulence. 2014; 5: 66–72.
112. Brealey D, et al. Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock. Lancet. 2002; 360:219–223.
113. Hotchkiss RS, Strasser A, McDunn JE, Swanson PE. Cell death. N Engl J Med. 2009; 361: 1570–1583.
114. Srinivasan S, Avadhani NG. Cytochrome c oxidase dysfunction in oxidative stress. Free Radic Biol Med. 2012; 53: 1252–1263.
115. Larsen FJ, Schiffer TA, Weitzberg E, Lundberg JO. Regulation of mitochondrial function and energetics by reactive nitrogen oxides. Free Radic Biol Med. 2012; 53: 1919–1928.
116. Szabo C, Modis K. Pathophysiological roles of peroxynitrite in circulatory shock. Shock. 2010; 34(Suppl 1):4–14.
117. Santos SS, Brunialti MK, Rigato O, Machado FR, Silva E, Salomao R. Generation of nitric oxide and reactive oxygen species by neutrophils and monocytes from septic patients and association with outcomes. Shock. 2012; 38: 18–23.
118. Ojeda Ojeda M, et al. Temporal trends of circulating nitric oxide and pro-inflammatory cytokine responses ex vivo in intra-abdominal sepsis: results from a cohort study. Inflamm Res. 2011; 60: 289–297.
119. Andrades ME, Morina A, Spasic S, Spasojevic I. Bench-to-bedside review: sepsis - from the redox point of view. Crit Care. 2011; 15:230. [PubMed: 21996422] , 89) 89. Dare

AJ, et al. A systematic review of experimental treatments for mitochondrial dysfunction in sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. Free Radic Biol Med. 2009; 47: 1517–1525.
120. Tracey KJ. The inflammatory reflex. Nature. 2002; 420: 853–859.
121. Tracey KJ. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. J Clin Invest. 2007; 117: 289–296.
122. Borovikova LV, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. Nature. 2000; 405: 458–462.
123. Ulloa L. The vagus nerve and the nicotinic anti-inflammatory pathway. Nat Rev Drug Discov. 2005; 4: 673–684.
124. Tracey KJ. Reflex control of immunity. Nat Rev Immunol. 2009; 9: 418–428.
125. van Westerloo DJ, et al. The cholinergic anti-inflammatory pathway regulates the host response during septic peritonitis. J Infect Dis. 2005; 191: 2138–2148.
126. Kohoutova M, Horak J, Jarkovska D, Martinkova V, Tegl V, Nalos L, et al. Vagus Nerve Stimulation Attenuates Multiple Organ Dysfunction in Resuscitated Porcine Progressive Sepsis. Crit Care Med. 2019; 47(6): e461-e469.
127. Rosas-Ballina M, Tracey KJ. Cholinergic control of inflammation. J Intern Med. 2009; 265: 663–679.
128. Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES. The sympathetic nerve--an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. Pharmacol Rev. 2000; 52: 595–638.
129. Muthu K, et al. Thermal injury and sepsis modulates beta-adrenergic receptors and cAMP responses in monocyte-committed bone marrow cells. J Neuroimmunol. 2005; 165: 129–138.
130. Cohen MJ, Shankar R, Stevenson J, Fernandez R, Gamelli RL, Jones SB. Bone marrow norepinephrine mediates development of functionally different macrophages after thermal injury and sepsis. Ann Surg. 2004; 240: 132–141.
131. Rudiger A, Singer M. Mechanisms of sepsis-induced cardiac dysfunction. Crit Care Med. 2007; 35: 1599–1608.
132. Jacobi J. Pathophysiology of sepsis. Am J Health Syst Pharm. 2002; 59 Suppl 1: S3-8.
133. Grassme H, Jendrossek V, Gulbins E: Molecular mechanisms of bacteria induced apoptosis. Apoptosis. 2001; 6:441–445
134. Oberholzer C, Oberholzer A, Clare-Salzler M, Moldawer LL: Apoptosis in sepsis: a new target for therapeutic exploration. FASEB J 2001; 15: 879–892
135. Wesche DE, Lomas-Neira JL, Perl M, Chung CS, Ayala A: Leukocyte apoptosis and its significance in sepsis and shock. J Leukoc Biol. 2005; 78: 325–337
136. Mustafić S, Brkić S, Prnjavorac B, Sinanović A, Porobić Jahić H, Salkić S. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin in patients with sepsis. Med Glas (Zenica). 2018; 15(2): 93-100.
137. Uzzan B, Cohen R, Nicolas P, et al. Procalcitonin as a diagnostic test for sepsisin critical ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analisis. 2006; 34(7): 1996-2003.
138. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. Crit Care Med. 2006; 34: 1589-1596.
139. Pierrakos C, Vincent JL. Sepsis biomarkers: a review. Crit Care. 2010; 14: R15.
140. Pierrakos et al. Biomarkers of sepsis: time for a reappraisal. Critical Care. 2020; 24:287
141. Janković B, Veljković D, Pašić S, Rakonjac Z, Jevtić D, Martić J. C reaktivni protein i citokini u dijagnostici neonatalne sepse. Med Pregl. 2006; 59: 545–549.

142. Póvoa P. C-reactive protein: a valuable marker of sepsis. Intensive Care Med. 2002; 28: 235–243.
143. Oberhoffer M, Vogelsang H, Russwurm S, Hariung T, Reinhart K. Outcome prediction by traditional and new markers of inflammation in patients with sepsis. Clin Chem Lab Med. 1999; 37: 363–368.
144. Standage WS, Wong RH. Biomarkers for pediatric sepsis and septic shock. Expert Rev Anti Infect Ther. 2011; 9: 71–79.
145. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2014; 6(10): a016295.
146. Finnerty CC, Herndon DN, Chinkes DL, Jeschke MG. Serum cytokine differences in severely burned children with and without sepsis. Shock. 2007; 27 : 4–9.
147. Djordjevic D, Pejovic J, Surbatovic M, et al. Prognostic Value and Daily Trend of Interleukin-6, Neutrophil CD64 Expression, C-Reactive Protein and Lipopolysaccharide-Binding Protein in Critically Ill Patients: Reliable Predictors of Outcome or Not? J Med Biochem. 2015; 34(4): 431-439.
148. Bickel M. The role of interleukin-8 in inflammation and mechanisms of regulation. J Periodontol. 1993; 64(5 Suppl): 456-460.
149. Vlahopoulos S, Boldogh I, Casola A, Brasier AR. Nuclear factor-kappaB-dependent induction of interleukin-8 gene expression by tumor necrosis factor alpha: evidence for an antioxidant sensitive activating pathway distinct from nuclear translocation. Blood. 1999; 94(6): 1878-1889.
150. Hack CE, Hart M, van Schijndel RJ, et al. Interleukin-8 in sepsis: relation to shock and inflammatory mediators. Infect Immun. 1992; 60(7): 2835-2842.
151. Kraft R, Herndon DN, Finnerty CC, Cox RA, Song J, Jeschke MG. Predictive Value of IL-8 for Sepsis and Severe Infections After Burn Injury: A Clinical Study. Shock. 2015; 43(3): 222-227.
152. Damas P, Reuter A, Gysen P, et al. Tumor necrosis factor and interleukin-1 serum levels during severe sepsis in humans. Critical Care Medicine. 1989; 17(10): 975-978.
153. Davis BH, Olsen SH, Ahmad E, Bigelow NC. Neutrophil CD64 is an improved indicator of infection or sepsis in emergency department patients. Arch Pathol Lab Med. 2006; 130: 654–661.
154. Hoffmann J. Neutrophil CD64 as a sepsis biomarker. Biochem Med. 2011; 21(3): 282–90.
155. Eschborn S, Weitkamp JH. Procalcitonin versus C-reactive protein: review of kinetics and performance for diagnosis of neonatal sepsis. J Perinatol. 2019; 39(7): 893-903.
156. Rowland T, Hilliard H, Barlow G. Procalcitonin: potential role in diagnosis and management of sepsis. Adv Clin Chem. 2015; 68: 71-86.
157. Kondo Y, Umemura Y, Hayashida K, Hara Y, Aihara M, Yamakawa K. Diagnostic value of procalcitonin and presepsin for sepsis in critically ill adult patients: a systematic review and meta-analysis. J Intensive Care. 2019; 15; 7:22.
158. Rapsang AG, Shyam DC. Scoring systems in the intensive care unit: A compendium. Indian J Crit Care Med. 2014; 18(4): 220-228.
159. Gortzis LG, Sakellaropoulos F, Ilias I, Stamoulis K, Dimopoulou I. Predicting ICU survival: a meta-level approach. BMC Health Serv Res. 2008; 26 (8): 157.
160. Donahoe L, McDonald E, Kho ME, Maclennan M, Stratford PW, Cook DJ. Increasing reliability of APACHE II scores in a medical-surgical intensive care unit: a quality improvement study. Am J Crit Care. 2009; 18(1): 58–64.
161. Vincent JL, Moreno R, Takala J et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group

on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. Intensive Care Med. 1996; 22(7): 707-710
162. Gando S, Shiraishi A, Abe T, et al. Japanese Association for Acute Medicine (JAAM) Sepsis Prognostication in Intensive Care Unit and Emergency Room (SPICE) (JAAM SPICE) Study Group. The SIRS criteria have better performance for predicting infection than qSOFA scores in the emergency department. Sci Rep. 2020; 10(1): 8095.
163. Vincent JL, de Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, Sprung CL, Colardyn F, Blecher S. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. Crit Care Med. 1998; 26(11): 1793-800.
164. Akavipat P, Thinkhamrop J, Thinkhamrop B, Sriraj W. Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (Apache) Ii Score - The Clinical Predictor In Neurosurgical Intensive Care Unit. Acta Clin Croat. 2019; 58(1): 50-56.
165. Naqvi IH, Mahmood K, Ziaullaha S, Kashif SM, Sharif A. Better prognostic marker in ICU - APACHE II, SOFA or SAP II!. Pak J Med Sci. 2016;32(5):1146-1151. doi:10.12669/pjms.325.10080
166. Nohl H, Kozlov AV, Gille L et all. Cell respiration and formation of reactive oxygen species: facts and artifacts. Biochem Soc Trans. 2003; 31 (6): 1308-1311
167. Đukić M, Ninković M, Jovanović M. Oxidative stress: Clinical diagnostic significance. Journal of Medical Biochemistry 2008; 27(4): 409-25.
168. Li R, Jia Z, Trush MA. Defining ROS in Biology and Medicine. React Oxyg Species (Apex). 2016; 1(1): 9-21.
169. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets,and their implication in various diseases. Indian J Clin Biochem. 2015; 30(1): 11-26.
170. Kotsonis P, Frey A et al. Autoinhibition of neuronal nitric oxide synthase: distinct effects of reactive nitrogen and oxygen species on onzytne activity. Biochem J. 1999; 340: 745-752
171. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. Annu Rev Nutr. 1996;1 6: 33-50.
172. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. Plant Physiol 2006; 141(2): 312-22.
173. Pelletier M, Lepow TS, Billingham LK, Murphy MP, Siegel RM. New tricks from an old dog: mitochondrial redox signaling in cellular inflammation. Semin Immunol. 2012; 24(6): 384-392.
174. Muller F. The nature and mechanism of superoxide production by the electron transport chain: Its relevance to aging J Am Aging Assoc. 2000; 23(4): 227-253.
175. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. Int J Biomed Sci. 2008; 4(2): 89-96.
176. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. Mol Cell Biochem. 2004; 266: 37–56.
177. Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MD, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Review. Int J Biochem Cell Biol. 2007; 39: 44–84.
178. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Review. Physiol Rev. 2002; 82: 47–95.
179. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. Physiol. Rev. 2007; 87: 315–424.
180. Genestra M. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. Review. Cell Signal. 2007; 19: 1807–1819.

181. Bagchi K, Puri S. Free radicals and antioxidants in health and disease. East Mediterr Health J. 1998; 4: 350–360
182. Sies H, Jones DP. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. Nat Rev Mol Cell Biol. 2020; 21(7): 363-383.
183. Nagar H, Piao S, Kim CS. Role of Mitochondrial Oxidative Stress in Sepsis. Acute Crit Care. 2018; 33(2): 65-72.
184. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. Review. Crit Rev Food Sci Nutr. 2004; 44: 275–295.
185. Cohen G. Enzymatic/nonenzymatic sources of oxyradicals and regulation of antioxidant defenses. Ann N Y Acad Sci. 1994; 738: 8-14.
186. Colak E. New markers of oxidative damage to macromolecules. Journal of Medical Biochemistry. 2008; 27(1): 1–16.
187. Das KC, Lewis-Molock Y, White CW. Elevation of manganese superoxide dismutase gene expression by thioredoxin. Am J Respir Cell Mol Biol. 1997; 17(6): 713-726.
188. Arosio P, Levi S. Ferritin, iron homeostasis, and oxidative damage. Free Radic Biol Med. 2002; 33(4): 457-463.
189. Kuhn SO, Meissner K, Mayes LM, Bartels K. Vitamin C in sepsis. Curr Opin Anaesthesiol. 2018; 31(1): 55-60.
190. Carr AC, Shaw GM, Fowler AA, Natarajan R. Ascorbate-dependent vasopressor synthesis: a rationale for vitamin C administration in severe sepsis and septic shock? Crit Care. 2015; 19: 418.
191. Galley HF, Howdle PD, Walker BE, Webster NR, The effects of intravenous antioxidants in patients with septic shock.Free Radic Biol Med. 1997; 23(5): 768-774
192. Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis . Proc Natl Acad Sci USA 1981; 78: 6858–6862
193. Ok EJ, Kim K, Park SB. Association between Serum Uric Acid and Oxidative Stress in Korean Adults. Korean J Fam Med. 2018; 39(5): 295-299.
194. Ogilvie AC, Groeneveld AB, Straub JP, Thijs LG. Plasma lipid peroxides and antioxidants in human septic shock. Intensive Care Med. 1991; 17: 40–44.
195. Cowley HC, Bacon PJ, Goode HF, Webster NR, Jones JG, Menon DK. Plasma antioxidant potential in severe sepsis: a comparison of survivors and nonsurvivors. Crit Care Med. 1996; 24: 1179–1183.
196. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, Buchman TG, Karl IE. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. Crit Care Med. 1999; 27(7): 1230-1251.
197. Vaya J. Exogenous markers for the characterization of human diseases associated with oxidative stress. Biochimie 2013; 95(3): 578-584.
198. Robinson JM. Reactive oxygen species in phagocytic leukocytes. Histochem Cell Biol. 2008; 130(2): 281-297.
199. Pober JS, Cotran RS. The role of endothelial cells in inflammation. Transplantation. 1990; 50(4): 537-544.
200. Abbas A. Lichtman A. Pillai S. Basic immunology; Functions and Disorders of the Immune System. Elsevier Philadelphia 4th edition, update 2012,
201. Zimmerman GA, Prescott SM, McIntyre TM. Endothelial cell interactions with granulocytes: tethering and signaling molecules. Immunol Today. 1992; 13(3): 93-100.
202. Williams TJ, Hellewell PG. Endothelial cell biology. Adhesion molecules involved in the microvascular inflammatory response. Am Rev Respir Dis. 1992; 146(5 Pt 2): S45-50.
203. Gee MH, Albertine KH. Neutrophil-endothelial cell interactions in the lung. Annu Rev Physiol. 1993; 55: 227-248.

204. Kohoutová M, Dejmek J, Tůma Z, Kuncová J. Variability of mitochondrial respiration in relation to sepsis-induced multiple organ dysfunction. Physiol Res. 2018; 67(Suppl 4): S577-S592.
205. Karlsson M, Hara N, Morata S, Sjövall F, Kilbaugh T, Hansson MJ, Uchino H, Elmér E. Diverse and Tissue-Specific Mitochondrial Respiratory Response in a Mouse Model Of Sepsis-Induced Multiple Organ Failure. Shock. 2016; 45(4): 404-410.
206. Soo A, Zuege DJ, Fick GH, Niven DJ, Berthiaume LR, Stelfox HT, Doig CJ. Describing organ dysfunction in the intensive care unit: a cohort study of 20,000 patients. Crit Care. 2019; 23(1): 186.
207. Oda S, Hirasawa H Sugai T, Shiga H, Nakanishi K, Kitamura N, Sadahiro T, Hirano T. Comparison of Sepsis-related Organ Failure Assessment (SOFA) score and CIS (cellular injury score) for scoring of severity for patients with multiple organ dysfunction syndrome (MODS). Intensive Care Med. 2000; 26(12): 1786-1793.
208. Ferreira LF, Bota PD, Bross A, Mélot C, Vincent JL. Serial Evaluation of the SOFA Score to Predict Outcome in Critically Ill Patients. JAMA. 2001; 286(14): 1754-1758.
209. Sekulić A, Trpković S, ,Pavlović A, Marinković O. Primena numericko bodovnog sistema za procenu organske disfunkcije uzrokovane sepsom u jedinici intenzivnog lecenja. doi:10.5937/pramed1604007S
210. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 1979; 95: 351–358.
211. Pick E, Keisari Y. A simple colometric method for the measurement of hydrogen peroxide by cells in culture. J Immunol Methods 1980; 38: 161–70.
212. Auclair C, Voisin E. Nitrobluetetrazolium reduction. In: Greenwald RA (ed) Handbook of methods for oxygen radical research. CRP Press, Boca Raton 1985: pp 123–32.
213. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PI, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids. Anal Biochem 1982; 126: 131–8.
214. McCord JM, Fridovich I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen. J Biol Chem 1969; 244: 6056–63.
215. Beutler E. Catalase. In: Beutler E (ed) Red cell metabolism, a manual of biochemical methods. Grune and Stratton, New York 1982: pp 105–6.
216. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxidedismutase. J BiolChem 1972; 247: 3170–5.
217. Beutler E. Superoxide dismutase. In: Beutler E, ed. Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods. Philadelphia: Grune and Stratton; 1984: 83-85.
218. Beutler E. Reduced glutathione (GSH). In: Beutler E (ed) Red cell metabolism, a manual of biochemical methods. Grune and Stratton, New York 1975: pp 112–4.
219. L. Mellhammar. “Sepsis Incidence: A Population-Based Study,” Open Forum Infectious Diseases, vol. 115, no. 8, p. 555-558, 2017.
220. M. Singer, C.S. Deutschman, C.W. Seymour. “The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3),” JAMA, Vol. 315, no. 8, p. 801-810, 2016
221. C.W. Seymour, V.X. Liu, T.J. Iwashyna. “Assessment of clinical criteria for sepsis: for the third international consensus definition for sepsis and septic shock (Sepsis-3),” JAMA, vol. 315, no. 8, p. 762-774, 2016.
222. C.W. Seymour, C.M. Coopersmith, C.S. Deutschman. “Application of a framework to assess the usefulness of alternative sepsis criteria,” Crit Care Med, vol. 44, no. 3, p. 120-130, 2016

223. M. Shankar-Hari, G. Phillips, M.L. Levy. "Assessment of definition and clinical criteria for septic shock," JAMA, vol. 278, no. 9, p. 723-742, 2016.
224. I. Bavunoglu, H. Genc. "Oxidative stress parameters and inflammatory and immune mediators as markers of the severity of sepsis," J Infect Dev Ctries, vol. 10, no. 10, p. 1045-1052, 2016.
225. C.A. Prauchner. "Oxidative stress in sepsis: Pathophysiological implications justifying antioxidant co-therapy," Burns, vol. 43, no. 3, p. 471-485, 2017.
226. G. Camicia, R. Pozner. "Neutrophil extracellular traps in sepsis," Shock, vol. 42, no. 4, p. 286-294, 2014.
227. M. Hashiba, A. Huq, A. Tomino, A. Hirakawa, T. Hattori, H. Miyabe, M. Tsuda, M. Takeyama. "Neutrophil extracellular traps in patients with sepsis," J Surg Res, vol. 194, no. 1, p. 248-254, 2015.
228. F. Yonathan, L. Najla, K. Evguenia. "Prognostic Accuracy of Sepsis-3 Criteria for In-Hospital Mortality Among Patients With Suspected Infection Presenting to the Emergency Department," JAMA, vol. 317, no. 3, p. 301-308, 2017.
229. K.N. Kangelaris, A. Prakash, K.D. Liu. "Increased expression of neutrophil-related genes in patients with early sepsis-induced ARDS," Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, vol. 308, no. 11, p. 1102-1113, 2015.
230. S.M. Opal, T. Van der Poll. "Endothelial barrier dysfunction in septic shock," J Intern Med, vol. 277, no. 3, p. 277-293, 2015.
231. A. Kumar, D. Roberts, K.E. Wood, B. Light, J.E. Parrillo, S. Sharma. "Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock," Crit Care Med, vol. 34, no. 1, p. 1589-1596, 2006.
232. C. Rojas-Moreno, H. Regunath. "Procalcitonin in Sepsis," Am J of Hosp Med, vol. 8, no. 1, p. 34-47, 2016.
233. B. Uzzan, R. Cohen, P. Nicolas. "Procalcitonin as a diagnostic test for sepsisin critical ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analysis" JAMA, vol. 34, no. 7, p. 1996-2003, 2006.
234. P.A. Kumar, U. Anand. "Multiple Biomarkers to Assess the Pathophysiological State in Critically Ill Patients with Sepsis," Ind J Clin Biochem, vol. 31, no. 3, p. 310-314, 2016.
235. https://clincalc.com/IcuMortality/SOFA.aspx последњи пут посећено 27/03/2020
236. C. Auclair, E. Voisin E. "Nitroblue tetrazolium reduction," In: Greenvvald RA (ed) CRC Handbook of methods for oxygen radical research. Boca Raton, pp. 123-132, 1985.
237. H.C. Cowley, P.J. Bacon, H.F. Goode, N.R. Webster, J.G. Jones, D.K. Menon. „Plasma antioxidant potential in severe sepsis: a comparison of survivors and nonsurvivors," Critical Care Medicine, vol. 24, no. 7, p. 1179-1183, 1996.
238. C. Wacker, A. Prkno, F.M. Brunkhorst, P. Schlattmann. „Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis," Lancet Infect Dis, vol. 13, no. 5, p. 426-435, 2013.
239. F. Novak, M. Hynkova, H. Lubanda. „Antioxidant enzyme activities in patients with severe sepsis," Crit Care, vol. 8, no. 1, p. 261-265, 2004.
240. E. Borrelli, M. Mencarelli, P. Giomarelli. „Correlation between plasma peroxides and procalcitonin levels in patients with severe streptococcal community acquired pneumonia," Crit Care, vol. 6, no. 1, p. 112-120, 2002.
241. A.L. Vijayan, J. Vanimaya, S. Ravindran S. „Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy," J Intensive Care, vol. 5, no. 1, p. 51-63, 2017
242. C.A. Prauchner. „Oxidative stress in sepsis: Pathophysiological implications justifying antioxidant co-therapy," Burns, vol. 43, no. 3, p. 471-485, 2017.

243. D. Zhao, J. Zhou, G. Haraguchi, H. Arah, C. Mitaka. “Procalcitonin for the differential diagnosis of infectious and non-infectious systemic inflammatory response syndrome after cardiac surgery,” J Intensive Care, vol. 35, no. 2, p. 492-551, 2014.
244. S. Kumar, E. Gupta, S. Kaushik, S.V. Kumar, S.K. Mehta, A. Jyoti. „Evaluation of oxidative stress and antioxidant status: Correlation with the severity of sepsis,“ Scand J Immunol, vol. 87, no. 4, p. 126-135, 2018.
245. W. Zhong, K. Qian, J. Xiong, K. Ma, A. Wang, Y. Zou. „Curcumin alleviates lipopolysaccharide induced sepsis and liver failure by suppression of oxidative stress-related inflammation via PI3K/AKT and NF-κB related signaling,“ Biomed Pharmacother, vol. 83, no. 1, p. 302-313, 2016.
246. M. Karapetsa, M. Pitsika, N. Goutzourelas, D. Stagos, A. Tousia Becker, E. Zakynthinos. „Oxidative status in ICU patients with septic shock,“ Food Chem Toxicol, vol. 61, no. 2, p. 106-111, 2013.
247. J.P. Chen, X.M. Fang, X.J. Jin. “Expert consensus on the perioperative management of patients with sepsis,” World J Emerg Med, vol. 6, no. 4, p. 245-260, 2015.
248. Y. Spanidis, N. Goutzourelas, D. Stagos. „Assessment of Oxidative Stress in Septic and Obese Patients Using Markers of Oxidation-reduction Potential,“ In Vivo, vol. 29, no. 5, p. 595-600, 2015.

БИОГРАФИЈА

Др Јасна Петровић рођена је 23.7.1974. године у Ваљеву, а своје основно и средње образовање односно завршену средњу Медицинску школу похађала је у Ваљеву, након чега је уписала основне студије медицине на Медицинском факултету, Универзитета у Београду. Након обављеног стажа и положеног државног испита, своју лекарску праксу започиње 2002. године у Здравственом центру Ваљево у служби Анестезије реанимације и интензивне неге. 2010. године полаже специјалистички испит на клиници за Анестезиологију и интензивну терапију Војномедицинске академије, Универзитета одбране у Београду чиме стиче звање специјалисте Анестезиологије са реаниматологијом. Од 2015. године ангажована је као клинички асистент на предметима Ургентна медицина са интензивном здравственом негом и Физиологија, Факултета здравствених и пословних студија у Ваљеву, Унивезитета Сингидунум. Студент је завршне године Докторских академских студија на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Експериментална и примењена физиологија са спортском медицином. У слободно време је посвећена усавршавању из области естетске медицине. Чан је УАИС (Удружења Анестезиолога и Интезивиста Србије), ESAIC (European Society of Anaesthesiology and Intensive Care). Одлично познаје рад на рачунару и енглески и руски језик.

БИБЛИОГРАФИЈА

1. **Petrovic J,** Turnic TN, Zivkovic V, Andjic M, Draginic N, Stojanovic A, Milinkovic I, Bolevich S, Jevdjic J, Jakovljevic V. Correlation of Redox Status with Procalcitonin and C-reactive Protein in Septic Patients. Oxid Med Cell Longev. 2020 Sep 4;2020:5147364. doi: 10.1155/2020/5147364. PMID: 32952850; PMCID: PMC7487118. M21
2. Simovic S, Vranic A, Ristic P, Jeremic J, Srejovic I, **Petrovic J,** jakovljevic V, Bolevich S, Bolevich S, Zivkovic V. The acute effects of different spironolactone doses on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. Ser J Exp and Clin Research. Doi: 10.2478/sjcer-2021-00020 M51
3. **Petrovic J**, Jevdjic J, Jakovljevic V, C Reactive Protein and Procalcitonine as Diagnostic Markers in Critically Ill Patients with Suspected Sepsis. Serbian Journal of Experimental and Clinical Research, Nov 2019: doi.org/10.2478/sjecr-2019-0042 M51
4. **Petrović J.**, Puzović V-, Đorđević D-, Obrenović M-, Medić V., Jakovljević V., Prevalenca deformiteta kičme kod dece uzrasta 7-11 godina, Medicinski časopis, vol. 46, br. 4, str. 187-190, 2012

Образац 1

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Јасна Петровић, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

ПОВЕЗАНОСТ ВРЕДНОСТИ ПРОКАЛЦИТОНИНА И ПАРАМЕТАРА ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА КОД БОЛЕСНИКА СА СЕПСОМ

која је одбрањена на Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 08.02. 2021. године,

потпис аутора

Образац 2

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Јасна Петровић ,

☑ дозвољавам

☐ не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

ПОВЕЗАНОСТ ВРЕДНОСТИ ПРОКАЛЦИТОНИНА И ПАРАМЕТАРА ~~ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА КОД ПАЦИЈЕНАТА СА СЕПСОМ~~

која је одбрањена на Факултету медицинских наука

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

☑ дозвољавам

☐ не дозвољавам[1]

[1] Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

1) Ауторство

2) Ауторство - делити под истим условима

3) Ауторство - без прерада

4) Ауторство - некомерцијално

5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима

6) Ауторство - некомерцијално - без прерада[2]

у Крагујевцу, 08.02. 2021. године.

потпис аутора

[2] Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: http://creativecommons.org.rs/