



**UNIVERZITET U BANJOJ LUCI**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Milka Jandrić**

**ZNAČAJ OKSIDATIVNOG STRESA I ENDOTELNE DISFUNKCIJE  
KOD KRITIČNO OBOLJELIH PACIJENATA SA COVID-19  
PNEUMONIJOM**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**Banja Luka, 2025. godine**



**UNIVERSITY OF BANJA LUKA  
FACULTY OF MEDICINE**

**Milka Jandric**

**THE IMPORTANCE OF OXIDATIVE STRESS AND ENDOTHELIAL  
DYSFUNCTION IN CRITICALLY ILL PATIENTS WITH COVID-19  
PNEUMONIA**

**DOCTORAL DISSERTATION**

**Banja Luka, 2025**

Veliko HVALA!

Profesoru dr Peđi Kovačeviću, mom mentoru i učitelju, za nesebičnu pomoć, ljudskost i zalaganje prilikom izrade svih faza doktorske disertacije.

Profesoru dr Ranku Škrbiću, mom komentoru, za razumjevanje, podršku i dragocjene savjete prilikom izrade doktorske disertacije.

Gospodri Nataši Saremi i njenoj porodici, na prijateljstvu i finansijskoj pomoći za nabavku reagenasa, čime je omogućeno eksperimentalno izvođenje i realizacija istraživanja.

Magistri Tijani Kovačević, na podršci, pomoći i angažmanu u obradi i statističkoj analizi obimnih podataka.

Mojim kolegama i kolektivu Klinike intenzivne medicine za nehirurške grane Univerzitetskog kliničkog centra Republike Srpske za prijateljstvo, podršku i tehničku pomoć u prikupljanju podataka za izradu rada.

Kolektivu Zavoda za laboratorijsku dijagnostiku i Zavodu za mikrobiologiju Univerzitetkog kliničkog centra Republike Srpske, kolektivu Centra za biomedicinska istraživanja Medicinskog fakulteta u Banjoj Luci za nesebično pruženu pomoć prilikom sprovođenja eksperimentalnog dijela doktorske disertacije.

I na kraju, zahvaljujem se mojim dragim roditeljima, Maksi i Kostadini, sestrama Suzani i Mariji i njihovim porodicama, za bezuslovnu podršku i bezgraničnu ljubav.

**Mentor:** Prof. dr Peđa Kovačević, vanredni profesor, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci

**Komentor:** Prof. dr Ranko Škrbić, redovni profesor, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci

**Naslov doktorske disertacije:** Značaj oksidativnog stresa i endotelne disfunkcije kod kritično oboljelih pacijenata sa COVID-19 pneumonijom

**Rezime:** Kovid 19 je infektivna virusna bolest uzrokovana SARS-CoV-2 koja se pojavila 2019. godine u Kini. Smatra se da oko 14% oboljelih ima tešku formu bolesti koja zahtjeva hospitalizaciju i da oko 5% oboljelih ima kritičnu formu bolesti koje zahtjeva liječenje u jedinicama intenzivnog liječenja. Virusna infekcija podstiče inflamatorni odgovor domaćina, prokoagulantno stanje i vazomotorne poremećaje, dovodeći do endotelne disfunkcije. Budući da ACE2 predstavlja receptor za virus, prisustvo infekcije remeti osovini renin-angiotenzin-aldosteron sistema, a uz to povećana produkcija slobodnih kiseoničnih radikala i oksidativni stres podstiču inflamaciju i na taj način utiču na endotelnu disfunkciju. Aktuelno istraživanje je dizajnirano kao prospektivna opservaciona studija i sprovedeno u Klinici intenzivne medicine za nehirurške grane Univerzetskog kliničkog centra Republike Srpske u Banja Luci krajem 2020. i početkom 2021. godine, pri čemu uzorak istraživanja čine 75 odrasla ispitanika oba pola koji su hospitalizovani zbog teških formi kovid pneumonije. U sklopu istraživanja su prikupljeni demografski i klinički podaci ispitanika, urađena je analiza venske krvi koja je uzorkovana prvog i sedmog dana liječenja, pri čemu su urađene biohemijske analize, markeri endotelne disfunkcije i oksidativnog stresa. Dobijeni rezultati su analizirani i upoređeni između: preživjelih i umrlih ispitanika, ispitanika sa i bez komorbiditeta, ispitanika koji su bili intubirani i koji nisu bili intubirani, ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani i ispitanika koji su trebali i koji nisu trebali vazopresornu terapiju. Osim pojedinačnih rezultata, važan je bio trend urađenih analiza, koji se može koristiti za predikciju ishoda i težine bolesti kod kritično oboljelih pacijenata. Na osnovu rezultata sprovedenog istraživanja izvodi se zaključak da su inflamacija i koagulopatija dominantne komponente endotelne disfunkcije u teškim formama kovida, dok markeri oksidativnog stresa i peptidi renin-angiotenzin-aldosteron sistema nemaju prognostički značaj za tok i ishod bolesti.

**Ključne riječi:** kovid, endotelna disfunkcija, oksidativni stres, intenzivna njega

**Naučna oblast:** Interna medicina, Intenzivna medicina

**Naučno polje:** Medicina

**Uža naučna oblast:** Interna medicina, Intenzivna medicina

**Klasifikaciona oznaka za naučnu oblast prema CERIF šifrarniku:** B 001

**Tip odabrane licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za način korišćenja sadržaja doktorske disertacije:** Autorstvo- nekomercijalno- dijeliti pod istim uslovima

**Mentor:** Peđa Kovačević, PhD, Associate Professor, Faculty of Medicine, University of Banja Luka

**Comentor:** Ranko Škrbić, PhD, Full Professor, Faculty of Medicine, University of Banja Luka

**Title of the doctoral dissertation:** The Importance of Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction in Critically Ill Patients with COVID-19 Pneumonia

**Summary:** Covid-19 is an infectious viral disease caused by the SARS-CoV-2 that appeared in 2019 in China. About 14% of patients have a severe form of the disease and indication for the hospitalisation, and about 5% of patients have a critical form of the disease and indication for admission to the intensive care units. Viral infection promotes the host's inflammatory response, procoagulability and vasomotor disturbances, leading to endothelial dysfunction. ACE2 is a receptor for the virus, the presence of infection also affects the axis of the renin-angiotensin-aldosteron system (RAAS), and increased production of reactive oxygen species and oxidative stress promote inflammation and affect endothelial dysfunction. This research was designed as a prospective observational study, and was conducted in the Medical Intensive Care Unit (MICU) of the University Clinical Centre of the Republic of Srpska in Banja Luka at the end of 2020 and the beginning of 2021 on 75 adult participants of both sexes who were hospitalised due to severe covid pneumonia. The study collected demographic and clinical data of the participants, venous blood was sampled on the 1st and 7th day of treatment in the MICU, and biochemical blood tests, markers of endothelial dysfunctions, and oxidative stress were analysed and determined. Results were analysed and compared between: survivors and non-survivors, participants with and without comorbidities, intubated and not-intubated participants, dialysed and not-dialysed participants, and participants who required and did not require vasopressor therapy. In addition to individual values, the trend of the results was also important, with the aim of their prognostic use in critically ill patients. Based on the results of the study, it is concluded that inflammation and coagulopathy are the dominant components of endothelial dysfunction in severe covid patients. Oxidative stress markers and RAAS peptides have no prognostic significance for the course and outcome of the disease.

**Key words:** covid, endothelial dysfunction, oxidative stress, intensive care

**Scientific area:** Internal medicine, Critical care

**Scientific field:** Medicine

**Narrow scientific area:** Internal medicine, Critical care

**Classification code of the scientific area by CERIF codebook:** B 001

**Type of the selected licence of the Creative Commons how to use the content of the doctoral dissertation:** Attribution- Non Commercial- Share Alike

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. KOVID 19.....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Istorijat bolesti .....	1
1.1.2. Mikrobiološke karakteristike virusa .....	2
1.1.3. Patogeneza i patofiziologija kovida 19 .....	4
1.1.4. Inkubacija i transmisija virusa .....	9
1.1.5. Klinička slika, dijagnostika i liječenje kovida 19.....	10
1.1.6. Akutni respiratorni distres sindrom kod oboljelih od kovida 19 .....	14
<b>1.2. OKSIDATIVNI STRES.....</b>	<b>16</b>
1.2.1. Definicija, karakteristike i značaj oksidativnog stresa .....	16
1.2.2. Prooksidansi .....	17
1.2.3. Antioksidansi .....	19
1.2.4. Oksidativni stres i kritična bolest.....	22
1.2.5. Oksidativni stres kod oboljelih od kovida 19 .....	23
<b>1.3. ENDOTELNA DISFUNKCIJA .....</b>	<b>25</b>
1.3.1. Definicija, karakteristike i značaj endotelne disfunkcije.....	25
1.3.2. Inflamacija .....	27
1.3.3. Koagulacija .....	27
1.3.4. Vazomotorni poremećaji.....	28
1.3.5. Renin-angiotenzin-aldosteron sistem .....	29
1.3.6. Endotelna disfunkcija u kovidu 19.....	31
<b>2. RADNE HIPOTEZE .....</b>	<b>33</b>
<b>3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>34</b>
<b>4. MATERIJAL I METODE.....</b>	<b>35</b>
<b>4.1. DIZAJN STUDIJE .....</b>	<b>35</b>
4.1.1. Koncepcija studije i uzorak istraživanja.....	35
4.1.2. Kriterijumi za uključenje.....	36
4.1.3. Kriterijumi za neuključenje.....	36
4.1.4. Kriterijumi za isključenje .....	36
<b>4.2. PRIKUPLJANJE PODATAKA ZA ISTRAŽIVANJE .....</b>	<b>37</b>
<b>4.3. UZORKOVANJE, PRIPREMA, SKLADIŠTENJE I ANALIZA UZORAKA KRVI.....</b>	<b>41</b>
<b>4.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA.....</b>	<b>43</b>
<b>5. REZULTATI.....</b>	<b>44</b>
<b>5.1. OSNOVNE DEMOGRAFSKE I KLINIČKE KARAKTERISTIKE ISPITANIKA.....</b>	<b>44</b>
<b>5.2. REZULTATI LABORATORIJSKIH ANALIZA .....</b>	<b>47</b>
5.2.1. POREĐENJE REZULTATA LABORATORIJSKIH ANALIZA PREŽIVJELIH I UMRLIH ISPITANIKA.....	47
5.2.2. POREĐENJE REZULTATA LABORATORIJSKIH ANALIZA INTUBIRANIH I NEINTUBIRANIH ISPITANIKA.	51
5.2.3. POREĐENJE REZULTATA LABORATORIJSKIH ANALIZA ISPITANIKA SA KOMORBIDitetima i BEZ KOMORBIDITETA .....	54
5.2.4. POREĐENJE REZULTATA LABORATORIJSKIH ANALIZA ISPITANIKA KOJI SU LIJEČENI HEMODIJALIZOM I KOJI NISU LIJEČENI HEMODIJALIZOM .....	57
5.2.5. POREĐENJE REZULTATA LABORATORIJSKIH ANALIZA ISPITANIKA KOJI SU TREBALI VAZOPRESORE I KOJI NISU TREBALI VAZOPRESORE .....	60
<b>5.3. REZULTATI MARKERA OKSIDATIVNOG STRESA .....</b>	<b>62</b>

5.3.1. POREĐENJE REZULTATA MARKERA OKSIDATIVNOG STRESA IZMEĐU PREŽIVJELIH I UMRLIH ISPITANIKA .....	62
5.3.2. POREĐENJE MARKERA OKSIDATIVNOG STRESA IZMEĐU INTUBIRANIH I NEINTUBIRANIH ISPITANIKA .....	65
5.3.3. POREĐENJE REZULTATA MARKERA OKSIDATIVNOG STRESA IZMEĐU ISPITANIKA SA KOMORBIDITETIMA I BEZ KOMORBIDITETA .....	68
5.3.4. POREĐENJE REZULTATA MARKERA OKSIDATIVNOG STRESA IZMEĐU ISPITANIKA KOJI SU LIJEČENI HEMODIJALIZOM I KOJI NISU LIJEČENI HEMODIJALIZOM .....	70
5.3.5. POREĐENJE MARKERA OKSIDATIVNOG STRESA IZMEĐU ISPITANIKA KOJI SU TREBALI I KOJI NISU TREBALI VAZOPRESORNU TERAPIJU.....	73
<b>5.4 REZULTATI ANALIZA PEPTIDA RENIN-ANGIOTENZIN-ALDOSTERON SISTEMA .....</b>	<b>75</b>
5.4.1. POREĐENJE REZULTATA PEPTIDA RAAS IZMEĐU PREŽIVJELIH I UMRLIH ISPITANIKA.....	75
5.4.2. POREĐENJE REZULTATA PEPTIDA RAAS IZMEĐU INTUBIRANIH I NEINTUBIRANIH ISPITANIKA.....	78
5.4.3. POREĐENJE REZULTATA PEPTIDA RAAS IZMEĐU ISPITANIKA SA KOMORBIDITETIMA I BEZ KOMORBIDITETA.....	80
5.4.4. POREĐENJE REZULTATA PEPTIDA RAAS IZMEĐU ISPITANIKA KOJI SU LIJEČENI HEMODIJALIZOM I KOJI NISU LIJEČENI HEMODIJALIZOM.....	83
5.4.5. POREĐENJE REZULTATA PEPTIDA RAAS IZMEĐU ISPITANIKA KOJI SU TREBALI VAZOPRESORNU POTPORU I KOJI NISU TREBALI VAZOPRESORNU POTPORU .....	85
<b>5.5. REZULTATI ANALIZA ADHEZIONIH MOLEKULA.....</b>	<b>88</b>
5.5.1. POREĐENJE REZULTATA ADHEZIONIH MOLEKULA IZMEĐU PREŽIVJELIH I UMRLIH PACIJENATA ....	88
5.5.2. POREĐENJE REZULTATA ADHEZIONIH MOLEKULA IZMEĐU INTUBIRANIH I NEINTUBIRANIH PACIJENATA.....	89
5.5.3. POREĐENJE REZULTATA ADHEZIONIH MOLEKULA ISPITANIKA SA I BEZ KOMORBIDITETA.....	91
5.3.4. POREĐENJE REZULTATA ADHEZIONIH MOLEKULA ISPITANIKA KOJI SU LIJEČENI HEMODIJALIZOM I KOJI NISU LIJEČENI HEMODIJALIZOM.....	93
5.3.5. POREĐENJE REZULTATA ADHEZIONIH MOLEKULA ISPITANIKA KOJI SU TREBALI VAZOPRESORNU POTPORU I KOJI NISU TREBALI VAZOPRESORNU POTPORU .....	94
<b>5.6 REZULTATI ANALIZA LEPTINA I ADIPONEKTINA .....</b>	<b>96</b>
5.6.1. POREĐENJE REZULTATA ANALIZA LEPTINA I ADIPONEKTINA IZMEĐU PREŽIVJELIH I UMRLIH ISPITANIKA .....	96
5.6.2. POREĐENJE REZULTATA ANALIZA LEPTINA I ADIPONEKTINA IZMEĐU INTUBIRANIH I NEINTUBIRANIH ISPITANIKA .....	97
5.6.3. POREĐENJE REZULTATA ANALIZA LEPTINA I ADIPONEKTINA ISPITANIKA SA I BEZ KOMORBIDITETA .....	99
5.6.4. POREĐENJE REZULTATA ANALIZA LEPTINA I ADIPONEKTINA ISPITANIKA KOJI SU LIJEČENI HEMODIJALIZOM I KOJI NISU LIJEČENI HEMODIJALIZOM.....	100
5.6.5. POREĐENJE REZULTATA ANALIZA LEPTINA I ADIPONEKTINA ISPITANIKA KOJI SU TREBALI VAZOPRESORNU POTPORU I KOJI NISU TREBALI VAZOPRESORNU POTPORU .....	102
<b>6 DISKUSIJA .....</b>	<b>104</b>
6.1. DEMOGRAFSKE I KLINIČKE KARAKTERISTIKE ISPITANIKA .....	104
6.2 LABORATORIJSKE ANALIZE ISPITANIKA .....	108
6.3 MARKERI OKSIDATIVNOG STRESA .....	112
6.4 PEPTIDI RENIN-ANGIOTENZIN-ALDOSTERON SISTEMA .....	115
6.5. ADHEZIONE MOLEKULE .....	120
6.6 LEPTIN I ADIPONEKTIN .....	122
<b>7. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>125</b>
<b>8 LITERATURA .....</b>	<b>126</b>

**BIOGRAFIJA****IZJAVA 1****IZJAVA 2****IZJAVA 3**

**Do dynamic changes in haematological and biochemical parameters predict mortality in critically ill COVID-19 patients? (Technology and Health Care 2024)**

# 1. UVOD

## 1.1. KOVID 19

### 1.1.1 Istorijat bolesti

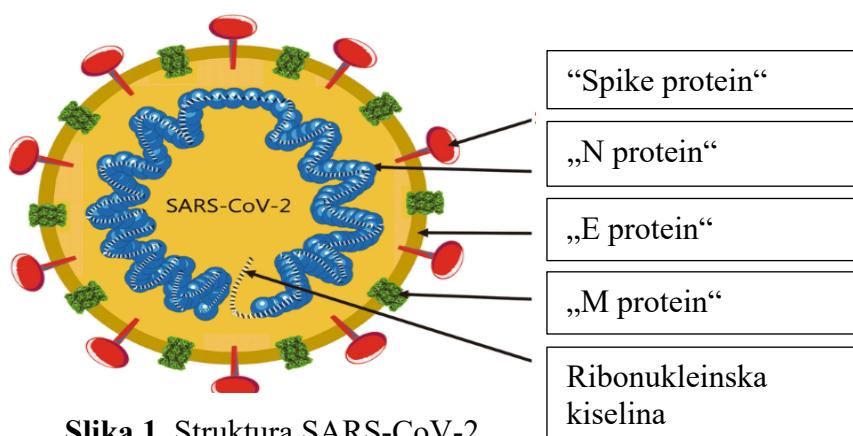
Kovid 19 se prvi put pojavio u decembru 2019. godine u kineskom gradu Wuhan, kada su se u bolnice počeli javljati bolesnici sa tegobama u vidu povišene tjelesne temperature, respiratornim smetnjama i sa radiološkim slikama pneumonije [1,2]. Budući da su dijagnostički testovi na poznate patogene bili negativni, to je govorilo u prilog nepoznatog uzročnika. Prva objava o virusnom genomu je bila dostupna 10. 01. 2020. godine na jednoj internet stranici i GISAID bazi (*engl. Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data, GISAID*), a detaljnije informacije su objavljene dva dana kasnije. Analizama je ustanovljeno da se radi o uzročniku koji ima genetske sličnosti sa virusima iz grupe betakoronaviride: oko 80% sa virusom teškog akutnog respiratornog sindroma (*engl. Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS-CoV*), oko 50% sa virusom koji uzrokuje bliskoistočni respiratori sindrom (*engl. Middle East Respiratory Syndrome, MERS-CoV*) i oko 96% sa koronavirusom šišmiša (RaTG13) [3]. Internacionali komitet za taksonomiju virusa je 11. 02. 2020. godine dao ime novom virusu, Virus teškog akutnog respiratornog sindroma koronavirus 2 (SARS-CoV-2), a Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) je bolest nazvala KOVID 19 (*engl. COVID-19*). Zbog brzog širenja bolesti širom svijeta, SZO je 11. 03. 2020. godine proglašila pandemiju. Iako genetska analiza virusa sugerira da se radi o prirodnom virusu koji ima animalno porjeklo, još uvijek je nepoznato kako i gdje se virus prvi put pojavio. Prema inicijalnim epidemiološkim analizama, kineske pijace morskih plodova su razmatrane kao inicijalno mjesto infekcije, međutim, u Wuhanu su se pojavili slučajevi koji nisu imali epidemiološku povezanost sa pijacama. U vrijeme kada je bolest otkrivena je bilo mnogo nepoznanica. Nije bilo jasno da li je moguć interhuman prenos virusa, međutim kada su počeli obolijevati članovi iste porodice i zdravstveni radnici koji su liječili bolesne osobe, postalo je jasno da se radi o bolesti koja se prenosi sa čovjeka na čovjeka. Na početku, na primjer, SZO je savjetovala da zaštitne maske trebaju nositi samo zdravstveni radnici i bolesnici koji leže u bolnicama, da bi kasnije postalo jasno da svaki pojedinac u zatvorenom prostoru treba da nosi zaštitnu masku kako bi se spriječila transmisija virusa. Slično ostalim virusima, SARS-CoV-2 se vremenom mjenja i mutira. SZO je označila svaki soj virusa nekim slovom grčkog alfabetu, u cilju izbjegavanja

stigmatizacije. Sve varijante virusa su podjeljene u četiri grupe: varijante koje izazivaju zabrinutost (*engl. Variant of concern, VOC*), varijante od značaja (*engl. Variant of interest, VOI*), varijante pod nadzorom (*engl. Variants being monitored, VBM*) i varijante sa velikim posljedicama (*engl. Variant of high consequence, VOHC*). Najznačajniji sojevi virusa su: alfa (prvi put detektovan u Velikoj Britaniji krajem 2020. godine), beta (prvi put detektovan u Južnoj Africi krajem 2020. godine), gama (prvi put detektovan u Japanu kod četiri turista koji su došli iz Brazila u 12/2020. godine, a potom u Brazilu), delta (prvi put detektovan u Indiji u 12/2020. godine) i omikron (u 11/2021 u Južnoafričkoj Republici) [4]. Od aprila 2023. godine SZO je označila samo Omikron varijantu kao cirkulišu varijantu koja izaziva zabrinutost. Prema podacima na dan 13. 04. 2024. godine, broj registrovanih kovid slučajeva na svjetskom nivou je bio 704,753,890, broj preminulih je bio 7,010,681, dok je broj oporavljenih bio 675,619,811 [5]. Najveći broj oboljelih je zabilježen u: Sjedinjenim Američkim Državama, Indiji, Francuskoj, Njemačkoj i Brazilu. Pretpostavlja se da je broj inficiranih i veći, zato što nije registrovan veliki broj asimptomatskih i blagih slučajeva. Što se tiče Republike Srpske, prema zvaničnom saopštenju JZU Instituta za javno zdravstvo Republike Srpske na dan 13. 08. 2024. godine, od početka pandemije u Republici Srpskoj broj zaraženih osoba od kovida je 121,758, dok broj preminulih osoba 6,710 [6]. Iako se bolest i danas prisutna, SZO se 05. 05. 2023. godine izjasnila da kovid 19 više ne predstavlja globalnu zdravstvenu vanrednu situaciju. Na kraju, važno je napomenuti da je pandemija imala brojne zdravstvene, ekonomске, socijalne, etičke i političke posljedice. Medicina kao nauka je uspjela da u relativno kratkom vremenskom periodu odgovori na mnoga pitanja, kao što su priroda virusa, način transmisije, klinička prezentacija bolesti, vakcinacija i suportivno lijeчење. Zdravstveni radnici širom svijeta su se suočili sa novom bolešću i brojnim profesionalnim i ljudskim izazovima.

### **1.1.2. Mikrobiološke karakteristike virusa**

SARS-CoV-2 pripada porodici *Coronaviridae* iz reda *Nidovirales*, potporodici *Orthocoronavirinae* i rodu betakoronavirusa. Naziv je dobio zbog izgleda krune pod elektronskim mikroskopom, koju čine molekule glikoproteina raspoređene u obliku šiljaka na površini proteinske ovojnica. Na osnovu genotipskih i seroloških karakteristika, članovi porodice Coronaviridae su podjeljeni u četiri roda: alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), gama ( $\gamma$ ) i delta ( $\delta$ ). Humane infekcije su uzrokovane koronavirusima koji pripadaju rodu  $\alpha$  i  $\beta$  (unutar  $\beta$  grupe su značajni SARS-CoV, MERS-CoV i SARS-CoV-2), dok  $\gamma$  i  $\delta$  sojevi inficiraju samo ptice. Poznato je šest vrsta koronavirusa koji uzrokuju bolesti kod čovjeka. Četiri virusa (229E,

OC43, NL63 i HKU1) su česti u populaciji i uzrokuju simptome prehlade kod imunokompetentnih osoba. Međutim, SARS-CoV i MERS-CoV su životinjskog porjekla i povezani su sa teškim formama bolesti [7]. SARS-CoV je bio uzročnik teškog akutnog respiratornog sindroma tokom 2002. i 2003. godine u Kineskoj provinciji Guangdong, dok je MERS-CoV bio odgovoran za akutni respiratori sindrom u Saudijskoj Arabiji 2012. godine. Radi se o virusu loptastog oblika, veličine 50-200 nm, čiji genom čini jednolančana pozitivna ribonukleinska kiselina (RNK) sa oko 30,000 nukleotida. Genom kodira 27 proteina uključujući RNK-zavisnu RNK polimerazu i 4 strukturna proteina (S, M, E i N). N protein štiti RNK genom, dok ostali proteini (S, E, M) ulaze u sastav virusnog omotača [8]. Glikoprotein S (*spike protein*) se nalazi na površini viriona i daje specifičnu morfologiju virusa (“izgled krune”). Sastoji od tri segmenta: ektodomena, transmembranskog i intracelularnog dijela. Ektodomen se sastoji od S1 i S2 podjedinice, od kojih S1 podjedinica igra esencijalnu ulogu u vezivanju virusa za specifični receptor (*engl. angiotensin-converting enzyme 2, ACE2*), dok je S2 podjedinica odgovorna za fuziju membrana virusa i ćelije domaćina. S2 podjedinica se sastoji iz više dijelova: fuzijskog peptida, proksimalne regije fuzijskog peptida, transmembranskog, citoplazmatskog i heptapeptidnih domena 1 i 2. Između S1 i S2 subjedinice se nalazi sekvenca od 4 ostatka (*engl. presence of four residues, PRRA*) koja ćelijskim proteazama omogućava cijepanje S proteina. Što se tiče ostalih strukturalnih proteina, M protein je najbrojniji protein membrane koji daje oblik virusnom omotaču. On kontroliše stvaranje membrane i pakovanje virusnog genoma unutar samog virusa. E protein kontroliše pravilno formiranje membrane, veličinu virusnih čestica i upravlja oslobođanjem virusnih čestica u humanoj ćeliji. Od svih proteina virusa, E protein je najstabilniji i praktično je identičan kod svih sojeva koronavirusa. Protein nukleokapsida, N protein, je vezan za RNK virusa i učestvuje u njegovojo replikaciji. Struktura SARS-CoV-2 je prikazana na slici 1.



Slika 1. Struktura SARS-CoV-2

### **1.1.3. Patogeneza i patofiziologija kovida 19**

Istraživanja su pokazala da je angiotenzin-konvertujući-enzim 2 receptor (ACE2) specifični funkcionalni receptor za SARS-CoV-2. U respiratornom sistemu on je najviše eksprimiran na alveolarnim epitelnim ćelijama tipa II, što indicira da su pluća primarna meta za SARS-CoV-2 [9]. Pored toga, ACE2 je eksprimiran na ćelijama miokarda, vaskularnog endotela, proksimalnih tubula bubrega, urotelu mokraćne bešike, enterocitima tankog crijeva (posebno ileuma), štitnoj žlijezdi, testisima i masnom tkivu, što praktično znači da u uslovima viremije virus može inficirati druge organe [10,11]. Pored ACE2, za virusnu invaziju je neophodno prisustvo membranskih proteaza, kao što su transmembranska proteaza serin2 (TMPRSS2), lizozomalni katepsin, furin i celularni receptor neuropilin-1, koji učestvuju u aktivaciji S proteina virusa.

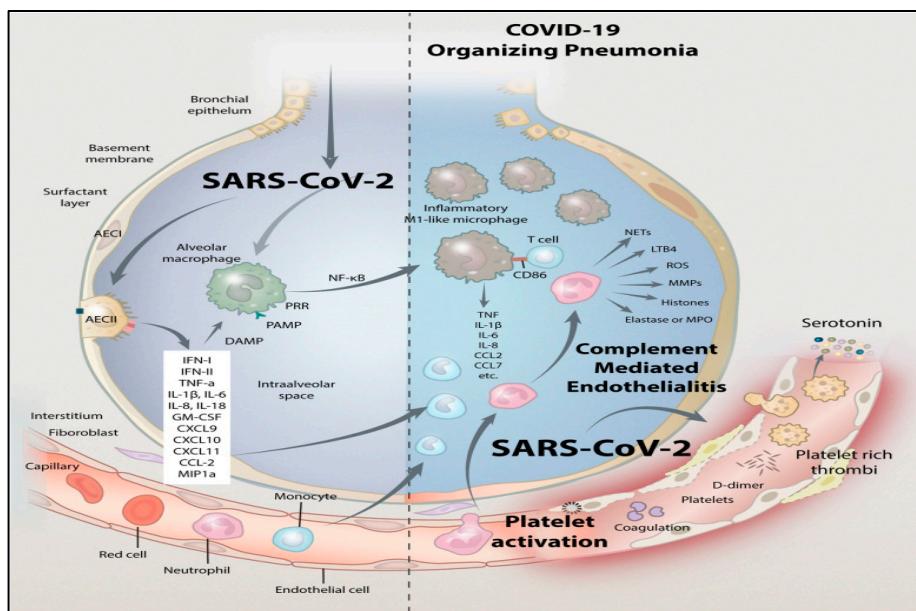
Prvi korak u nastanku virusne infekcije je vezivanje S proteina za ACE2 receptor na membrani ćelije domaćina. On se veže pomoću receptor vezujućeg mjesta na S1 podjedinici, a potom pod djelovanjem ćelijskih proteaza (TMMPRSS2 i furin) dolazi do njegovog cijepanja na S1 i S2 podjedinicu. S2 podjednica omogućava fuziju ćelijskih membrana SARS-CoV-2 i ćelije domaćina i ulazak virusa u ćeliju [12]. Po ulasku, virus se služi ćelijskim organelama za sopstvenu replikaciju i proizvodnju strukturnih proteina. Vezikule sa novostvorenim virusnim partikulama se transportuju i spajaju sa ćelijskom membranom domaćina, oslobađaju i inficiraju druge ćelije istim mehanizmom. Virusom-posredovana smrt ćelije uzrokuje oslobađanje različitih molekula povezanih sa oštećenjem (*engl. damage-associated molecular patterns, DAMP*) i molekula povezanih sa patogenom (*engl. pathogen-associated molecular pattern, PAMP*) koje prepoznaju receptori na alveolarnim makrofagima i endotelnim ćelijama. Tolični receptor (*engl. toll-like receptor, TLR*) kao dio urođenog imunskog odgovora prepozna PAMP u ekstracelularnom prostoru, pokreće stvaranje stvaranje proinflamatornih citokina (npr. nuklearni faktor kappa B, NF- $\kappa$ B) i aktivaciju regulatornih faktora interferona koji posreduju u interferon-zavisnom antivirusnom odgovoru [13]. S druge strane, nukleotidnavezujući oligomerizacijski receptori bogati leucinom (*engl. nucleotide-binding domain leucine-rich repeat proteins, NLR*) prepoznaju intracelularne DAMP, što pokreće aktivaciju inflamazoma i stvaranje aktivnog interleukina 1β (IL-1β). Ovi procesi podstiču sekreciju proinflamatornih citokina i hemokina, kao što su interleukin 6 (IL-6), tip II interferona (IFN- $\gamma$ ), monocitni hemoatraktantni faktor 1 (MCP-1) i interferon gama-indukujućeg proteina 10 (IP-10), kao i naknadno plućno regrutovanje imunih ćelija, uključujući makrofage i dendritičke ćelije. Virusna infekcija makrofaga i dendritičkih ćelija promoviše

dalje oslobođanje citokina i hemokina, što vodi aktivaciji antigen specifičnih T ćelija koje uništavaju zaražene ćelije. Smatra se da povećani nivoi proinflamatornih citokina i hemokina značajno koreliraju sa težinom bolesti i mortalitetom [14-17]. U teškim formama kovida su nađeni povećani nivoi IL-6, IL-2, IL-8, IL-10, faktora stimulacije granulocitnih kolonija (*engl. granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF*), IP-10, MCP1, IFN $\gamma$ , makrofagnog inflamatornog proteina 1 $\alpha$  i faktora tumorske nekroze (*engl. tumor necrosis factor, TNF*), što govori o kombinovanom Th1 i Th2 ćelijskom odgovoru. Citokinska oluja se sreće kod teških formi kovida, a odnosi se na nekontrolisano stvaranje i eksces citokina koji vode organizam u stanje sistemske hiperinflamacije. Ovo stanje se sreće i kod različitih patoloških procesa, kao što su primarna i sekundarna hemofagocitna limfohistiocitoza, sepsa, autoimune bolesti i Kastlemanova bolest. Povećana produkcija proinflamatornih citokina se dovodi u vezu i sa T ćelijskom disfunkcijom koja je zabilježena kod teških formi kovida, što može biti povezano sa povećanim rizikom od sekundarnih bakterijskih i gljivičnih infekcija [18-19]. Pored inflamacije, važni segmenti patofiziologije kovida su endotelna disfunkcija i koagulopatija. Smatra se da je endotelna disfunkcija važan dio organske disfunkcije na način što potencira prokoagulantno stanje, povećanu permeabilnost (*leak*) i ishemiju organa. Teža klinička prezentacija bolesti i lošiji ishod liječenja su uočeni kod pacijenata koji već imaju bolest povezanu sa endotelnom disfunkcijom (npr. hipertenzija, dijabetes, gojaznost, itd.). Histopatološkom analizom tkiva pacijenata preminulih od kovida, Varga i autori su pokazali direktnu virusnu invaziju endotelnih ćelija i difuznu endotelnu inflamaciju različitih organa (transplantiranog bubrega, srca, tankog crijeva, pluća) [20]. Pored oštećenja endotelnih ćelija virusnom invazijom, drugi način je indirektno, putem inflamacije (posredovane citokinima, slobodnim kiseoničnim radikalima i reaktantima akutne faze inflamacije). IL-6 igra važnu ulogu u aktivaciji endotelnih ćelija u toku inflamacije i smatra se da utiče na povećanu vaskularnu permeabilnost, sekreciju proinflamatornih citokina/hemokina (IL-6, IL-8 i monocitno-hemoatraktantni protein 1) i aktivaciju C5 komponente komplementa [21]. Sama hipoksija u sklopu pneumonije remeti ekspresiju adhezionih molekula kao što su P-selektin, E-selektin, interćelijski (*engl. intercellular cell adhesive molecules, ICAM-1*) i vaskularni ćelijski adhezivni molekuli 1 (*engl. vascular cell adhesion molecules-1, VCAM-1*) što narušava permeabilnost endotela [22]. Hipoksija u endotelnim ćelijama može potencirati i ciklooksigenazni put, na način što vezivanje tromboksana A2 i B2 na prostanoidne receptore dovodi do vazokonstrikcije vaskularnih glatkih mišićnih ćelija. Vaskularni tonus je regulisan i renin-angiotenzin-aldosteron sistemom (*engl. Renin-Angiotensin-Aldosterone System, RAAS*),

a imajući u vidu da SARS-CoV-2 koristi ACE2 za ulazak u ćeliju domaćina, jasno je da utiče na funkcionisanje ove osovine. Zbog smanjenja ACE2, sve više se proizvodi vazokonstriktorni angiotenzin II, dok se smanjuje vazodilatatorni peptid angiotenzin (1–7). Povećani nivoi angiotenzina II su povezani sa količinom virusa i oštećenjem pluća kod oboljelih [23]. Endoteliopatija sa difuznom mikrovaskularnom povredom u plućima je vjerovatno centralno dešavanje kod teških formi bolesti, a pored ovoga abnormalni metabolizam azot-monoksida (NO) i povećanje slobodnih kiseoničnih radikala dodatno slabi antioksidativnu zaštitu endotela [24]. Što se tiče koagulopatije, smatra se da oštećenje endotela i izlaganje subendotelnog matriksa (koji sadrži kolagen, tkivni faktor) pokreće koagulacionu kaskadu, koja dovodi do stvaranja trombina, konverzije fibrinogena u fibrin, što zajedno sa trombocitima dovodi do stvaranja crvenog ugruška. Tkvni faktor je i kofaktor za FVII/FVIIa, što takođe može pokrenuti koagulacionu kaskadu, a njegova ekspresija je povećana na makrofagima i trombocitima pod djelovanjem inflamatornih citokina. Aktivacijom i degranulacijom trombocita se oslobađaju adenozin-difosfat- ADP, polifosfati, faktori koagulacije, C3 komponenta komplementa, što dalje pojačava aktivaciju trombocita. Individualne komponente komplementa su takođe protrombogene, npr. komponenta C5a povećava aktivnost PAI-1 i tkivnog faktora, može aktivirati neutrofile i dovesti do povećane produkcije IL-6, IL-8 i formiranje NET-a. Serin proteaza MASP2 (*engl. mannose-binding lectin associated serine protease 2, MASP2*) je povećana, što može potencirati trombozu kroz povećanje aktivnosti C2 i C4, čime povećava aktivnost trombina, fibrinogena i faktora 13 (FXIII) [25], a komplement se može pokrenuti i direktnim djelovanjem SARS-CoV-2 i oštećenjem tkiva. Pored hiperaktivacije trombocita i koagulopatije, u kovidu postoji i poremećaj fibrinolize u smislu njenog smanjenja [26].

Budući da su pluća primarno mjesto infekcije i da je pneumonija sa hipoksemijom vodeći simptom kovida, potrebno je razumjeti promjene koje se dešavaju. U plućima, posredstvom ACE2 receptora, virus inficira alveolarne epitelne ćelije tipa II i makrofage, na način koji je već naveden. Replikacijom virusa u pneumocitima i njihovim oštećenjem oslobađaju se medijatori koji utiču na makrofage da luče IL-1, IL-6, i TNF- $\alpha$ , koji uzrokuju oštećenje endotelnih ćelija, u smislu njihove dilatacije i povećane vaskularne propustljivosti. Pneumociti tip II osim što proizvode sufraktant, su prekursori oba tipa alveolarnih epitelnih ćelija, tako da se njihovom infekcijom mogu očekivati promjene u količini surfaktanta i regeneraciji alveolarnih epitelnih ćelija, što rezultira kolapsom, nepravilnom reepitalizacijom i atelektazom alveola. Histopatološkom analizom je nađeno difuzno alveolarno oštećenje: u ranoj fazi se

nalazi oštećenje alveolarnih ćelija, edem i smanjenje surfaktanta, dok se u kasnoj nalazi metaplasija tipa II alveolarnih ćelija, zadebljanje interalveolarnih septi, što vodi ka izlječenju ili fibrozi [27]. Endotelne ćelije pokazuju promjene u smislu prekida međućelijskih spojeva, edema i gubitka kontakta sa ćelijskom membranom, perivaskularnu infiltraciju (limfociti, CD4+ T-limfociti), dok su unutar alveolarnih kapilara nađeni fibrinsko-trombocitni mikrotrombi [28]. Postmortem analize su pokazale da su prosječna pluća osobe preminule od kovida teža (što korelira sa edemom i kongestijom), da su bronhi ispunjeni mukusom i ćelijskim debrisom i da su alveole ispunjene tečnošću, fibrinom i hijaluronom. Leukocitna infiltracija podrazumjeva: perivaskularno nakupljene T-limfocite, makrofage u lumenu alveola, te limfocite i monocyte u intersticijumu pluća. Sveukupno, oštećenje endotelne barijere, disfunkcionalan alveolo-kapilarni transport kiseonika i poremećen difuzijski kapacitet za kiseonik su važne karakteristike kovida. Pored plućnog parenhima, bolest ponekad zahvata i pleuru; zadeljanje pleure se susreće u 27%, a efuzija u 5-6% slučajeva.



**Slika 2.** Patogeneza oštećenja pluća (Izvor: “A scoping review of the pathophysiology of COVID-19. Int J Immunopathol Pharmacol. 2021 Jan-Dec;35:20587384211048026”)

Važna karakteristika kovid pneumonije je postojanje takozvane „nijeme hipoksemije“. Ovo stanje označava odsustvo simptoma respiratorne insuficijencije, na prvom mjestu dispneje, i pored evidentne hipoksemije. Ovo dovodi do povećanja takozvanog „respiratornog drajva“ koji se definiše kao jačina uticaja nervnog stimulusa na disanje preko regulacije frekvence i dubine disanja. Zbog toga, tahipneja i visok disajni volumen (ne nužno dispneja) su odlike

kovid pneumonije. Ovaj mehanizam je takođe jedan od potencijalnih mehanizama oštećenja pluća (*engl. Patient-self inflicted lung injury, P-SILI*) [25]. Kovid 19 ima mogućnost brze progresije i multisistemskog zahvatanja. Nekoliko studija je potvrdilo značajno povišene markere miokardnog oštećenja (troponin i natriuretski peptid B), a pored vjerovatne direktnе virusne invazije kardiomiocita, značajni mehanizmi su miokarditis i stresom-indukovana kardiomiopatija. Perikardna efuzija je prijavljena u oko 5% slučajeva oboljelih, posebno kod pacijenata sa suspektnim miokarditism. Što se tiče bubrega, virus inficira tubularne epitelne ćelije i podocite bubrega, a glomerulonefritisi koji se susreću kod oboljelih pripadaju grupama podicitopatija, pauci-imunim brzoprogresivnim glomerulonefritisima, membranoznom i IgA glomerulonefritisu. Smatra se da direktna virusna invazija epitela dovodi do mitohondrijane disfunkcije, akutne tubularne nekroze i curenja proteina, a nekontrolisano oslobađanje citokina, tromboza i ishemija dalje pogoršavaju bubrežnu funkciju. Gastrointestinalne manifestacije su posljedica infekcije epitelnih ćelija gastrointestinalnog trakta (enterocita) i posljedične disfunkcije ileuma i kolona. Još uvijek nije razjašnjen tačan mehanizam povećanja transaminaza kod oboljelih, a može biti rezultat toksičnog oštećenja jetre (lijekovima indukovano), hipoksičnog hepatitisa ili infekcije žučnih kanala (holangiociti pokazuju značajnu ekspresiju ACE2). Zbog ekspresije ACE2 na egzokrinom i endokrinom dijelu pankreasa, moguće oštećenje se ispoljava u vidu porasta amilaza i lipaza, pankreatitisa i poremećene glikoregulacije. Autopsijskim analizama je dokazano prisustvo virusa u likvoru, što govori u prilog i invazije centralnog nervnog sistema. Potencijalni mehanizmi neuroinfekcije i neuroloških manifestacija bolesti uključuju: direktnu invaziju endotela, edem mozga i moždanog stabla zbog poremećene krvno-moždane barijere, edem mozga i hiperkoagulabilnost zbog citokinske oluje, propagaciju preko mehanoreceptora i hemoreceptora u plućima, hipoksemiju i respiratornu/metaboličku acidozu. Hipoosmija/anosmija kod oboljelih se mogu objasniti direktnim oštećenjem ćelija olfaktivnog epitela, bulbusa, poremećene funkcije olfaktivnih neurona i ubrzane degradacije gustatornih papilla sijalinskog kiselina. Kožne manifestacije se javljaju dosta rijetko, u 0,2 - 5% slučajeva, u vidu makulopapuloznog osipa i urtikarije (predspostavlja se da je indukovano lijekovima) i lividnih/nekrotičnih promjena kože (imuno-posredovani mehanizmi), oralnih ulceracija, periorbitalnog eritema, nodoznog eritema i Sweet sindroma. Zahvatnje endokrinog sistema se odnosi na poremećenu tiroidnu funkciju (obično u pravcu prezentacije hipertireoidizma, rijetko hipotireoidizma) koja je vjerovatno prolazan fenomen povezan sa aktuelnim hiperinflamatornim stanjem i poremećajem nadbubrežne žljezde u smislu razvoja

akutnog infarkta nadbubrežnih žljezda, adrenalnim hemoragijama i rijetko adrenalnom insuficijencijom [29]. Zahvatanje hematopoeznog sistema se manifestuje u vidu limfopenije, trombocitopenije i anemije, mada se kod oboljelih mogu javiti simptomatske trombocitopenije, uključujući imunu trombocitopenijsku purpuru i trombotičku trombocitopenijsku purpuru [29].

#### **1.1.4. Inkubacija i transmisija virusa**

Kod većine oboljelih simptomi bolesti se javljaju od 2. do 14. dana od kontakta sa virusom, a bolest mogu prenositi i asimptomatski slučajevi. Predloženi reproduktivni broj za SARS-CoV-2 je između 2 i 3 (ima opseg od 1,70 do 14,80) [30]. Rezultati sistematskih i metaanaliza su pokazali da postoji razlika u srednjem inkubacionom periodu za pojedine varijante virusa i iznose 5 dana za alfa, 4,50 dana za beta, 4,41 za delta i 3,42 dana za omikron varijantu. Takođe, srednji inkubacijski period je različit za različite kategorije pacijenta: za starije pacijente ( $> 60$  godina) je 7,43 dana, za djecu ( $\leq 18$  godina) je 8,82 dana i za teške oblike bolesti 6,69 dana [31].

SARS-CoV-2 se prenosi dominantno kapljičnim putem preko sekreta respiratornog trakta koji sadrži virus. To se može dogoditi: 1. inhalacijom kapljica i aerosola, 2. direktnim dospjevanjem infektivnog respiratornog sekreta na mukozne membrane usta, nosa i oka, i 3. dodirivanjem mukoznih membrana kontaminiranim rukama ili predmetima [32]. Infektivni sekret iz respiratornog trakta dospjeva u spoljašnju sredinu u vidu kapljica i aerosola koji osoba izlučuje tokom ekspirijuma (prilikom disanja, razgovora, pjevanje, kihanja, kašljivanja, ili fizičke aktivnosti), a ima mogućnost da dođe u kontakt sa drugom osobom i zarazi je na udaljenosti od 1 metra. Koncentracija virusa u sekretu gornjeg respiratornog trakta je najveća prve sedmice od pojave simptoma, tako da je tada rizik od infekcije najveći. Pored sekreta respiratornog trakta, komponente virusa su detektovane u različitim tjelastim tečnostima, kao što su pljuvačka, urin, sperma i feces [32].

Smatra se da trudnice imaju povećan rizik od razvoja teških formi bolesti, prijevremenog poroda i drugih komplikacija, tako da je neophodan nadzor. Zbog dobropit majčinog mlijeka, za oboljele majke dojilje se savjetuje da se dojenje nastavi i ne prekida. Postoje dokazi o vertikalnoj transmisiji virusa, mada još uvjek ima dosta nejasnoća u tom području [33].

Što se tiče osjetljivosti, virus je osjetljiv na standardna dezinfekciona sredstva (alkoholna sredstva, sapun, jodne preparate, rastvore natrijum hipohlorita), ultravioletne C zrake i ozon [34]. Visoka temperatura i relativna vlažnost vazduha imaju sinergistički efekat na vijabilnost

SARS-CoV-2, dok niske temperature i relativna vlažnost vazduha utiču na preživljavanje virusa na kontaminiranim površinama. Na unutrašnjoj strani hirurške maske virus može preživjeti 4 dana, na običnim novčanicama 4 dana, pamučnoj odjeći 7 dana, na papiru 30 minuta, plastici 3-4 dana i staklu 2 dana. [35-36].

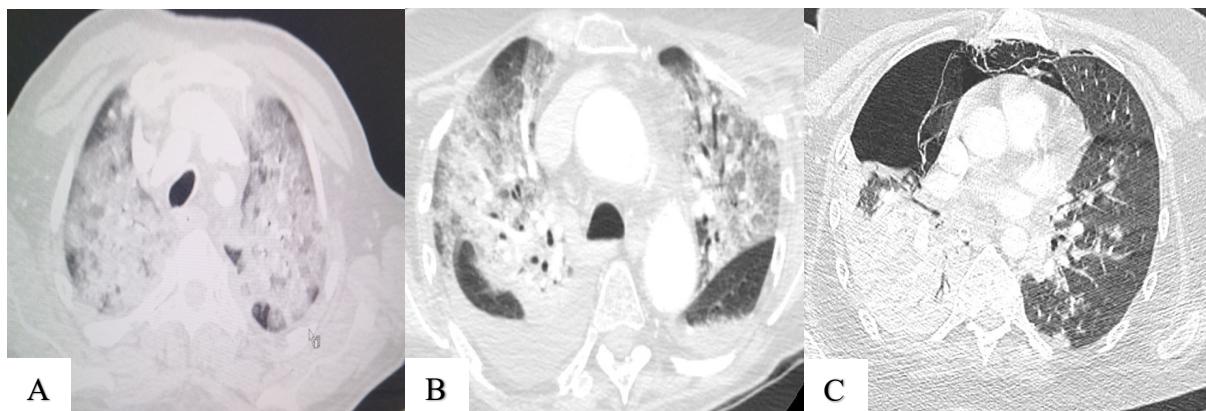
### **1.1.5. Klinička slika, dijagnostika i liječenje kovida 19**

Evaluacija pacijenta oboljelog od kovida uključuje klinički pregled, laboratorijske analize krvi, radiološku i mikrobiološku dijagnostiku. Klinička prezentacija bolesti može biti različita: procjenjuje se da oko 81% oboljelih ima blagi oblik bolesti (bez pneumonije), oko 14% ima tešku kliničku formu (prisutna je dispneja, tahipneja sa brojem respiracija  $\geq 30/\text{min}$ , snižena saturacija krvi kiseonikom  $\leq 93\%$ , snižen odnos parcijalnog pritiska kiseonika u arterijskoj krvi prema frakciji kiseonika u udahnutoj smjesi vazduha  $< 300$  i ili veliki infiltrati na plućima  $> 50\%$ , u toku 24-48h), a oko 5% oboljelih ima kritičnu formu bolesti (prisutna je respiratorna insuficijencija, septični šok, i ili multiorganska disfunkcija ili insuficijencija) [37]. Bolest je češća kod muškaraca i osoba starije životne dobi sa komorbiditetima [38], koji su skloni da razviju teže forme bolesti. Najčešći simptomi bolesti su povišena tjelesna temperatura, kašalj, slabost i dispneja, a najčešći komorbiditeti su hipertenzija, dijabetes, kardiovaskularne, respiratorne, hronične bubrežne, jetrene i onkološke bolesti [39]. Pored respiratorne simptomatologije, oboljeli često imaju i druge simptome, kao što su rinoreja, anosmija/hipoosmija, disgezija, glavobolja, grlobolja, hemoptizije, bolovi u grudima, mučnina, povraćanje, proliv, bolovi u stomaku i osip [40]. Pored pneumonije, teške hipoksemische respiratorne insuficijencije i akutnog respiratornog distres sindroma (ARDS), hospitalizovani bolesnici mogu imati poremećaje od strane različitih organskih sistema: akutnu bubrežnu povredu, povištene transaminaze, ileus, mezenterijalnu ishemiju, delirijum, encefalopatiju, ishemijski moždani udar, miozitis, Guillain-Barre sindrom, kardiomiopatiju, artimije, srčanu insuficijenciju, infarkt srca, arterijske i venske tromboze [41,42]. Prema literaturi, srednje vrijeme od pojave simptoma do hospitalizacije je iznosilo 7 dana (4,00-8,00), do dispneje je iznosilo 8 dana (5,00-13,00), do pojave ARDS-a je iznosilo 9 dana (8,00-14,00), do započinjanja mehaničke ventilacije je iznosilo 10,50 dana (7,00-14,00) i do prijema u JIL 10,50 dana (8,00-17,00). [43]. Stope mortaliteta su varirale među različitim državama, a postojale su i varijacije prema dominantnom soju virusa i kliničkom stanju oboljelih (pol, dob, komorbiditeti, pacijenti liječeni u jedinicama intenzivnog liječenja, i sl.) [44-45]. Što se tiče

laboratorijskih analiza krvi, kod oboljelih od kovida se nalaze različita odstupanja u laboratorijskim nalazima, izraženije u teškim formama bolesti. Karakteristični nalazi podrazumjevaju limfopeniju, neutrofiliju, trombocitopeniju, povećanje C-reaktivnog proteina (CRP), interleukina-6 (IL-6), feritina, faktora nekroze tumora alfa (TNF- $\alpha$ ), prokalcitonina (PCT), laktat-dehidrogenaze (LDH), transaminaza (aspartat-aminotransferaza, AST i alanin-aminotransferaza, ALT), D-dimera, kreatinina i tropinina [46-49]. Radiološka evaluacija je značajan segment dijagnostike i procjene težine bolesti, čime se detektuju promjene u plućnom parenhimu, komplikacije bolesti i prati stanje pacijenta. Najčešće se koriste radiografija grudnog koša (RTG srca i pluća) i kompjuterizovana tomografija bez kontrasta (KT grudnog koša), pri čemu je KT dijagnostika superiorna radiološka metoda. Tipičan KT radiološki nalaz prikazuje promjene plućnog parenhima u vidu „mlječnog stakla“ lokalizovane bilateralno, subpleuralno, periferno i obično u donjim lobusima, zadebljanje intra/interlobularnih septi, zone konsolidacije plućnog parenhima, zadebljanje zida bronhija u pogodenim zonama i trakcione bronhiktazije [50]. Atipičan radiološki nalaz obuhvata promjene tipa medijastinalne limfadenopatije, pleuralnih efuzija, multiplih plućnih nodulusa, kavitacija, pneumotoraks ili pneumomedijastinum. Na radiološki nalaz utiče faza bolesti u kojoj se vrši snimanje, pa tako u početnom stadijumu polovina oboljelih ima uredan radiološki nalaz. Ultrazvuk pluća je korisna i praktična radiološka metoda koja se pokazala korisnom u svakodnevnoj evaluaciji kovid pacijenta, posebno liječenih u jedinicama intenzivnog liječenja (JIL), pri čemu su najčešći nalazi bili zadebljanje pleuralne linije, mnoštvo B-linija, zone konsolidacije parenhima i vazdušni bronhogram.



**Slika 3.** RTG snimci pacijenata oboljelih od kovida- tipični bilateralni mrljasti infiltrati plućnog parenhima lokalizovani dominantno periferno i u donjim plućnim poljima (izvor: lična arhiva)



**Slika 4.** KT snimci grudnog koša pacijenata oboljelih od kovida: na slici A su prisutni bilateralni masivni mrljasti infiltrati koji skoro u potpunosti zahvataju prikazani dio plućnog parenhima, na slici B su takođe prisutni bilateralni infiltrati plućnog parenhima uz obostrane manje pleuralne izlive, veći desno, na slici C uz dominantno desnostranu pneumoniju su prisutni i desnostrani pneumotoraks i pneumomedijastinum (izvor: lična arhiva).

Što se tiče mikrobiološke dijagnostike, zlatni standard predstavlja molekularna dijagnostika, gdje postoje različite dijagnostičke tehnike za detekciju SARS-CoV-2 iz respiratornog sekreta ili krvi [51]:

- RT-PCR (*engl. reverse transcriptase-polymerase chain reaction*, *RT-PCR*): virusna RNK se upotrebom enzima reverzne transkriptaze koristi za stvaranje komplementarne DNK. Ova metoda se smatra zlatnim standardom u dijagnostici kovida.
- „Brzi testovi“: zasnivaju se na detekciji virusnih antigena kroz imunodijagnostičke testove
- Serološki testovi: zasnivaju se na detekciji antitjela domaćina kroz serološke analize (najčešće su korišteni za retrogradnu dijagnozu kovida).

Osnovni biološki uzorak za analizu je nazofaringealni ili orofaringealni bris, a ukoliko je pacijent intubiran, mogu se koristiti trahealni aspirat i bronhoalveolarni lavat (BAL). Uzorci se transportuju u laboratoriju najduže 48h od uzorkovanja, a do tada se čuvaju u frižideru na temperature od 4 C (ili na temperature od -70C ukoliko će se analize naknadno raditi). Ukoliko RT-PCR na SARS-CoV-2 pristigne negativan, mora se imati na umu da negativan nalaz ne isključuje bolest (npr. nepravilno uzorkovanje, prerano/prekasno uzorkovanje, itd.). Terapija za kovid je uglavnom simptomatska i usmjerenja na sprečavanje komplikacija i progresije bolesti. Tokom pandemije države su obično imale nacionalne smjernice za liječenje kovida, uz korekcije prema novim saznanjima i upustvima krovnih institucija, kao što su SZO i Centar za

kontrolu i prevenciju zaraznih bolesti. Pored izolacije (obično 14 dana ili do negativizacije PCR testa), mirovanja, vitaminske terapije (vitamini D i C) i periodičnih kontrola inficiranih osoba, u terapijske svrhe su korišteni različiti terapijski modaliteti [52]. Antivirotici remdesivir i favipiravir su se našli u skoro svim smjernicama za liječenje blagih i srednje teških formi bolesti, sa preporukom da se lijek počne uzimati u ranoj fazi (najkasnije do 5. dana bolesti), a prednost se dala remdesiviru za koji postoji parenteralna formulacija lijeka. Noviji antivirotici nirmatrelvir/ritonavir (Paxlovid) i molnupiravir su dostupni na nekim tržistima, a sprečavaju razvoj teških formi bolesti. Za hidroksihlorokin koji se u početku pandemije široko koristio nije dokazana učinkovitost, a zbog straha od razvoja ventrikularnih poremećaja srčanog ritma, lijek je na kraju izbačen iz preporuka. Slično je bilo i sa antibiotikom azitromicinom. Antibiotici i antimikotici su korišteni u slučaju kliničke sumnje ili dokazane bakterijske ili gljivične infekcije. Kortikosteroidi (deksametazon i meilprednizolon) su korišteni za liječenje teških formi bolesti u svim državama svijesta i prema nacionalnim preporukama. Studija Recovery je pokazala kako primjena dexametazona u dozi od 6 mg kroz 10 dana smanjuje 28-dnevni mortalitet oboljelih koji trebaju kiseoničnu terapiju [53]. Biološka terapija, antagonist receptora interleukina-6 (tocilizumab), je našla svoje mjesto u liječenju najtežih formi kovida i sumnje na citokinsku oluju (prema shemi: 8 mg/kg i.v. podjeljeno u dvije doze, maksimalno 800 mg/dozi). Kao terapijska opcija za imunokompromitovane pacijente se našla terapija rekovalescentnom plazmom, koja je u pandemiji ordinirana sporadično u različitim centrima. Zbog rizika od arterijskih i venskih tromboza svim hospitalizovanim pacijentima je ordinirana profilaktička ili terapijska doza niskomolekularnog heparina (*engl. low molecular weight heparin, LMWH*). Kiseonična terapija i mehanička ventilacija (neinvazivna i invazivna) su bile kamen temeljac liječenja hipoksemijske respiratorne insuficijencije, a pored ovoga su korišteni i drugi terapijski modaliteti, kao što je ekstrakorporalna membranska oksigenacija krvi (*engl. extracorporeal membrane oxygenation, ECMO*), inhalatorna primjena plućnih vazodilatatora (*azot monoksid, NO*) i prone položaj [54-56].

U borbi protiv kovida posebno mjesto pripada pronalasku vakcina, čime je započeo proces masovne dobrovoljne imunizacije. Početak imunizacije je bio obilježen brojnim antivakcinalnim pokretima širom svijeta, što je doprinjelo nedovoljnem broju imunizovanih osoba. Odluka o vakcinaciji i vrsti vakcine je bila dobrovoljna, a u skladu sa savjetima zdravstvenih profesionalaca i nacionalnom politikom (npr. regulatorna agencija Evropske Unije nije odobrila vakcine ruskih i kineskih proizvođača). Na području Bosne i Hercegovine je bilo odobreno 5 vakcina za upotrebu: Pfizer-BioNTek (Njemačka/SAD), Sputnjik V

(Gamaleja istraživački centar, Rusija), Sinopharm (Kina), AstraZeneca (Velika Britanija/Švedska) i Sinovac (Kina). Prema podacima na dan 31. 01. 2023. godine u Bosni i Hercegovini jednu dozu vakcine je primilo 28,80% stanovništva, dok je potpuno vakcinisanih 25,90% [57].

### **1.1.6. Akutni respiratorni distres sindrom kod oboljelih od kovida 19**

Zbog brzog širenja virusa i potrebe za mehaničkom ventilacijom, intenzivne njegе širom svijeta su se suočile sa velikim prilivom kritično oboljelih pacijenata. S obzirom na ograničeni kapacitet, vrlo često se nisu mogli zbrinuti svi oboljeli (mnoge JIL su primale samo pacijente koji su trebali invazivnu mehaničku ventilaciju), a sa druge strane prepunjenost kapaciteta je otvorila pitanje o kvalitetu pružene njegе i liječenja. Situaciju su dodatno otežavali uslovi rada (stalno nošenje zaštitne opreme, manjak kadra i opreme, neadekvatan prostor), insuficijentno medicinsko znanje o bolesti, ograničen pristup zdravstvenim uslugama, opšta izolacija i stres.

Tipičan pacijent koji je hospitalizovan u JIL je bio muškarac, starosti 55-70 godina, koji ima hroničnu bolest od kojih su najčešći hipertenzija, dijabetes, gojaznost, kardiovaskularna/cerebrovaskularna bolest, hronična opstruktivna bolest pluća ili imunodeficijentno stanje. Dominantni simptomi bolesti su bili povišena temperatura, suh kašalj, dispnea, malaksalost, mijalgija, dijareja, a prosječno vrijeme od pojave bolesti od prijema u JIL je bilo 7-11 dana. Pri prijemu su obično postojala odstupanja u sljedećim laboratorijskim analizama krvi: D-dimer (povišen), LDH (povišen), CRP (povišen), feritin (povišen), IL-6 (povišen), limfociti (sniženi), trombociti (sniženi), neutrofili (povišeni), albumini (sniženi), transaminaze (povišene), ukupni bilirubin (povišen), kreatinin (povišen), troponin (povišen), prokalcitonin (povišen), protrombinsko vrijeme (povišeno), parcijalni pritisak kiseonika u gasnim analizama krvi (snižen) i saturaciju krvi kiseonikom (snižena) [44,58]. Urađena radiološka dijagnostika je tipično pokazivala bilateralnu pneumoniju sa pločastim i opacifikacijama tipa mlječnog stakla. Ponavljana radiološka snimanja su služila za praćenje progresije bolesti ili detekciju komplikacija (npr. pneumotoraksa). Prema dostupnoj literaturi prosječno vrijeme liječenja u JIL je bilo 10-16 dana, a najčešće komplikacije bolesti su bile ARDS, koagulopatija, akutna srčana i bubrežna povreda i intrahospitalne infekcije (ventilatorom uzrokovanu pneumoniju, infekcije povezane sa kateterima i infekcije krvi). Potreba za intubacijom i invazivnom mehaničkom ventilacijom je bila visoka i varirala u zavisnosti od centra i aktuelnog vala pandemije (od 67% do 100% liječenih pacijenata u JIL, uz prosječno trajanje ventilacije od oko 12 dana) [58-60]. Pored invazivne, koristila se

neinvazivna mehanička ventilacija (NIV) i terapija visoko-protočnim kiseonikom (*engl. High Flow Nasal Cannula, HFNC*). Postavljanje bolesnika u prone položaj se koristilo u sklopu liječenja hipoksemije srednje teškog i teškog ARDS-a, kako kod intubiranih, tako i kod neintubiranih bolesnika. Zbog potrebe za produženom mehaničkom ventilacijom je traheotomisano oko 7-13% bolesnika, a zbog bubrežne insuficijencije je oko 5-28% bolesnika trebalo hemodijalizu [61-63]. Budući da je sklonost trombozama jedan od problema kovida, grupa holandskih istraživača je evaluirala incidenciju tromboembolijskih komplikacija kod 184 kritično oboljela pacijenata liječena u JIL koji su dobijali standardnu dozu tromboprofilakse. Nađeno je da je incidenca tromboembolijskih komplikacija bila 31%, od čega je plućna tromboembolija bila najčešća (81%), dok su arterijske tromboze potvrđene u 3.70% slučajeva (u vidu ishemijskih moždanih udara) [64]. Zbog hemodinamske nestabilnosti vazopresornu terapiju je trebalo oko 66% pacijenata. Ekstrakorporalna membranska oksigenacija krvi se koristila kao terapijski modalitet za liječenje najtežih formi ARDS-a u zdravstvenim ustanovama tercijarnog nivoa zdravstvene zaštite. Prema rezultatima metaanalize koja je analizirala 4044 kovid pacijenta liječena sa VV-ECMO-m, obično se radilo o muškarcima (71%), prosječne starosti 51 godinu, sa mortalitetom procjenjenim na 39% [65]. Mortalitet pacijenata liječenih od kovida u JIL se razlikovao prema različitim studijama i valovima pandemije, kretao od 28% do 61,50% i bio je veći kod pacijenata koji su invazivno mehanički ventilirani [66]. Tokom liječenja u JIL se bilježila određena dinamika u laboratorijskim analizama krvi, što se iskoristilo za monitoring i predikciju lošeg ishoda liječenja. Istraživanje Kina i saradnika je pokazalo da pacijenti sa teškom formom kovida u odnosu na blage i srednje teške forme bolesti imaju izraženu limfopeniju, leukocitozu, povećan NLR odnos, markere inflamacije (PCT, feritin, CRP), inflamatornih citokina (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-2R) i smanjene vrijednosti T-limfocita (pomoćničkih i supresorskih) [67]. Tokom pandemije su različite studije prijavljivale sličan profil pacijenata tokom različitih valova pandemije, međutim nađene su razlike u smislu češće upotrebe neinvazivne mehaničke ventilacije, smanjenja potrebe za invazivnom mehaničkom ventilacijom i vazoaktivnim lijekovima, smanjenje trombotičkih komplikacija. Kamen temeljac liječenja kritično oboljelih predstavlja liječenje hipoksemiske respiratorne insuficijencije kiseoničnom terapijom i mehaničkom ventilacijom. Pri invazivnoj mehaničkoj ventilaciji pacijenta sa teškom pneumonijom i ARDS-om su poštovani principi: ventilacije niskim disajnim volumenima, optimalanog pozitivnog end-ekspiratornog pritiska (*engl. positive end-expiratory pressure, PEEP*) i permisivne hiperkapnije. U Republici Srbkoj, osim kiseonične terapije i mehaničke ventilacije, terapijski protokol za liječenje kritično

oboljelih je podrazumjevalo upotrebu remdesivira, kortikosteroida (deksametazon ili metilprednizolon), antikoagulantne terapije i imunomodulatornih lijekova u određenim indikacijama (npr. tocilizumab) [68]. Vakcinacija je doprinijela smanjenju broja oboljelih sa teškom kliničkom slikom koji su trebali liječenje u JIL-u.

## 1.2. OKSIDATIVNI STRES

### 1.2.1. Definicija, karakteristike i značaj oksidativnog stresa

Oksidativni stres označava poremećaj ravnoteže između nivoa oksidanasa i antioksidanasa u organizmu u korist oksidanasa, što potencijalno može uzrokovati oštećenje ćelije i tkiva. Prvi rad na ovu temu su objavili Gerschman i saradnici 1954. godine, sa tezom da je toksičnost kiseonika posljedica štetnog djelovanja njegovih slobodnih radikala. Dvije godine kasnije Harman i saradnici su iznijeli tezu prema kojoj oksidativni stres predstavlja osnovni mehanizam procesa starenja. Smatra se da je povezan sa nastankom različitih bolesti, kao što su kardiovaskularne bolesti, dijabetes, neurodegenerativne bolesti i tumori [69]. Povezan je sa infekcijama, npr. neki respiratori virusi kao što su respiratori sincijalni virus, virus influence i SARS-CoV indukuju proizvodnju enzima nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) oksidaze i ksantin oksidaze [70]. Različiti spoljašnji faktori, kao što su zagađenje, sunčeva svjetlost i pušenje takođe mogu biti trigeri za proizvodnju slobodnih radikala.

Oksidansi su molekule koji nastaju u toku normalnog aerobnog metabolizma i u niskim/srednjim koncentracijama imaju zaštitnu funkciju i posreduju u unutarćelijskoj komunikaciji. Ukoliko je njihova koncentracija prevvelika, narušava se „redoks homeostaza“, što može dovesti do oštećenja ćelijskih lipida, proteina i nukleinskih kiselina [71]. Dolazi do promjene permeabilnosti i elestičnosti membrane, oštećenja membranskih proteina, promjene strukture nuklearne i mitohondrijalne dezoksiribonukleinske kiseline (DNK), oštećenja enzima koji posljedično postaju biološki neaktivni, kao i oštećenja drugih proteina. U živim organizmima ravnotežu oksidansima održavaju različiti antioksidativni sistemi (enzimski i neenzimski) koji su važni u borbi protiv oksidativnog stresa.

Slobodni radikali su veoma reaktivne molekule, atomi ili joni koji imaju jedan ili više nesparenih elektrona u svojoj strukturi, koji imaju mogućnost da daju ili primaju elektrone (ponašaju se kao oksidansi ili reduktanti). Njihova produkcija nije ograničena samo na patološka stanja; slobodni radikali su dio brojnih fizioloških procesa, kao što su fagocitoza, fertilizacija, ovulacija, metabolizam arahidonske kiseline,  $\beta$  oksidacija masnih kiselina, mitohondrijski respiratori lanac, reakcije posredovane citohromom P-450. Međutim, problem

nastaje kada njihova količina postane prekomjerna, što je karakteristično za mnoga patološka stanja [72]. U slobodne radikale ubrajamo reaktivne kiseonične radikale (*engl. reactive oxygen species, ROS*), reaktivne azotne radikale (*engl. reactive nitrogen species, RNS*), reaktivne sumporne radikale (*engl. reactive sulfur species, RSS*), „reaktivna jedinjenja“ koji dovode do stvaranja slobodnih radikala ili koja nastaju u njihovim reakcijama [73]. ROS uključuju: superoksid anjon radikal ( $O_2^-$ ), hidroperoksil radikal ( $HO_2^{\cdot}$ ), hidroksil radikal (-OH), azot oksid (NO), i druga jedinjenja kao što su vodonik peroksid ( $H_2O_2$ ), singlet kiseonik ( $O_2^{\cdot}$ ), hipohloritnu kiselinu ( $HOCl$ ) i peroksinitrit ( $ONOO^-$ ). RNS nastaje reakcijom NO sa  $O_2^-$ , pri čemu nastaje peroksinitrit ( $ONOO^-$ ). RSS nastaju reakcijom slobodnih radikala sa tiolima [74]. Glavne ćelijske organele u kojima se stvaraju slobodni radikali su mitohondrije, koje su zadužene za stvaranje energije procesom oksidativne fosforilacije kroz stvaranje adenozin trifosfata (ATP). Drugi izvori ROS-a mogu biti reakcije koje uključuju peroksizmalne oksidaze, enzime citochroma P-450, NAD(P)H oksidaze ili ksantin oksidaze. Molekularni kiseonik se može redukovati do vode kroz nastajanje superoksid anjon radikala, vodonik peroksida i hidroksilnog radikala, što korelira sa redukcijom jednog, dva ili tri elektrona. Ljudski organizam svakodnevno proizvodi približno 5 grama ROS, uglavnom procesom oksidativne fosforilacije, pri čemu su glavni produkti  $O_2^-$  i  $H_2O_2$ . Oni doprinose vaskularnoj disfunkciji kroz: 1. smanjenje bioraspoloživosti za NO, 2. poremećaj endotelom-poredovane vazodilatacije i endotelni ćelijski rast, 3. potenciranje apoptoze, 4. stimulaciju migracije endotelnih ćelija i 5. aktivaciju adhezijskih molekula i inflamacije [75].

### 1.2.2. Prooksidansi

Prooksidansi su molekule ili supstance, endobiotici ili ksenobiotici, koje indukuju oksidativni stres povećanim stvaranjem slobodnih radikala ili inhibicijom antioksidativnih sistema. Oni se dijele u nekoliko kategorija: lijekovi (paracetamol, metotreksat), metali (Mn, Fe, Cu, Zn), pesticidi (BHC, DDT), fizička aktivnost (trčanje), mentalno stanje (anksioznost), određena patološka stanja (lokalna ishemija), vremenski uslovi (toplota, hladnoća), zagađivači okoline (ozon, sumpor dioksid, dim cigarete, azot oksidi), zračenje (ionizirajuće i nejonizirajuće) i antioksidansi (vitamin C, E, polifenoli) [76]. Čak se i antioksidansi mogu ponašati kao prooksidansi: opisana su bar tri faktora koja određeni antioksidans mogu pretvoriti u prooksidans uključujući jone metala, koncentraciju antioksidansa i njegov redoks potencijal. Flavonoidi ( $\beta$ -karoten i ostali karotenoidi) se mogu ponašati kao prooksidansi u zavisnosti od redoks potencijala molekule i sredine u kojoj djeluju. Na ovo utiče nekoliko faktora, kao što su parcijalni pritisak kiseonika ( $pO_2$ ), koncentracija karotenoida i njihova interreakcija sa drugim

antioksidantima [77]. Slično je opisano za vitamin C koji je potentni antioksidans, ali koji se u velikim količinama može ponašati kao prooksidans (1000 mg/kg tjelesne težine), ili kada se kombinuje sa željezom i bakrom redukujući trovalentno u dvovalentno željezo (ili trovalentni u dvovalentni bakar), što zauzvrat redukuje vodonik peroksid u hidroksil radikal. Najznačajniji prooksidansi i njihov odnos sa antioksidansima su prikazani na slici broj 5.

- **Vodonik peroksid ( $H_2O_2$ )**

Vodonik peroksid ( $H_2O_2$ ) je prooksidans koga proizvode sve ćelije i koji ima važne fiziološke funkcije, kao što su transmembranski prenos signala, genska ekspresija, ćelijska diferencijacija i metabolizam insulina. Pod normalnim uslovima, ovo je molekula slabe reaktivnosti, može se ponašati kao slabo oksidaciono ili redupciono sredstvo i ne oksidiše lako većinu biološki aktivnih molekula, uključujući lipide, DNK i proteine. On je liposolubilan, lako difunduje kroz membrane, međutim ako se produkuje u velikim količinama, postaje štetan. Opasnost od  $H_2O_2$  dolazi od njegove lake konverzije u reaktivni hidroksil radikal ( $OH\cdot$ ), bilo izlaganjem ultravioletnom zračenju ili interakcijom sa različitim jonima prelaznih metala, od kojih je *in vivo* najvažnije gvožđe [78]. Povećana koncentracija  $H_2O_2$  je potvrđena u stanjima kao što su ulcerozni kolitis (nađena je značajno povišena koncentracija u sluznici kolona), sepsa (toksičnost  $H_2O_2$  bi mogla dovesti do imunosupresije, hipotenzije i organske disfunkcije), sistemskom eritemskom lupusu (povećana količina  $H_2O_2$  dovodi do povećane limfocitne i makrofagne apoptoze) [79]. Glavni izvori  $H_2O_2$  uključuju flavin zavisne oksidaze (npr. oksidoreduktazu endoplazmatskog retikuluma, ERO1; acetil koenzim A oksidaze u peroksizomima) i supeoksid dizmutaze. Superoksid dizmutaze katališu dismutaciju superoksid anjon radikala ( $O_2^-$ ) koji se dominantno stvara u mitohondrijalnom transportnom lancu elektrona i pomoću NADPH oksidaza koje su lokalizovane u različitim subcelularnim odjeljcima. Glavni enzimi koji uklanjaju  $H_2O_2$  su katalaza i peroksidaze, kao što su glutation peroksidaza i peroksiredoksini [80].

- **Superoksid-anjon-radikal ( $O_2^-$ )**

Molekul kiseonika ( $O_2$ ) ima slabu reaktivnost, ali se može transformisati u reaktivne kiseonične radikale ako se aktivira energijom. Postoje četiri oksidisane forme kiseonika: dioksigen ( $O_2^n$ ), dioksigen katjon ( $O_2^+$ ), superoksid anjon ( $O_2^-$ ) i peroksid dianjon ( $O_2^{2-}$ ), među kojima je superoksid anjon radikal posebno interesantan. Termin "superoksid" je predložen od strane naučnika kako bi se istakla jako velika reaktivnost i snažna oksidantna aktivnost. U tijelu se stvara na dva glavna načina: u mitohondrijalnom transportnom lancu elektrona i pomoću

fagocitne NADPH oksidaze, tako da je on zapravo nusproizvod respiracije i ključna komponenta imunog sistema. Pored toga što uzrokuje oksidativni stres, on dovodi do promjena genetskog materjala, funkcije proteina i enzima, oslobađanje dvovalentnog željeza i inaktivacije NO. U normalnim uslovima, superoksid dizmutaza (SOD) održava koncentraciju  $O_2^-$  u optimalnom opsegu [81].

- **Nitriti ( $NO_2^-$ )**

Nitriti ( $NO_2^-$ ) su hemijska jedinjenja koja nastaju oksidacijom azot monoksida (NO). Osim što se stvaraju u tijelu, ova jedinjenja se koriste široko u hemijskoj, farmaceutskoj i industriji hrane. Oksidacijom nitriti prelaze u nitrat ( $NO_3^-$ ). Određivanje nitrita se može koristiti za indirektno mjerjenje i praćenje NO, koji je veoma reaktivna molekula.

Iako je NO otkriven u 18. vijeku, nije se znao mehanizam djelovanja sve do 1987. godine, kada su Katsuki i saradnici otkrili kako je NO posredovana vazodilatacija rezultat stimulacije solubilnom guanil ciklazom. NO nastaje iz L-arginina i kiseonika pod djelovanjem enzima azot oksid sintaze (NOS), pri čemu kao nus proizvod nastaje L-citrulin. Radi se o nestabilnoj molekuli sa kratkim poluvremenom života (6-10 sekundi), a vežući se sa kiseonikom stvara stabilne završne produkte nitrat ( $NO_3^-$ ) i nitrite ( $NO_2^-$ ). Postoje tri forme NOS: neuronska, inducibilna i endotelijalna. NO je regulator i posrednik nekoliko različitih procesa u imunološkom, kardiovaskularnom i nervnom sistemu, kao što su neurotransmisija i relaksacija glatkih mišića. On je uključen u mnoga patološka stanja kao što su septični šok, ishemijski moždani udar, neurodegenerativne bolesti i hipertenzija. Relaksacija glatkih mišića sa NO se ostvaruje preko guanilat ciklaze na više načina: a) smanjenjem intracelularne koncentracije Ca preko smanjenja intracelularne koncentracije cGMP, b) aktivacijom  $K^+$  kanala što rezultira relaksacijom i hiperpolarizacijom, i c) stimulacijom lakih lanaca miozina što uzrokuje relaksaciju glatkih mišića [82].

### 1.2.3. Antioksidansi

Antioksidansi su supstance koje spriječavaju, smanjuju ili odlažu oksidaciju materija kao što su proteini, lipidi, ugljeni hidrati i nukleinske kiseline. Oni smanjuju količinu ROS na način da smanjuju ekspresiju ili aktivnost enzima koji učestvuju u produkciji slobodnih radikala (kao što su ksantin ili NADPH oksidaza) ili da pojačavaju ekspresiju i aktivnost antioksidativnih enzima, kao što su glutation peroksidaza, katalaza i superoksid dizmutaza. Prva su linija odbrane protiv štetnih efekata slobodnih radikala i važni su za održavanje dobrog zdravlja. Postoje endogeni (stvara ih tijelo) ili egzogeni (unose se spolja hranom ili različitim dijeteskim

suplementima), odnosno enzimski (npr. superoksid dizmutaza, katalaza, glutation peroksidaza) i neenzinski (npr. vitamin C, vitamin E, vitamin A, selen, transferin, lakoferin) antioksidansi. Ključni antioksidansi uključuju superoksid dizmutazu, katalazu, glutation peroksidazu, kao i vitamine, kao što su  $\alpha$  tokoferol,  $\beta$  karoten i vitamin C. Takođe su značajni i neenzimski antioksidansi, kao što su karotenoidi, flavonoidi, melatonin i tiolni antioksidansi, uključujući lipoinsku kiselinu i glutation [73,83]. Problem nastaje zbog smanjenog unosa antioksidanasa, smanjenja sinteze endogenih antioksidativnih enzima ili njihovog prekomjernog trošenja.

Najznačajniji oksidansi i antioksidansi su prikazani na slici broj 5.

- ***Superoksid dizmutaza (SOD)***

Superoksid dizmutaza (SOD) je enzim otkriven 1960-ih godina od strane američkih istraživača (Joe McCord and Irwin Fridovich). Pripada grupi metaloenzima, a katalizuje pretvaranje superoksid anjon radikala u  $H_2O_2$  i molekularni kiseonik, čime smanjuje njegovu koncentraciju koja može biti vrlo štetna po ćeliju. Dalje se  $H_2O_2$  redukuje do vode uz pomoć enzima katalaze, glutation peroksidaze ili tioredoksin-zavisnih peroksireoksin enzima. Postoji više izoenzima superoksid dizmutaze, pri čemu je najzastupljenija SOD1 koja sadrži bakar (Cu) i cink (Zn) i koja se može naći u jedru, citoplazmi, peroksizomima, lizozomima i intermembranskom prostoru mitohondrija. SOD2 sadrži mangan (Mn) i nalazi se predominantno u mitohondrijskom matriksu, dok SOD3 takođe sadrži Cu i Zn i nalazi se u ekstracelularnom prostoru. Nivo SOD u tijelu opada sa starenjem, čineći nas sve podložnijim bolestima koje su povezane sa oksidativnim stresom. Različite studije su proučavale upotrebu SOD u terapijske svrhe, npr. u kozmetici kao sastojak anti-age linija. Smatra se da je povezana sa različitim bolestima kao što su bolesti eritrocita, cistična fibroza, tumori, amiotrofična lateralna skleroza, steroid senzitivni nefrotski sindrom i Alchajmerova bolest [84-86].

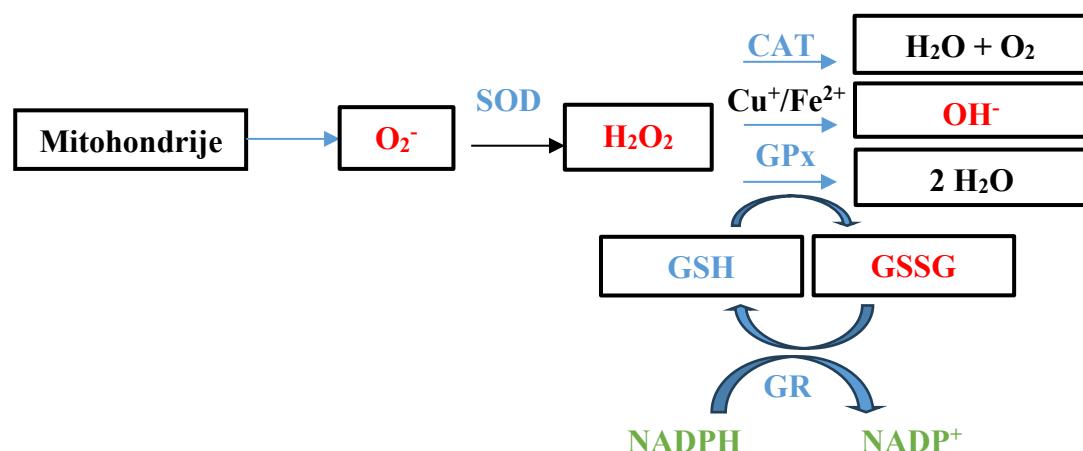
- ***Katalaza (CAT)***

Katalaza je jedan od najvažnijih antioksidativnih enzima u aerobnim organizmima. Građena je od četiri podjedinice, pri čemu svaka podjedinica sadrži jednu molekulu hema. Smještena je u peroksizomima i ima molekularnu težinu od 220-240 kDa. Katalizuje hemijsku reakciju pretvaranja 2 molekule toksičnog  $H_2O_2$  u jednu molekulu kiseonika i dvije molekule vode u dvostepenoj reakciji. U zavisnosti od strukture, razlikujemo tri vrste katalaze: monofunkcionalni hem-sadržavajući enzim (najzastupljenija forma, prisutna u svim aerobnim organizmima), bifunkcionalna katalaza-peroksidaza (manje zastupljena u prirodi, sadrži takođe hem grupu, usko povezana sa biljnim peroksidazama) i katalaze koje u svom sastavu imaju mangan (nemaju hem). Deficijencija ili malfunkcija ovog enzima se povezuje sa mnogim

bolestima kao što su dijabetes, vitiligo, kardiovaskularne bolesti, Wilsonova bolest, hipertenzija, anemija, Alchajmerova bolest, bipolarni poremećaji i shizofrenija [87].

- **Glutation peroksidaza (GPx)**

Selen-zavisna glutation peroksidaza je enzim koji se nalazi u svim ćelijama i koji kao supstrat koristi vodonik peroksid i druge perokside. Glutation je inače jedan od najvažnijih antioksidanasa u živim sistemima (sastoji od tri aminokiseline: cistein, glicin i glutaminske kiseline), sa značajnom karakteristikom da se može stvarati u svim ćelijama (sinteza ili regeneracija od oksidisanog glutationa) ili unositi iz vanjske sredine, kada se hidrolizuje uz pomoć  $\gamma$ -glutamil transferaze ili dipeptidaze do osnovnih aminokiselina. Njegova sinteza u citosolu se odvija uz pomoć enzima glutation-sintaze ili glutamat-cistein ligaze, na koje mogu imati uticaj mnogi faktori (npr. hipoksija djeluje inhibitorno na sintezu glutationa tako što smanjuje aktivnost ovih enzima, dok izlaganje reaktivnim kiseoničnim radikalima djeluje stimulatorno u smislu da podstiče aktivnost ovih enzima). Glutation postoji u dva oblika: redukovanim (dominantan oblik) i oksidovanom obliku (izlučuje se iz ćelije formi disulfida ili se redukuje uz pomoć NADPH-zavisne glutation reduktaze; njegova povećana količina je pokazatalj oksidativnog stresa). Glavna uloga se sastoji u redukciji  $H_2O_2$  i lipidnih hidroperoksidova uz pomoć enzima glutation-peroksidaze, a poremećena koncentracija je nađena u mnogim bolestima kao što su dijabetes, maligne bolesti, neurodegenerativne i jetrene bolesti.



**Slika 5.** Prikaz međusobne relacije najznačajnijih prooksidanasa i antioksidanasa

Skraćenice:  $O_2^-$ , superoksid-anjon-radikal;  $H_2O_2$ , vodonik-peroksid; SOD, superoksid dizmutaza; CAT, katalaza;  $OH^-$ , hidroksil-radikal;  $Cu^+$ , jon bakra;  $Fe^{2+}$ , jon gvožđa; GPx, glutation-peroksidaza; GSH, redukovani glutation; GSSG, oksidisani glutation; GR, glutation reduktaza;  $NADP^+$ , nikotinamid adenin dinukleotid fosfata; NADPH, redukovani oblik nikotinamid adenin dinukleotid fosfata.

#### **1.2.4. Oksidativni stres i kritična bolest**

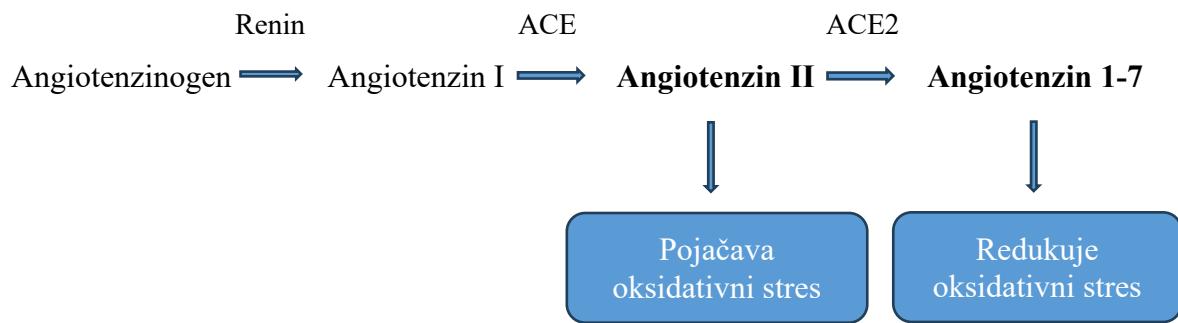
Smatra se da je oksidativni stres važna komponenta kritične bolesti i da je povezana sa lošom prognozom pacijenata koji se liječe u jedinicama intenzivnog liječenja. Iako ovi pacijenti predstavljaju heterogenu populaciju, oni se odlikuju postojanjem visokog nivoa oksidativnog stresa i kompromitovanim antioksidantnim sistemom. Uz povećanu produkciju reaktivnih kiseoničnih i azotnih spojeva, malnutricija ove kategorije pacijenata predstavlja dodatni problem. Većina enteralnih i parenteralnih pripravaka za ishranu ne sadrži potrebne količine antioksidanasa (npr. vitamin C ili E) i antioksidantnih prekursora (npr. cistein za sintezu glutationa ili nikotinamid ribozid za sintezu NADPH) [88]. Oksidativni stres u kritičnoj bolesti može biti povezan sa aktivacijom fagocita (neutrofila, monocita, makrofaga i eozinofila), produkcijom NO i oslobođanjem jona željeza, bakra i metaloproteina. Stanja kao što su sepsa ili ARDS se odlikuju povećanom proizvodnjom ROS i drugih slobodnih radikala, dok kod opekotina aktivacija ksantin oksidaze predstavlja glavni izvor ROS. Kod pacijenata sa kardiocirkulatornim šokom postoje povećani eritrocitni slobodni malondialdehid i ukupni plazma lipoperoksiidi, dok su značajno sniženi eritrocitni glutation i koncentracija vitamina E u plazmi [89]. Studija sprovedena kod 433 kritično oboljela pacijenata liječena u jedinicama intenzivne njage u Americi je pronašla povećanu potrošnju NO među kritično oboljelim pacijentima u poređenju sa zdravom populacijom, uz povećan haptoglobin i smanjen slobodni hemoglobin. Takođe, vrijednosti potrošnje NO su nisu značajno razlikovale među pacijentima u studiji sa ARDS-om, sepsom i šokom, ali su se značajno razlikovale u poređenju sa zdravom populacijom. Vrijednosti NO su se značajno razlikovale između pacijenata koji su preživjeli i pacijenata koji nisu preživjeli (oni koji nisu preživjeli su imali veću potrošnju NO), tako da su vrijednosti NO bili nezavisni prediktor hospitalnog mortaliteta [90]. U sepsi kod kritično oboljelih pacijenata je nađen visok nivo oksidativnog stresa u poređenju sa zdravom populacijom i značajno smanjena aktivnost antioksidanasa, posebno superoksid dizmutaze [91]. Značajna je uloga oksidativnog stresa u patogenezi akutne bubrežne povrede u sklopu kritične bolesti. Jedan od glavnih mehanizama oštećenja uključuju ćelijsku apoptozu, lipidnu peroksidaciju i poremećenu koncentraciju Ca [92]. Eksces kiseonika može dovesti do oksidativnog stresa na tri načina: 1) povećanom produkcijom ROS kroz eksces u dostavi kiseonika respiratornom lancu i mitohondrijama, 2) povećanom produkcijom nitro jedinjenja kao posljedica reakcije ROS i NO i 3) lipidnom peroksidacijom koja kompromituje stabilnost i funkciju ćelijske membrane. U normalnim uslovima, O<sub>2</sub> se redukuje do H<sub>2</sub>O u unutrašnjoj membrane mitohondrija, ali 0,10 - 2 % se redukuje procesima oksidativne fosforilacije do O<sub>2</sub>.

On reaguje u endotelu sa NO, stvara se najreaktivnija forma azotnog jedinjenja peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ), što smanjuje količinu NO u endotelu i dovodi do lokalne vazokonstrikcije. Studija HYPers2s sprovedena na 442 mehanički ventilirana pacijenta je pokazala povećanu smrtnost kod pacijenata ventiliranih sa 100% kiseonikom prvih 24 sata liječenja, kao i povećanje stope mišićne slabosti i atelektaza u odnosu na grupu pacijenta sa normooksijom [93].

### **1.2.5. Oksidativni stres kod oboljelih od kovida 19**

Brojne studije pokazuju da oksidativni stres igra značajnu ulogu u nastanku i progresiji različitih virusnih infekcija, kao što su infekcije sa humanim respiratornim sincijalnim virusom, rinovirusima i drugim. U ranim fazama kovid infekcije produkcija ROS pomaže tijelu da aktivira imuni sistem i inhibiše virusnu replikaciju. Ipak, u teškim formama bolesti, nekontrolisana proizvodnja ROS i oksidativni stres mogu poticati inflamaciju, što dovodi do oštećenja tkiva i razvoja multiple organske disfunkcije. Kako infekcija traje, dolazi do smanjenja ukupnog antioksidativnog kapaciteta organizma i pogoršanja oksidativnog statusa. Postmortem analize plućnog tkiva pacijenata sa virusnim infekcijama pokazuju povećan nivo oksidisane DNK, lipida i proteina, a povećana ekspresija NO sintaze 2 i nitratnih proteina su dokazi značajnog oksidativnog i nitrozativnog stresa. Producija ROS može uzrokovati oštećenje plućnog tkiva i biti okidač za inflamatorni odgovor, a poremećaj redoks ravnoteže dalje doprinosi progresiji ARDS-a i razvoju respiratorne insuficijencije [94]. Neutrofili u kovidu putem ekscesivnog stvaranja ROS mogu proširiti lokalni inflamatorni odgovor, tako da on postane sistemski, što objašnjava njihovu uključenost u procese kao što su ateroskleroza i tromboza. Oni mogu uticati na lipide membrane, integrine i citoplazmatske proteine različitih cirkulišućih ćelija, kao što su na primjer eritrociti, koji mogu postati disfunkcionalni. Oksidacija polinezasićenih masnih kiselina u membrani eritrocita dovodi do promjene membrane, što utiče na difuziju  $\text{O}_2$  i  $\text{CO}_2$  i njenu smanjenu savitljivost pri prolasku eritrocita kroz kapilare. Promjena membrane utiče i na oslobođenje ATP-a i NO. Takođe, višak ROS može poremetiti ravnotežu  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ , a gvožđe se mora održavati u  $\text{Fe}^{2+}$  da bi moglo vezati  $\text{O}_2$ . Prisustvo markera oksidativnog stresa (npr. lipidne peroksidacije i visokog odnosa neutrofili/limfociti) kod pacijenata sa kovidom može pomoći da se identifikuju osobe sa rizikom u ranim fazama bolesti i spriječi iznenadno pogoršanje [95].

Postoji i povezanost između oksidativnog stresa i RAAS u kovidu, na način da visoke koncentracije Ang II i niske koncentracije Ang 1-7 doprinose nastanku oksidativnog stresa (Slika 6).



**Slika 6.** Povezanost oksidativnog stresa i RAAS sistema

Iako se mnogo spekulisalo u vezi sa ulogom oksidativnog stresa u kovidu i njegovog uticaja na tok i ishod bolesti, ne postoji mnogo publikacija na ovu temu sa jasnim zaključcima. Istraživanje koje su sproveli Daskay i Yilmaz obuhvatilo je analizu 31 pacijenta u smislu ispitivanja oksidanasa, antioksidanasa, katalaze i mijeloperoksidaze na dan prijema u JIL, nije pokazalo značajnu korelaciju između težine bolesti i dobijenih rezultata, niti korelaciju između parametara OS i ishoda liječenja [96]. Rad Mehrija i saradnika koji je obuhvatio 48 pacijenata (od toga 24 koja su imala kovid, 10 liječenih u JIL) je pokazao postojanje oksidativnog stresa kod kovid pacijenata. Kod pacijenata oboljelih od kovida su nađene veće vrijednosti katalaze i superoksid-dizmutaze, s tim da nije bilo razlike između pacijenata koji su liječeni u JIL i koji nisu liječeni u JIL. Vrijednosti malonilaldehida kao indikatora lipidne peroksidacije su bile značajno povišene kod pacijenata oboljelih od kovida, značajnije kod grupe ispitanika koja je liječena u JIL [97]. Studija rađena u Iranu koja je obuhvatila 96 pacijenta (od toga 33 pacijenta su liječena u JIL) je pokazala da pacijenti koji su liječeni u JIL imaju veći nivo oksidativnog stresa, niže vrijednosti glutationa, a razlika u antioksidativnom kapacitetu je bila niža za pacijente koji su bili intubirani u odnosu na pacijente koji nisu bili intubirani [98]. Na kraju, u kontekstu kovida, jedna od strategija za borbu protiv ove bolesti bi bila redukcija ili prevencija oksidativnog stresa, što bi potencijalno moglo uticati na tok bolesti i ishod liječenja.

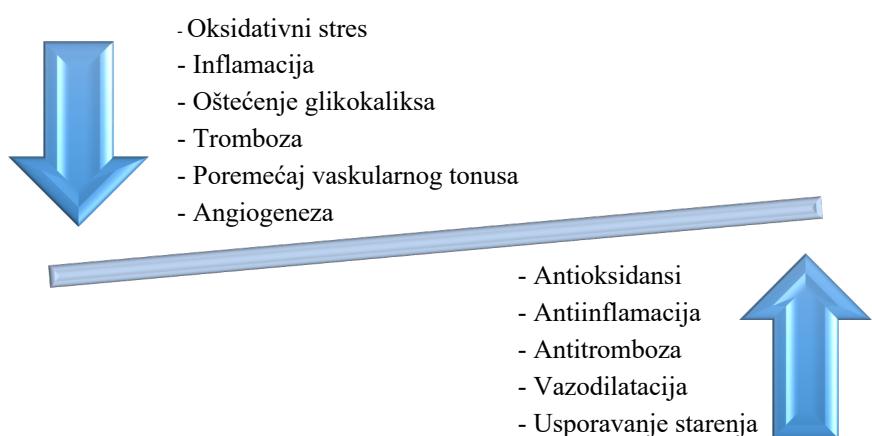
## **1.3.ENDOTELNA DISFUNKCIJA**

### **1.3.1. Definicija, karakteristike i značaj endotelne disfunkcije**

Endotel podrazumjeva jedan sloj pločastih ćelija koji oblažu unutrašnju površinu srca i svih krvnih i limfnih sudova. Histološki posmatrano, endotelne ćelije bazalnim polom leže na bazalnoj lamini, apikalnim polom koji je pokriven slojem glikokaliksa su usmjerene prema lumenu krvnog suda, dok su lateralnim stranama povezane međućelijskim spojevima (okludentni, adherentni i komunikacijski spojevi). Procjenjuje se da je površina endotela veća od  $1000 \text{ m}^2$  i da ima brojne uloge (modulacija vaskularnog tonusa, dinamična permeabilnost, uloga u trombozi, inflamaciji i angiogenezi). Glatka apikalna površina ćelije pruža minimalan otpor protoku krvi, ograničava permeabilnost endotelne ćelije, adheziju i emigraciju leukocita, utiče na proces angiogeneze i metabolički status ćelije. Tu se nalaze specifične strukture koje učestvuju u procesima pinocitoze, fagocitoze, transcitoze i endocitoze. Endotel sekretuje vazokonstriktorne i vazodilatatorne supstance između kojih u normalnim okolnostima postoji ravnoteža. Među vazodilatatornim supstancama su najznačajniji NO i prostaciklin 2 (PGI<sub>2</sub>), dok je među vazokonstriktornim supstancama najznačajniji endotelin-1. Od navedenih je posebno značajna aktivnost NO i smatra se najvažnijim kliničkim znakom funkcije endotela. Pored uloge u regulaciji krvnog pritiska i protoka krvi, NO ima supresivni efekat na migraciju i proliferaciju glatkih mišićnih ćelija, adheziju leukocita, na aktivaciju i agregaciju trombocita i apoptozu. Endotel predstavlja i endokrini organ koji luči prostacikline, citokine, vWF, trombomodulin, tkivni plazminogen aktivator, faktor koji aktivira trombocite, proteine bazalne membrane, adhezione molekule, vazoaktivne supstance, heparin sulfat, proteoglikane, slobodne radikale i matriksne metaloproteinaze [99].

Endotelna disfunkcija se karakteriše poremećajem ravnoteže između susptanci koje imaju vazodilatatorna, antitrombotička i antiproliferativna svojstva (NO, prostaciklin i endotelin-zavisni hiperpolarizirajući faktor) i supstanci koje imaju vazokonstriktorna, protrombogena i proliferativna svojstva (superoksid anjon, endotelin-1 i konstriktorni prostaglandini). Prva demonstracija endotelne disfunkcije u aterosklerotičnim arterijama je pokazana 1986. godine u radu Ganza i saradnika, u kome je dokazana paradoksalna vazokonstrikcija koronarnih krvnih sudova kao odgovor na injekciju acetilholina (odgovor zdravih krvnih sudova je vazodilatacija) [100]. Postoji mnogo predloženih mehanizama nastanka endotelne disfunkcije, međutim smatra se da su inflamacija i oksidativni stres ključni u njenom nastanku. Shodno ovome, ova dva procesa se razmatraju kao cilj intervencije kod bolesnika sa kardiovaskularnim i metaboličkim bolestima [101]. Glavni izvor ROS su leukociti, koji aktivirani postaju

adherentni za endotel, međutim aktivirani endotel takođe sam može stvarati ROS. Endotelna disfunkcija se može dokazati kod mnogih bolesti, u prvom kardiovaskularnim bolestima. Osjetljive grupe predstavljaju osobe sa hipertenzijom, dislipidemijom, dijabetesom, zapaljenjem ili infektivnom bolesti, pušači, osobe starije životne dobi, gojaznost, hiperhomocistenemija, ili osobe koje imaju nedostatak magnezijuma. Za mjerjenje endotelne disfunkcije se koriste funkcionalni testovi koji se rade na koronarnim arterijama (invazivni, često praktično nezvodivi) i testovi koji se rade na perifernim arterijama, najčešće brahijalnoj (testovi protokom posredovane vazodilatacije). Postojanje endotelne disfunkcije u perifernim i koronarnim arterijama nije samo faktor rizika za kardiovaskularne bolesti, već i pokazatelj progresije ateroskleroze i potencijalnih kardiovaskularnih incidenata [102]. Budući da je blisko povezana sa kardiovaskularnim bolestima koji su globalno vodeći uzrok morbiditeta i mortaliteta, istraživanje endotelne disfunkcije je interesantno brojim istraživačima. U mnogim situacijama se radi o reverzibilnom poremećaju i intervencije su usmjerene na redukciju faktora rizika, kao što su redukcija holesterola, liječenje hipertenzije, prestanak pušenja, terapija ACE inhibitorima, supstitucionu terapiju estrogenima kod žena u postmenopauzi, suplementacija folnom kiselinom i redovna fizička aktivnost. Primjena ovih intervencija rezultuje poboljšanjem funkcije endotela, što govori u prilog bliske veze između faktora rizika i endotelne disfunkcije [103]. U kliničkoj praksi se sreće i privremena endotelna disfunkcija u sklopu akutnih bolesti, nakon jakog fizičkog napora ili uzimanja određene hrane. Faktori koji djeluju štetno preventivno na endotel su šematski prikazani na slici broj 7.



**Slika 7.** Faktori koji djeluju štetno i protektivno na endotel

### **1.3.2. Inflamacija**

Kod infekcije ili povrede tkiva dolazi do aktivacije endotelnih ćelija, koje pokreću različiti stimulusi uključujući bakterijske endotoksine, inflamatorne citokine (TNF- $\alpha$ , IL i IFN- $\gamma$ ) ili aktivacijom receptora prepoznavanja (*engl. Pattern Recognition Receptor, PRR*) koji prepoznaju PAMP i DAMP. Njihovom aktivacijom dolazi do povećane ekspresije proinflamatornih molekula, što dovodi do pojačanja inflamacije i aktivacije leukocita. Na površini endotelnih ćelija se eksprimiraju molekule kao što su E-selektin, ICAM-1 i VCAM-1, koje mogu reagovati sa cirkulišućim leukocitima. Osim adhezionih molekula, endotelne ćelije luče i eksprimiraju hemokine na svojoj površini, uz ekstravazaciju leukocita kroz tjesne veze između endotelnih ćelija, uzrokujući endotelitis [104]. Povećanje količine cirkulišućih citokina, posebno IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-2R i TNF- $\alpha$ , je karakteristično za teške forme kovida (“sindrom citokinske oluje”). Njih izlučuju različite grupe ćelija, uključujući i endotelne ćelije. IL-6 indukuje povećanu permeabilnost, dalje oslobađanje citokina, ekspresiju adhezivnih molekula i aktivaciju komponente komplementa 5a. Endotelne ćelije luče i IL-8 i MCP-1; aktivirajući neutrofile i monocite, aktivira se iNOS, dovodeći do vazodilatacije. Povećanje citokina aktivira trombocite (mnogi teško oboljeli pacijenti imaju hiperkoagulabilnu krv) i grupisanje leukocita u mikrocirkulaciji. Inicijalna brza virusna repikacija sa oštećenjem epitelnih i endotelnih ćelija pokreće oslobađanje proinflamatornih citokina i dalju inflamaciju, uz gubitak funkcije RAAS i ACE2. Genetička susceptibilnost povezana sa genima za ACE2, TNF, IL-10, takođe utiče na jačinu inflamatornog odgovora u ARDS-u [105]. Smatra se da citokinska oluja doprinosi hiperinflamaciji u plućima što rezultuje ARDS-om, ali osim u plućima, ona uzrokuje multiorgansko oštećenje (srca, jetre, bubrega i drugih organa). Neke metaanalize sugerisu cutt-off vrijednost za IL-6 > 55pg/mL za identifikaciju pacijenata sa rizikom za teške forme kovida i IL-6 > 80 pg/mL za identifikaciju pacijenata koji imaju rizik od smrtnog ishoda. Kod oboljelih se nalaze povišeni markeri akutne upale kao što su CRP, feritin, TNF- $\alpha$  i neutrofili.

### **1.3.3. Koagulacija**

U terminologiju patofiziologije kovida je uveden pojam „imunotromboza“ ili „tromboinflamacija“, kao jedan od ključnih komponenti ARDS-a, a označava pokretanje i povezanost između trombocita i neutrofila, t.j. medijatora inflamacije i koagulacije na mjestu endotelne povrede. Inače, termin „tromboinflamacija“ je uveden 2009. godine od strane Blera

i saradnika, za otkriće da tolični receptor TLR2 osim što ima ulogu da pokreće inflamaciju, promoviše i trombozu [106]. Poznato je da inflamacija inicira koagulaciju, smanjuje prirodne antikoagulantne mehanizme i ometa fibrinolitički sistem. Inflamatorni citokini (npr. TNF- $\alpha$  i IL-6) su glavni medijatori uključeni u aktivaciju koagulacije [107]. Zbog hiperkoagulabilnosti dolazi do tromboze na nivou mikrocirkulacije u plućima i sistemskoj cirkulaciji. Pojava duboke venske tromboze i plućne tromboembolije je česta kod pacijenata oboljelih od kovida, a posebno visoka prevalencija je zabilježena kod pacijenata koji se liječe u JIL [108, 109]. Proces tromboze može zahvati i venski i arterijski sistem. U početnoj fazi bolesti, obično su povišeni D-dimer i fibrinogen, dok su aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (aPTT), protrombinsko vrijeme (PT) i broj trombocita u referentnom opsegu. U nastavku bolesti, posebno kod kritično oboljelih pacijenata, razvija se trombocitopenija, produžen PT i aPTT, povišen D-dimer [110, 111]. U rutniškoj praksi i kliničkoj radu posebnu primjenu je našao D-dimer, koji se koristio za skrining potencijalnog tromboembolizma, ali i kao negativni prediktor ishoda liječenja [112]. Određeni faktori koagulacije (II, V, X, XI, XII, XIII), protein C i D-dimer se izdvajaju kao mogući prediktori toka bolesti i ishoda liječenja u JIL [113].

#### **1.3.4. Vazomotorni poremećaji**

U zdravim krvnim sudovima, endotel reguliše vaskularni tonus uz pomoć autakoida, uključujući NO i prostaciklin. NO djeluje na način da aktivira solubilnu guanil-ciklazu u vaskularnim glatkim mišićnim ćelijama, što dovodi do produkcije guanozin-monofosfata i posljedične vazodilatacije. Stimuli koji dovode do oslobađanja različitih vazodilatatornih supstanci su serotonin, trombin, adenosin, bradikinin i insulin. Endotel može oslobađati i vazokonstriktorne supstance kao što su prostanoidi i endotelin-1 [114]. Jedan od pokazatelja endotelne disfunkcije je određivanje selektina u cirkulirajućoj krvi (E-selektin, P-selektin) koji predstavljaju molekule važne za adheziju i migraciju leukocita. Aktivirani leukociti se nakon kontakta sa njima vezuju za površinu endotela, trombocita ili drugih leukocita. Slično selektinima, adhezijske molekule, ICAM-1, VCAM-1 i trombocitna adhezijska molekula 1 (*engl. Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule -1, PECAM-1*) takođe moduliraju adheziju i kretanje leukocita. Solubilne forme adhezionih molekula su nadene povišene u plazmi u različitim inflamatornim stanjima. Važan događaj u endotelnoj disfunkciji je oštećenje glikokaliksa na površini endotela, što može dovesti do kapilarnog *leak* sindroma, edema, aktivacije inflamacije, koagulacije i gubitka vaskularnog tonusa. Oštećenje glikokaliksa je

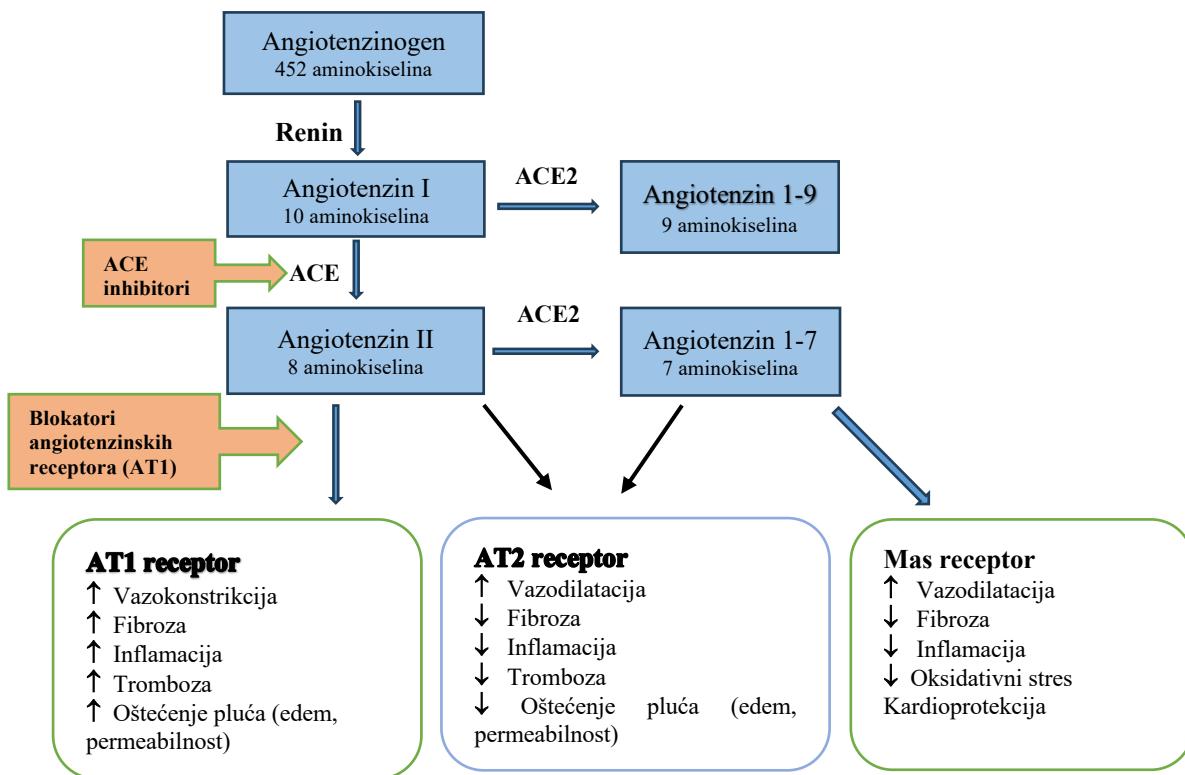
zapaženo kod kovid pacijenta u akutnoj fazi bolesti [115]. Sistematski pregled i metaanaliza Lampsasa i saradnika je pokazala povezanost između određenih endotelnih biomarkera i kliničke prezentacije bolesti, posebno E-selektina, VCAM-1, angiopoetina-2, vWF antiga, gdje su veće vrijednosti izmjerene kod kritično oboljelih pacijenta [116].

### 1.3.5. Renin-angiotenzin-aldosteron sistem

Ovaj važan fiziološki sistem je uključen u regulaciju krvnog pritiska, vodeno-elektolitnog balansa i sistemskog vaskularnog otpora. Njegove glavne komponente su: angiotenzinogen, renin, angiotenzin konvertujući enzim (ACE), angiotenzinski peptidi, angiotenzinski receptor i angiotenzinaze.

Renin je enzim koji se stvara u juktaglomerularnim ćelijama bubrega i luči u cirkulaciju pod uticajem stimulusa kao što su smanjen volumen krvi, smanjen renalni perfuzioni pritisak i smanjena koncentracija natrijuma u plazmi. Supstrat za renin je angiotenzinogen, protein koji se najvećim dijelom sintetiše u hepatocitima, ali i adipocitima, nervnom sistemu i bubrežima. Stimuli za sintezu angiotenzinogena su inflamacija, glikokortikoidi, tiroidni hormoni, insulin i angiotenzin II. Kada renin djeluje na angiotenzinogen, on vrši cijepanje njegove molekule na neaktivni dekapeptid angiotenzin I (Ang I) i ostatak, des-Ang I-angiotenzinogen. Dalje se Ang I pod uticajem enzima ACE pretvara u angiotenzin II (Ang II). Enzim ACE se nalazi u ćelijama endotela, epitela i neuroepitela, a od posebnog je značaja izražena aktivnost ACE u plućima, gdje se samo pri jednom prolasku Ang I kroz plućnu cirkulaciju čak 50% pretvoriti u Ang II. Pored Ang I, supstrati za ACE su bradikinin, angiotenzin 1-9 (Ang 1-9), enkefalini, susptanca P, luteinizirajući hormon-oslobađajući faktor i druge supstance. Dvije nezavisne grupe istraživača su 2000. godine pronašle enzim srođan ACE i nazvale ga angiotenzin-konvertujući enzim 2 (ACE2). Radi se o karboksipeptidazi koja otklanja fenilalanin na karboksiterminalnom kraju Ang II, pri čemu nastaje angiotenzin 1-7 (Ang 1-7). Pored toga, ACE2 vrši hidrolizu Ang I i stvara Ang 1-9, koji je supstrat za ACE, što dovodi do nastanka Ang 1-7. ACE2 hidrolizuje peptide kao što su neurotenzin, apelin-13, apelin-32, des-Arg-bradikinin. Važno je naglasiti da je katalitička aktivnost ACE2 400 puta veća za Ang II nego za Ang I. Oktapeptid Ang II je snažan koronarni i sistemski vazokonstriktor, djeluje pozitivno inotropno, stimuliše sintezu aldosterona i vazopresina, promotor je ćelijske proliferacije. Važan je segment mehanizama koji dovode do hipertenzije, koronarne bolesti, srčanog popuštanja, bubrežne insuficijencije i drugih patoloških procesa. Stimuliše simpatički nervni sistem, centar za žed, lučenje antidiuretskog hormona i dovodi do retencije natrijuma i vode. Suprotno djelovanje Ang II ima Ang 1-7. Za razliku od Ang II, on izaziva vazodilataciju, podstiče stvaranje NO, potencira

vazodilatatorno djelovanje bradikinina i inhibira neke efekte Ang II. Ravnoteža između Ang 1-7 i Ang II održava aktivnost dva enzima: ACE2 koji podstiče stvaranje Ang 1-7 i ACE koji podstiče stvaranje Ang II. Angiotenzin III (Ang III) je nalazi u visokim koncentracijama u mozgu i likvoru, a pod djelovanjem aminopeptidaze M iz njega nastaje Angiotenzin IV (Ang IV). Ovaj peptid ima jak uticaj na memoriju i kognitivnu sposobnost, dok ostali efekti uključuju vazodilataciju, natriurezu, inflamaciju i ekstracelularno remodelovanje. Što se tiče receptora RAAS, Ang II djeluje dominantno na angiotenzinske receptore tip 1 (AT1) i na angiotenzinske receptore tip 2 (AT2), Ang III djeluje na AT2 receptore, Ang IV na AT4 receptore, dok Ang 1-7 djeluje na Mas receptore. Angiotenzinaze su enzimi koji vrše hidrolizu Ang II i drugih angiotenzinskih peptida (aminopeptidaze, endopeptidaze, karboksipeptidaze i deaminaze). U kliničkoj praksi lijekovi čiji se mehanizam djelovanja zasniva na blokiranju ACE (takozvani ACE inhibitori) ili angiotenzinskih receptora (takozvani blokatori angiotenzinskih receptora) su neizostavni dio terapijske sheme u liječenju hipertenzije, srčane insuficijencije, dijabetičke nefropatije i brojih drugih stanja. Peptidi RAAS su prikazani na slici broj 8.



**Slika 8.** Peptidi renin-angiotenzin-aldosteron sistema (RAAS)

### **1.3.6. Endotelna disfunkcija u kovidu 19**

Sa pandemijom su se pojavile brojne publikacije na temu uloge endotelne disfukcije u patofiziologiji bolesti. Potencijalni mehanizmi nastanka su: 1. oštećenje i smrt endotelne ćelije zbog hiperinflamacije i inflamatornih citokina (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , G-CSF,M-CSF), 2. oštećenje endotelnog glikokaliksa (oštećeni glikokaliks vodi u hiperinflamatorni odgovor i oksidativni stres, povećava sklonost za SARS-CoV-2 infekciju, olakšava ulazak virusa), 3. gubitak specifičnih markera endotelne ćelije (npr. CD31, VE-kadherin) i dobijanje markera mezenhimne ćelije (FSP-1,  $\alpha$ -SMA i vimentin)- važno u slučaju razvoja fibroze pluća i plućne hipertenzije, 4. povećana permeabilnost (inflamatori citokini utiču na permeabilnost tako što oštećuju različite tipove vezujućih, međućelijskih proteina uključujući VE kadherin,  $\beta$ -katenin i proteine komunikacijskih spojeva). Kod pacijenata oboljelih od kovida su nađene povećane vrijednosti ICAM-1, VCAM-1, vaskularnog adhezionog proteina 1 (VAP-1) i E-selektina, 5. povećana angiogeneza (povećano oslobođanje proinflamatornih i proangiogenetskih faktora), 6. povećan oksidativni stres i smanjena bioraspoloživost NO, 7. citokinska oluja (težina kovidom indukovane citokinske oluje je dobar prediktor ozbiljnosti kovida, pogoršava multiorgansko oštećenje kroz oštećenja endotelnih ćelija, inflamaciju i trombozu), 8. poremećaj funkcije mitohondrija i 9. aktivacija sistema komplementa (u teškim formama kovida su nađene povećane koncentracije C3a i C5a) [117]. S obzirom na značajnu površinu i ulogu endotela, kovid 19 se može posmatrati kao sistemska vaskularna bolest sa multiorganskim posljedicama. Za kliničku prezentaciju bolesti su važni: oštećenje i disfunkcija plućnog endotela (što rezultira ARDS-om), povećan rizik za nastanak tromboza (što rezultira mikro i makrovaskularnim trombozama, npr. ishemski moždani udar, infarkt srca, diseminovana intravaskularna koagulacija), mogućnost nastanka miokarditisa i renalne insuficijencije (virusom indukovana endotelna disfunkcija u bubrežima može rezultirati vazokonstrikcijom, povećanjem permeabilnosti, edemom, adhezijom leukocita na endotel i nastankom mikrotromboza, što sve zajedno dovodi do povećanja bubrežne vaskularne rezistencije) [118]. Zbog činjenice da ACE2 predstavlja receptor za SARS-CoV-2, RAAS je postao tema interesovanja tokom pandemije. Takođe, budući da veliki broj svjetske populacije ima neku od kardiovaskularnih bolesti i koristi lijekove koji mogu dovesti do povećanja broja i ushodne regulacije ACE2 (npr. ACE inhibitori, AT1 blokatori), postojao je strah od povezanosti upotrebe ovih lijekova sa većom osjetljivošću za kovid. U početku pandemije se razmatrala promjena redovnih terapijskih shema u cilju kontrole kovida, ali je preporučen

nastavak terapije ACE inhibitorima/AT1 blokatorima za hronične bolesnike s obzirom da nije dokazana povezanost sa rizikom od infekcije i [182].

## **2. RADNE HIPOTEZE**

Na osnovu pregleda dostupne literature, postavljene su sljedeće radne hipoteze:

1. Vrijednosti markera oksidativnog stresa i endotelne disfunkcije statistički su značajno povišene kod umrlih kritično oboljelih pacijenata sa kovid 19 pneumonijom u poređenju s vrijednostima kod preživjelih pacijenta.
2. Vrijednosti markera oksidativnog stresa i endotelne disfunkcije statistički su značajno povišene kod kritično oboljelih pacijenata sa kovid 19 pneumonijom i komorbiditetima u poređenju sa pacijentima bez komorbiditeta.
3. Vrijednosti markera oksidativnog stresa i endotelne disfunkcije statistički su značajno povišene kod kritično oboljelih pacijenata sa kovid 19 pneumonijom koji su bili intubirani u poređenju sa pacijentima koji nisu bili intubirani.
4. Vrijednosti markera oksidativnog stresa i endotelne disfunkcije kod kritično oboljelih pacijenata sa kovid 19 pneumonijom značajno koreliraju sa razvojem multiorganske disfunkcije.

### **3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

Ovim istraživanjem nastoji se utvrditi najbolja korelacija između urađenih bioloških markera i ishoda liječenja, potrebnog nivoa respiratorne podrške i razvoja multiorganske disfunkcije kritično oboljelih pacijenata sa kovid 19 pneumonijom.

Istraživanja je imalo sljedeće ciljeve:

1. Analiza faktora rizika za teške forme kovid pneumonije (pol, starost, BMI, komorbiditeti i pušački status).
2. Analiza markera endotelne disfunkcije (parametara inflamacije, koagulacije i vazomocije) kod pacijenata sa teškim formama kovid pneumonije.
3. Analiza markera oksidativnog stresa (prooksidanasi i antioksidanasi) kod pacijenata sa teškim formama kovid pneumonije.
4. Utvrditi postojanje korelacije između faktora rizika, markera endotelne disfunkcije i markera oksidativnog stresa kod pacijenata sa teškim formama kovid pneumonije sa ishodom liječenja, potrebnim nivoom respiratorne podrške, potrebom za hemodinamskom podrškom i potrebom za hemodializom.

## **4. MATERIJAL I METODE**

### **4.1. DIZAJN STUDIJE**

#### **4.1.1. Koncepcija studije i uzorak istraživanja**

Istraživanje je dizajnirano kao prospektivna opservaciona studija i sprovedeno u Klinici intenzivne medicine za nehirurške grane (KIM) Univerzitetskog kliničkog centra Republike Srpske (UKC RS) u Banja Luci. Prije započinjanja istraživanja je prikupljena dokumentacija: saglasnost Generalnog direktora UKC RS, saglasnost Etičkog odbora UKC RS, saglasnosti načelnika Zavoda za kliničku laboratorijsku dijagnostiku i Zavoda za kliničku mikrobiologiju UKC RS, i saglasnost Etičkog odbora za istraživanje na ljudima i biološkom materijalu Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci. Studija je odobrena od strane Etičkog odbora Univerzitetskog kliničkog centra Republike Srpske u Banja Luci (rješenje broj 01-19-570-2/20) i Etičkog odbora za istraživanje na ljudima i biološkom materijalu Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banja Luci (rješenje broj 18/4.139/21). Uzorak istraživanja čini 75 odrasla ispitanika oba pola koji su hospitalizovani u KIM zbog teških formi kovid pneumonije krajem 2020. i prvoj polovini 2021. godine. Ispitanicima ili njihovoj porodici (ukoliko bolesnik nije bio u mogućnosti da svjesno učestvuje u studiji zbog zdravstvenog stanja) je objašnjen cilj istraživanja, proces dijagnostičke obrade i specifičnost učešća ispitanika u istraživanju. Saglasnost za učešće pacijent ili njegova porodica su ovjerili svojim potpisom nakon pročitanog teksta Informacije za ispitanika/zakonskog zastupnika i informisani pristanak. Pored prikupljanja demografskih i kliničkih podataka ispitanika, urađena je biohemijska analiza uzorka venske krvi koja je uzorkovana 1. i 7. dana liječenja u KIM-u, pri čemu su određene biohemijske analize, markeri endotelne disfunkcije i oksidativnog stresa, kao i peptidi renin-angiotenzin-aldosteron sistema. Dobijeni rezultati su upoređeni između: preživjelih i umrlih ispitanika, ispitanika sa i bez komorbiditeta, ispitanika koji su bili intubirani i nisu bili intubirani, ispitanika koji su liječeni hemodijalizom i koji nisu liječeni hemodijalizom, i ispitanika koji su trebali vazopresor i koji nisu trebali vazopresor. Zdravstveno stanje ispitanika je praćeno tokom 28 dana od trenutka uključivanje u studiju i nakon tog perioda je evidentiran ishod liječenja u smislu preživljavanja ili smrtnog ishoda. Veličina uzorka za istraživanje je određena upotrebom software-a G power za izračunavanje broja ispitanika na osnovu statističkih analiza koje će se sprovoditi u analizi podataka dobijenih tokom istraživanja (za testiranje hipoteze linearnom multiplom regresijom sa tri prediktora neophodan je uzorak od 73 ispitanika).

#### **4.1.2. Kriterijumi za uključenje**

Ispitanici koji su učestvovali u istraživanju su morali da zadovolje kriterijume za uključenje u istraživanje koji su bili zajednički za sve posmatrane ispitanike:

- Potpisani informisani pristanak
- Ispitanici oba pola sa  $\geq 18$  godina
- Dokazana kovid infekcija (pozitivan PCR na SARS-CoV-2 iz uzorka nazofaringealnog brisa, brisa grla ili trahealnog aspirata)
- Pneumonija kod koje postoji potreba za kiseoničnom terapijom (obezbjedenu putem neinvazivne mehaničke ventilacije, visokoprotičnog kiseonika preko nazalne kanile, invazivnom mehaničkom ventilacijom ili ECMO uređajem)

#### **4.1.3. Kriterijumi za neuključenje**

Kriterijumi za neuključenje u istraživanje su bili zajednički za sve ispitanike:

- Trudnoća i dojenje
- Pacijenti bez mikrobiološke potvrde kovida (bez PCR testa)

#### **4.1.4. Kriterijumi za isključenje**

Kriterijumi za isključenje iz istraživanja su bili zajednički za sve ispitanike:

- Smrt ispitanika prije 7. dana hospitalizacije
- Želja pacijenta ili najbližeg srodnika da prekine učešće u ispitivanju

## 4.2. PRIKUPLJANJE PODATAKA ZA ISTRAŽIVANJE

Podaci o ispitanicima su dobijeni iz dostupne papirne medicinske dokumentacije i elektronskog zdravstvenog kartona (bolnički elektronski sistem- KIS), prilikom čega su zaštićeni lični podaci ispitanika. Na prijemu su evidentirani demografski podaci (starost, pol), komorbiditeti, tjelaska masa (kg), visina (cm), indeks tjelasne mase (*eng. Body Mass Index, BMI, kg/m<sup>2</sup>*), aktuelni pušački status (pušač/nepušač), redovna terapija (grupa lijeka), simptomi, vrijeme proteklo od početka bolesti do hospitalizacije (u danima), vrijeme proteklo od početka bolesti do prijema u KIM (u danima) i vrsta prijema u KIM (iz prijemne ambulante Urgentnog centra, premještaj sa drugog odjeljenja ili iz regionalne bolnice). Evidentirani podaci dobijeni na dan prijema u KIM su prikazani u tabeli broj 1.

**Tabela 1:** Osnovne karakteristike ispitanika evidentirane na dan prijema u KIM

Karakteristika	Mjerna jedinica
Starost ispitanika	Godine
Pol ispitanika	Muški / Ženski
Indeks tjelasne mase	kg/m <sup>2</sup>
Aktuelni pušački status	Pušač / Nepušač
Komorbiditeti	-
Redovna terapija	Bez terapije / Lijekovi
Simptomi bolesti	-
Vrijeme od početka bolesti do hospitalizacije	Dani
Vrijeme od početka bolesti do prijema KIM	Dani
Vrsta prijema u KIM	Prijemna ambulanta / Odjeljenje / Regionalna bolnica

Nakon 24 h bolničkog liječenja u KIM su za svakog pacijenata izračunati: Sequestional Organ Failure Assesment (SOFA) skor, Acute Physiology And Chronic Health Evaluation (APACHE II) skor i Čarlsonov indeks komorbiditeta (*engl. Charlson Comorbidity Index, CCI*). Svi skorovi su izračunati uz pomoć elektronske aplikacije MDCalc ([www.mdcalc.com](http://www.mdcalc.com)). Nakon prijema i sprovedenih standarnih medicinskih procedura (obezbjedenje kontinuiranog monitoringa, mjerjenje vitalnih znakova, zbrinjavanje disajnog puta i vaskularnog pristupa, plasiranje urinarnog katetera i eventualno nazogastrične sonde, ordiniranje inicijalne terapije-

kiseonična terapija putem neinvazivne /invazivne mehaničke ventilacije, sedativi, kardiološka terapija, i dr.), pristupilo se uzorkovanju krvi od ispitanika za potrebne analize. Dio analiza je urađen odmah u Zavodu za laboratorijsku dijagnostiku, u sklopu regularne obrade uz proširenje paleta analiza za potrebe istraživanja, dok se dio analiza koji se odnosio na ispitivanje oksidativnog stresa i dijela endotelne disfunkcije radio naknadno u Centru za biomedicinska istraživanja Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banja Luci i Zavodu za mikrobiologiju UKC RS. Postupak uzorkovanja krvi ispitanika je ponovljen 7. dana liječenja, a ponovljene su sve analize koje su urađene 1. dana liječenja u KIM. U tabelama 2, 3 i 4 je dat prikaz parametara koji su analizirani u istraživanju.

**Tabela 2:** Biohemijske analize krvi ispitanika urađene 1. i 7. dana liječenja

Analiza	Skraćenica	Mjerna jedinica	Referentna vrijednost
Broj leukocita	WBC	(1e9)/L	3,40 – 9,70
Broj neutrofila	Neutro	(1e9)/L	2,06 – 6,49
Broj limfocita	Lymph	(1e9)/L	1,19 – 3,35
Odnos neutrofili/limfociti	NLR	-	1 - 3
Broj trombocita	PLT	(1e9)/L	158 – 424
Hemoglobin	Hgb	g/L	138 – 175
C-reaktivni protein	CRP	mg/L	0 - 5
Inteleukin 6	IL-6	pg/mL	0 - 7
Feritin	-	ng/mL	22 – 322
Albumini	-	g/L	35 – 52
Laktat dehidrogenaza	LDH	U/L	0 – 248
Kreatinin	-	µmol/L	45 – 84
Glukoza	GUK	mmol/L	4,10 – 5,90
Tropomin T	hs-TNT	pg/mL	0 – 14
D-dimer	-	mg/L	0 – 0,50
Željezo	Fe	µmol/L	12,50 – 32,20
Ukupni kapacitet vezivanja gvožđa	TIBC	µmol/L	45 – 73

Nezasićeni kapacitet vezivanja gvožđa	UIBC	µmol/L	27,80 – 63,60
Homocistein	Hcy	µmol/L	5,08 – 15,39
Vitamin D	-	ng/mL	6,80 – 49,90
Vitamin B12	-	pg/mL	211 – 911

**Tabela 3:** Markeri oksidativnog stresa ispitanika urađeni 1. i 7. dana liječenja

Marker	Skraćenica	Mjerna jedinica
<b>Antioksidansi</b>		
Katalaza	CAT	U/g Hgb*10 <sup>3</sup>
Superoksid-dizmutaza	SOD	U/g Hgb*10 <sup>3</sup>
Totalni redukovani glutation	GSH	nmol/ml RBC
<b>Prooksidansi</b>		
Vodonik-peroksid	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	nmol/ml plazme
Superoksid-anjon-radikal	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	nmol/ml plazme
Nitriti	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	nmol/ml plazme

**Tabela 4:** Analize RAAS, adhezionih molekula, leptina i adiponektina ispitanika urađene 1. i 7. dana liječenja

Parametar	Skraćenica	Mjerna jedinica
<b>Adhezione molekule</b>		
Intercelularni adhezioni molekul 1	ICAM-1	ng/mL
Vaskularni adhezioni molekul 1	VCAM-1	mcg/L
<b>RAAS</b>		
Angiotenzin konvertujući enzim	ACE	ng/mL
Angiotenzin konvertujući enzim 2	ACE2	ng/mL
Angiotenzin 1	Ang I	pg/mL
Angiotenzin 2	Ang II	pg/mL
Angiotenzin 1-7	Ang 1-7	pg/mL
Angiotenzin 1-9	Ang 1-9	pg/mL
<b>Ostali upalni parametri</b>		

Faktor tumorske nekroze alfa	TNF-α	pg/mL
Leptin	-	ng/mL
Adiponektin	-	mcg/mL

Za svakog ispitanika su registrovani: ishod bolesti i dužina liječenja, vrsta mehaničke ventilacije, dužina mehaničke ventilacije, potreba za vazoaktivnim lijekovima (obično noradrenalin) i dužina liječenja sa vazoaktivnim lijekovima, kao i drugi terapijski modaliteti (veno-venska ekstrakorporalna membranska oksigenacija- ECMO, kontinuirana hemodializa, potreba za traheotomijom, liječenje sa antibioticima, koritkosteroidima, tocilizumabom).

**Tabela 5:** Kliničke karakteristike ispitanika

Karakteristika	Mjerna jedinica
Ishod liječenja nakon 28 dana	Preživio / Umro
Dužina liječenja u KIM	Dani
Invazivna mehanička ventilacija ili neinvazivna/visokoprotročni kiseonik	Intubiran/ Nije intubiran
Trajanje mehaničke ventilacije	Dani
Dan liječenja kada je ispitanik intubiran	-
Da li su korišteni vazopresorni lijekovi	Da / Ne
Dužina liječenja vazopresornim lijekovima	Dani
Da li je korištena hemodializna	Da / Ne
Da li je urađena traheotomija	Da / Ne
Da li je urađen VV-ECMO	Da / Ne
Da li su korišteni antibiotici	Da / Ne
Da li su korišteni kortikosteroidi	Da / Ne
Da li je korišten tocilizumab	Da / Ne

Inicijalno planirane analize endokana i endotelina-1 nisu mogle biti urađene iz tehničkih razloga i nemogućnosti nabavke kitova za analize. Zbog aktuelnih medicinskih informacija iz

oblasti kovida, urađene su dodatne biohemijske analize: ACE, ACE2, Ang I, Ang 1-9, TNF- $\alpha$ , leptin i adiponektin.

#### **4.3. UZORKOVANJE, PRIPREMA, SKLADIŠENJE I ANALIZA UZORAKA KRVI**

Ukoliko su bili zadovoljeni kriterijumi za uključenje u istraživanje, pristupilo se uzorkovanju venske krvi iz centralnog venskog katetera ili neke od perifernih vena uz poštovanje svih mjera asepse. Po jednom uzorkovanju je trebalo 20 mL krvi koja je potom bila raspoređena u odgovorajuće epruvete (epruvete *Vacvette* sa crvenim, plavim ili ljubičastim čepom), pri čemu je krv uzorkovana 1. i 7. dana liječenja.

Epruvete sa crvenim čepom (volumen od 6 mL) sadrže *serum clot activator-CAT* koji ubrzava zgrušavanje krvi i služe za biohemijske analize koje se dobijaju iz seruma (za potrebe istraživanja su bile potrebne 4 epruvete). Epruvete sa plavim čepom (volumen od 2 mL) sadrže antikoagulans 3,2% natrijum-citrat i služe za biohemijske analize koagulacije i hemostaze (za potrebe istraživanja su bile potrebne 2 epruvete). Epruvete sa ljubičastim čepom (volumen od 3 mL) sadrže antikoagulans K2EDTA i služe za biohemiju analizu krvne slike (za potrebe istraživanja su bile potrebne 4 epruvete). Svaka epruveta je propisno označena (ime i prezime ispitanika, godina rođenja, datum uzorkovanja, odjel, naznaka da se radi o uzorku kovid pacijenta), spakovana u jednokratne gumene rukavice, položena u žutu kutiju namjenjenu za infektivni materijal (sa jasno istaknutim znakom i natpisom „infektivni otpad“) i sa odgovarajućom uputnicom transportovana u Zavod za laboratorijsku dijagnostiku za dalju pripremu i analizu. Pošto se radilo o uzorcima ispitanika pozitivnih na SARS-CoV-2, sve vrijeme su poštovane zaštitne mjere koje su zakonski propisane pri radu sa kontaminiranim biološkim uzorcima (definisano Pravilnikom o upravljanju medicinskim otpadom RS, Sl.glasnik RS, broj 48/2019). Dio analiza se uradio po preuzimanju uzorka krvi u Zavodu za laboratorijsku dijagnostiku, dok se drugi dio analiza uradio naknadno u Centru za biomedicinska istraživanja Medicinskog fakulteta i Zavodu za mikrobiologiju. Analize krvne slike su urađene sa Sysmex automatskim hematološkim analizatorom, analize koje se tiču koagulacije i hemostaze su urađene aparatom Siemens BCS XP System, dok su analize koje se dobijaju iz seruma urađene aparatom Alinity (prethodno su uzorci krvi iz epruveta sa crvenim i plavim čepom centrifugirani tokom 10 minuta na 3000 obrtaja, čime su odvojeni serum i krvne ćelije). Za analize koje su se naknadno radile su pripremljeni uzorci: odvojena je plazma, serum i lizat eritrocita su spakovani u pojedinačne plastične ependorfice sa 250-500  $\mu$ L uzorka po pojedinačnoj ependorfici. Po završenoj pripremi, sve ependorfice su propisno obilježene,

šifrirane i transportovane u Zavod za mikrobiologiju, gdje su čuvane do nabavke kitova za analizu i ispunjenja tehničkih uslova. Odložene u posebne plastične kutije sa poklopcom i unutrašnjim separatorima, čuvane su u frižideru Thermo Scientific na temperaturi od -80 C. Za analize parametara oksidativnog stresa su korišteni uzorci plazme (za određivanje  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  i  $NO_2^-$ ) i lizati eritrocita (za određivanje CAT, SOD i GSH). Sve analize koje se tiču oksidativnog stresa su određene spektrofotometrijski (Shimadzu UV-1800 spektrofotometar). Za određivanje aktivnosti  $H_2O_2$  je korištena Pick i Keisari metoda koja se zasniva njegovoj oksidaciji sa fenol crvenim u prisustvu peroksidaze, pri čemu je koncentracija  $H_2O_2$  izmjerena na talasnoj dužini od 610 nm nakon inkubacije 10 minuta na sobnoj temperaturi. Aktivnost  $O_2^-$  se mjeri redukcijskom reakcijom sa nitro-tetrazolijevim plavim (*Nitro Blue Tetrazolium- NTB*) i TRIS puferom pri talasnoj dužini od 530 nm. NO se mjerio Griess-ovom metodom indirektno preko svojih produkata nitrita, pri čemu se koristila 30% sulfosalicilna kiselina i Griess-ov reagens i mjerjenje obavilo na talasnoj dužini od 550 nm. Aktivnost antioksidanasa (CAT, SOD i GSH) je određivana uz pomoć Beutlerove metode. Za određivanje aktivnosti CAT je korišten rastvor  $H_2O_2$ , pufer katalaza i uzorak lizata eritrocita, pri čemu se mjerjenje obavilo na talasnoj dužini od 240nm. Aktivnost SOD je mjerena nakon mješanja lizata eritrocita sa karbonatnim puferom i epinefrinom, pri čemu se mjerjenje obavilo na talasnoj dužini od 470 nm. Određivanje koncentracije redukovanih GSH se zasniva na reakciji oksidacije sa 5,5-ditio-bis-6,2-nitrobenzoičnom kiselinom, pri čemu se mjerjenje obavilo na talasnoj dužini od 420 nm. Za analize adhezionih molekula, adipokina i peptida RAAS je korišten serum ispitanika, analize su rađene na ELISA aparatu Biotech USA pomoću imunoenzimskog testa (*eng. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; ELISA*). Analize su urađene u Zavodu za mikrobiologiju, a korišteni su sljedeći kitovi: Human ICAM1 ELISA Kit (CD54).1. ABCAM (za ICAM-1), Human VCAM1 ELISA Kit. ABCAM (za VCAM-1), Human TNF-alpha ELISA Kit (za TNF-L), Human ACE SimpleStep ELISA® Kit (za ACE), Human ACE 2 ELISA kit, FineTest, Wuhan Fine Biotech, Co, Wuhan, Hubei, China (za ACE2), Angiotensin II EIA kit Sigma-Aldrich (za Ang II), Human Angiotensin I ELISA Kit, LifeSpan BioSciences, Seattle, USA (za angiotenzin I), Human Angiotensin 1-9 ELISA Kit, LifeSpan BioSciences, Seattle, USA (za angiotenzin 1-9) i Human Angiotensin 1-7 ELISA Kit, LifeSpan BioSciences, Seattle, USA (za angiotenzin 1-7). Za analizu leptina i adiponektina su korišteni ELISA kitovi (Euroimmun, Germany), a analize su rađene na automatskom analizatoru Euroimmun I2.

#### **4.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA**

Dobijeni podaci za istraživanja su unešeni u tabele Excel, a potom je urađena statistička obrada podataka pomoću komercijalnog statističkog softvera Statistical Package for the Social Sciences- SPSS (IBM Corp. Released 2019. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.0. Armonk, NY: IBM Corp).

Statistička analiza podataka je izvršena upotrebom deskriptivnih i inferencijalnih statističkih metoda. Dobijeni rezultati su prikazani kao srednja vrijednost (mean) sa standardnom devijacijom (SD) i središnja vrijednost (mediana) uz interkvartalni raspon (IQR) za kontinuirane varijable, kao i absolutni brojevi odnosno procenti za kategoričke varijable. Normalna raspodjela podataka je testirana Kolmogorov-Smirnov-im testom. Vrijednosti kontinuiranih varijabli su upoređivane upotrebom Student-ovog t-testa, Mann-Whitney i ANOVA testa, dok je upoređivanje kategoričkih varijabli izvršeno upotrebom  $\chi^2$  testa ili Fisher-exact testa. Za parametrijske testove je korištena Pearsonova korelacija. Statistički značajna razlika je procjenjivana na minimalnom nivou od  $p < 0,05$ . Rezultati ispitivanih analiza su prikazani numerički, tabelarno i grafički.

## 5. REZULTATI

### 5.1. OSNOVNE DEMOGRAFSKE I KLINIČKE KARAKTERISTIKE ISPITANIKA

Istraživanjem je obuhvaćeno 75 odraslih pacijenata liječenih u Klinici intenzivne medicine za nehirurške grane UKC RS zbog teških formi kovid pneumonije.

Prosječna starost ispitanika je bila  $56,13 \pm 9,45$  godine, pri čemu je najstariji pacijent imao 72 godine, a najmlađi pacijent 35 godina. U grupi preživjelih, najstariji pacijent je imao 70 godina, a najmlađi 45 godina, dok je u grupi umrlih najstariji pacijent imao 72 godine, a najmlađi 35 godina. Uglavnom se radilo o muškarcima (72%), koji su činili većinu u podgrupama preživjelih (73,90%) i umrlih pacijenata (69%).

Analiza BMI ispitanika je pokazala da je prosječan BMI bio  $30,36 \pm 3,84 \text{ kg/m}^2$ , bez statistički značajne razlike između preživjelih i umrlih pacijenata ( $p = 0,149$ ). Udio gojaznih osoba (BMI  $> 30 \text{ kg/m}^2$ ) je bio 45,30%, bez statistički značajne razlike između preživjelih i umrlih pacijenata ( $p = 0,356$ ). Procenat aktivnih pušača među ispitanicima je bio 10,70%, veći među umrlim pacijentima (17,20% vs. 6,50%).

Skoro  $\frac{3}{4}$  pacijenta (72%) je imala neki komorbiditet, čak 82,76% pacijenata u grupi umrlih. U istraživanju su najčešći komorbiditeti bili hipertenzija (ukupno 48% ispitanika; u grupi umrlih 51,72%), dijabetes melitus (ukupno 16% ispitanika; u grupi umrlih 20,69%), kardiomiopatija (ukupno 6,70% ispitanika; u grupi umrlih 6,90%), hronična opstruktivna bolest pluća (ukupno 6,70% ispitanika; u grupi umrlih 3,45%), aritmija (ukupno 5,30%; u grupi umrlih 10,34%), reumatološku bolest (ukupno 6,70% ispitanika; u grupi umrlih 10,34%) ili neka druga bolest (ukupno 6,70% ispitanika; u grupi umrlih 6,90%).

Prosječno vrijeme koje je proteklo od pojave simptoma do hospitalizacije je bilo  $6,64 \pm 3,65$  dana, duže u grupi umrlih ( $7,10 \pm 3,30$  vs.  $6,30 \pm 3,80$  dana), dok je prosječno vrijeme koje je proteklo od pojave simptoma do prijema u KIM bilo  $9,65 \pm 4,13$  dana. Više od polovine bolesnika je premješteno u KIM iz drugih bolničkih odjeljenja UKC RS (57,30%), dok je ostatak bolesnika primljen iz prijemne ambulante (34,70%) ili iz regionalnih bolnica (8%). Opšte demografske karakteristike pacijenata su prikazane u tabeli 6.

**Tabela 6:** Demografske i opšte karakteristike ispitanika

<b>Demografske karakteristike</b>	<b>Ukupno (n = 75)</b>	<b>Preživjeli (n= 46)</b>	<b>Umrli (n= 29)</b>	<b>p</b>
<b>Starost, godine</b> (median, IQR)	$56,13 \pm 9,45$	$54,89 \pm 9,60$	$58,10 \pm 9,03$	0,153
<b>Pol, n (%)</b>				
Muški	54 (72%)	34 (73,90%)	20 (69,00%)	0,642
<b>Aktivni pušači, n (%)</b>	8 (10,70%)	3 (6,50%)	5 (17,20%)	0,259
<b>BMI, kg/m<sup>2</sup></b>	$30,36 \pm 3,84$	$30,80 \pm 4,21$	$29,54 \pm 2,92$	0,149
<b>BMI ≥ 30 kg/m<sup>2</sup></b>	34 (45,30%)	24 (53,30%)	10 (41,70%)	0,356
<b>Komorbiditeti, n (%)</b>				
Hipertenzija, n (%)	36 (48%)	22 (47,83%)	15 (51,72%)	0,742
Dijabetes, n (%)	12 (16%)	6 (13,04%)	6 (20,69%)	0,519
Kardiomiopatija, n (%)	5 (6,70%)	3 (6,50%)	2 (6,90%)	0,949
HOBP, n (%)	5 (6,70%)	4 (8,70%)	1 (3,45%)	0,643
Aritmija, n (%)	4 (5,30%)	1 (2,17%)	3 (10,34%)	0,292
Reumatološka bolest, n (%)	5 (6,70%)	2 (4,35%)	3 (10,34%)	0,369
Drugo, n (%)	5 (6,70%)	3 (6,50%)	2 (6,90%)	0,499
<b>Vrijeme od pojave simptoma do hospitalizacije, dani</b>	$6,64 \pm 3,65$	$6,30 \pm 3,80$	$7,10 \pm 3,30$	0,352
<b>Vrijeme od pojave simptoma do prijema u KIM, dani</b>	$9,65 \pm 4,13$	$9,57 \pm 3,28$	$9,79 \pm 3,76$	0,818
<b>Prijem u KIM,</b>				
Odjeljenje	43 (57,30%)	27 (58,70%)	16 (55,20%)	
Prijemni trakt	26 (34,70%)	16 (34,80%)	27 (34,50%)	0,834
Regionalna bolnica	6 (8%)	3 (6,50%)	3 (10,30%)	

Skraćenice: BMI- indeks tjesne mase; HOBP- hronična opstruktivna bolest pluća; KIM- Klinika intenzivne medicine za nehirurške grane

Nakon 28 dana od početka istraživanja, od ukupno 75 ispitanika liječenih u KIM, preživjelo je 46 ispitanika (61,30%), a umrlo 29 ispitanika (38,70%). Na osnovu podataka prikupljenih nakon 24h liječenja, kod preživjelih i umrlih pacijenata su izračunati SOFA skor (4 vs. 5), APACHE II (9,5 vs. 12) i CCI skor (1,5 vs 2). Prosječna dužina liječenja ispitanika u KIM-u je bila 12 dana, duža u grupi umrlih bolesnika (13 vs. 9,50 dana; p= 0,006). Svi bolesnici su trebali kiseoničnu terapiju koja je obezbjeđena putem neinvazivne mehaničke ventilacije/visokoprotočnog kiseonika i/ili invazivne mehaničke ventilacije (49,30% vs.

50,70%). Svi bolesnici koji su umrli su bili na invazivnoj mehaničkoj ventilaciji (100%), dok su svi bolesnici koji su bili na neinvazivnoj mehaničkoj ventilaciji/visokoprotočnom kiseoniku (100%) preživjeli ( $p = 0,000$ ). Procenat preživjelih bolesnika koji su trebali invazivnu mehaničku ventilaciju je bio 19,60%. Bolesnici koji su umrli su intubirani kasnije u odnosu na preživjele bolesnike koji bili intubirani (4. dan vs. 3. dan;  $p = 0,043$ ). Prosječno trajanje invazivne mehaničke ventilacije je bilo  $12,43 \pm 5,97$  dana, duže u grupi preživjelih ( $14,56 \pm 5,48$  vs.  $11,75 \pm 6,06$ ). Perkutana traheotomija je urađena kod 18,70% ispitanika, češće u grupi umrlih (24,10 vs. 15,20%). Hemodinamsku nestabilnost i potrebu za vazopresornom terapijom (uglavnom noradrenalin) je imala skoro polovina bolesnika (49,30%), od toga svi iz grupe umrlih (100%);  $p = 0,000$ . Prosječna dužina korištenja vazopresorne terapije je bila 5 dana, nešto duža u grupi umrlih bolesnika (5 vs. 4,50 dana). Kontinuiranu zamjenu bubrežne funkcije (kontinuiranu hemodializu) je trebalo 10,70% pacijenata, značajno više u grupi umrlih bolesnika (20,70% vs. 4,50%;  $p = 0,026$ ). VV ECMO je urađen kod 2 pacijenta (2,70%), oba pacijenta su iz grupe umrlih,  $p = 0,000$ . Svi ispitanici su liječeni antibioticima (100%), kortikosteroidima (100%), a njih 21,30% je primilo biološku terapiju- tocilizumab (iz grupe preživjelih 26,10%, iz grupe umrlih 13,80%). Svi navedeni podaci su prikazani u tabeli 7.

**Tabela 7:** Kliničke karakteristike, ishod liječenja i terapijski modaliteti ispitanika

Kliničke karakteristike	Ukupno (n = 75)	Preživjeli (n= 46)	Umrli (n= 29)	p
<b>SOFA, 1. dan</b> (median, IQR)	4 (2)	4 (1)	5 (4)	0,197
<b>APACHE II, 1. dan</b> (median, IQR)	10 (7)	9,50 (6)	12 (5)	0,098
<b>CCI</b> (median, IQR)	2 (2)	1,50 (2)	2 (2)	0,110
<b>Dužina liječenja u KIM, dani</b>	12 (9)	9,50 (8,25)	13 (7,50)	<b>0,006</b>
<b>Mehanička ventilacija, n (%)</b>				
Invazivna	38 (50,70%)	9 (19,60%)	29 (100%)	
NIV	37 (49,30)	37 (80,40%)	0	<b>0,000</b>
<b>Dan intubacije u KIM-u</b> (median, IQR)	4 (2,75)	3 (2)	4 (4)	<b>0,043</b>
<b>Tranjanje mehaničke ventilacije,</b> dani				
Invazivna	$12,43 \pm 5,97$	$14,56 \pm 5,48$	$11,75 \pm 6,06$	0,225
NIV	6 (4,50)	7,50 (5,75)	4 (4)	<b>0,002</b>
<b>Perkutana traheostomija, n (%)</b>	14 (18,70%)	7 (15,20%)	7 (24,10%)	0,334

<b>Upotreba vazopresora, n (%)</b>	37 (49,30%)	8 (17,40%)	29 (100%)	<b>0,000</b>
<b>Trajanje vazopresora, dani</b>	5 (3)	4,50 (3)	5 (3,75)	0,288
<b>CRRT, n (%)</b>	8 (10,70%)	2 (4,30%)	6 (20,70%)	<b>0,026</b>
<b>VV ECMO, n (%)</b>	2 (2,70%)	0	2 (100%)	<b>0,000</b>
<b>Antibiotska terapija, n (%)</b>	75 (100%)	46 (100%)	29 (100%)	1,000
<b>Kortikosteroidi, n (%)</b>	75 (100%)	46 (100%)	29 (100%)	1,000
<b>Tocilizumab, n (%)</b>	16 (21,30%)	12 (26,10%)	4 (13,80%)	0,256

Skraćenice: SOFA- Sequential Organ Failure Assessment; APACHE II- Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II; CCI- Charlson Comorbidity Index; KIM- Klinika intenzivne medicine za nehirurške grane; NIV- neinvazivna mehanička ventilacija; CRRT- kontinuirana zamjena bubrežne funkcije; VV ECMO- veno-venska ekstrakorporalna membranska oksigenacija krvi

## 5.2. REZULTATI LABORATORIJSKIH ANALIZA

### 5.2.1. POREĐENJE REZULTATA LABORATORIJSKIH ANALIZA PREŽIVJELIH I UMRLIH ISPITANIKA

#### 5.2.1.1. Laboratorijske analize preživjelih ispitanika (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza preživjelih ispitanika urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan pad vrijednosti sedmog dana liječenja za CRP ( $p < 0,010$ ), TNF- $\alpha$  ( $p = 0,000$ ), feritin ( $p < 0,010$ ), NRL ( $p = 0,011$ ), Hgb ( $p = 0,009$ ), LDH ( $p < 0,010$ ), kreatinin ( $p = 0,003$ ), GUK ( $p < 0,010$ ) i vitamin D ( $p < 0,010$ ). S druge strane, statistički značajan porast je zabilježen za limfocite ( $p < 0,010$ ), Fe ( $p < 0,010$ ), TIBC ( $p = 0,004$ ) i vitamin B12 ( $p = 0,002$ ) (Tabela 8).

**Tabela 8:** Laboratorijske analize preživjelih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	1. dan	7. dan	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	81,95 (113,40)	5,80 (32,10)	<b>&lt;0,010</b>
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	26,39 (52,32)	20,10 (83,81)	0,690
TNF- $\alpha$ (median, IQR)		160,60 (105,25)	50,22 (140,58)	<b>0,000</b>
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1362,50 (686)	825,50 (681,50)	<b>&lt;0,010</b>
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	10,81 ± 3,66	12,04 ± 4,27	0,102
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	9,59 ± 3,63	10,06 ± 3,88	0,364
Lymph	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,68 (0,38)	1,04 (0,74)	<b>&lt;0,010</b>

(median, IQR)				
NRL (median, IQR)	1-3	12,99 (12,70)	9,26 (7,25)	<b>0,011</b>
PLT (median, IQR)	158 – 424 (1e9)/L	245 (118)	282,50 (164)	0,225
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	1,53 (2,47)	1,60 (3,50)	0,633
Hgb (median, IQR)	138 – 175 g/L	133,48 ± 18,12	127,54 ± 22,62	<b>0,009</b>
Albumin (median, IQR)	35 – 52 g/L	34,41 ± 3,82	33,96 ± 3,11	0,418
Hs-TnT (median, IQR)	0-14 pg/mL	10 (9,10)	9,45 (6,25)	0,058
LDH (median, IQR)	0 – 248 U/L	492,50 (193)	296,50 (130)	<b>&lt;0,010</b>
Kreatinin (median, IQR)	45 – 84 µmol/L	78,50 (24)	68 (13)	<b>0,003</b>
GUK (median, IQR)	4,10 – 5,90 mmol/L	7,85 (5,30)	6,25 (2,70)	<b>&lt;0,010</b>
Fe (median, IQR)	12,50 – 32,20 µmol/L	7,50 (7,70)	13,90 (12,20)	<b>&lt;0,010</b>
TIBC (median, IQR)	45 – 73 µmol/L	30,80 ± 6,52	34,27 ± 7,68	<b>0,004</b>
UIBC (median, IQR)	27,80 – 63,70 µmol/L	21,65 ± 8,17	18,84 ± 6,18	0,076
Hcy (median, IQR)	5,08 – 15,39 µmol/L	6,41 ± 2,23	6,80 ± 1,97	0,066
Vitamin D (median, IQR)	6,80 – 49,90 ng/mL	16,25 (10,40)	13,60 (9,40)	<b>&lt;0,010</b>
Vitamin B12 (median, IQR)	211 – 911 pg/mL	499,50 (243)	669 (403)	<b>0,002</b>

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR-odnos neutrofila i limfocita; PLT- broj trombocita; Hgb- vrijednost hemoglobina; hs-TnT- visoko senzitivni troponin T; LDH- laktat dehidrogenaza; GUK- glukoza u krvi; Fe- željezo; TIBC- ukupni kapacitet vezivanja gvožđa; UIBC- nezasićeni kapacitet vezivanja gvožđa; Hcy- homocistein.

### 5.2.1.2 Laboratorijske analize umrlih ispitanika (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza umrlih ispitanika urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana liječenja za IL-6 ( $p < 0,010$ ), dok je statistički značajan pad vrijednosti zabilježen za TNF- $\alpha$  ( $p = 0,000$ ), PLT ( $p < 0,010$ ), Hgb ( $p < 0,010$ ), albumin ( $p = 0,004$ ), LDH ( $p = 0,014$ ), GUK ( $p = 0,001$ ), TIBC ( $p = 0,002$ ), UIBC ( $p = 0,001$ ) i vitamin D ( $p < 0,010$ ) (Tabela 9).

**Tabela 9:** Laboratorijske analize umrlih ispitanika (1. i 7. dan)

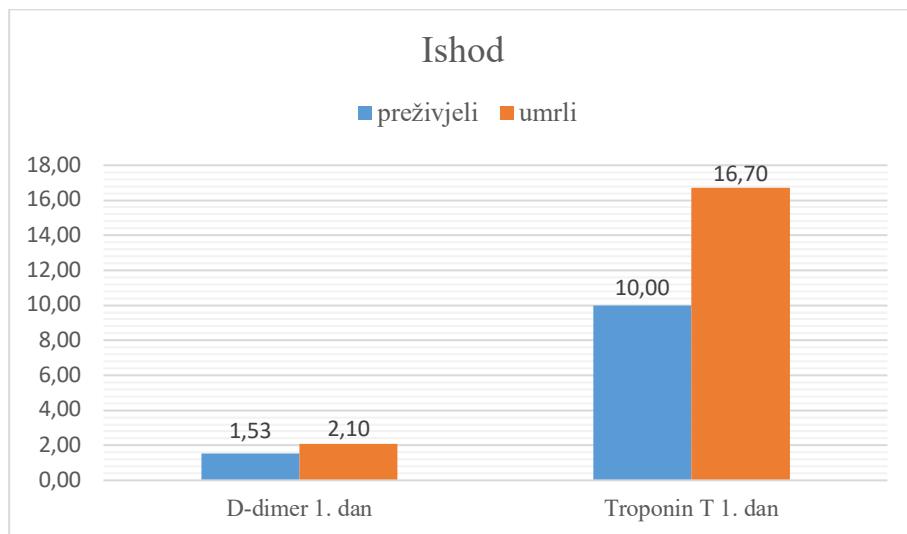
Parametar	Ref. vrijednost	1. dan	7. dan	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	92,70 (125,60)	116,50 (108,70)	0,315
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	39,20 (43,40)	172,95 (511,90)	<b>&lt;0,010</b>

TNF- $\alpha$ (median, IQR)		169,10 (81,53)	68,20 (97,18)	<b>0,000</b>
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1433 (1236)	1299 (705)	0,428
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	10,88 ± 4,98	14,25 ± 8,86	0,107
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	10,29 ± 5,47	12,41 ± 8,59	0,200
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,64 (0,40)	0,57 (0,37)	0,666
NRL (median, IQR)	1-3	14,77 (11,84)	16,61 (20,96)	0,099
PLT (median, IQR)	158 – 424 (1e9)/L	214 (108)	88 (153)	<b>&lt;0,010</b>
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	2,10 (9,36)	5,73 (7,22)	0,809
Hgb (median, IQR)	138 – 175 g/L	129 ± 13,84	106,72 ± 13,39	<b>&lt;0,010</b>
Albumin (median, IQR)	35 – 52 g/L	33,97 ± 3,16	30,29 ± 5,33	<b>0,004</b>
Hs-TnT (median, IQR)	0-14 pg/mL	16,70 (24,20)	18,60 (35,80)	0,603
LDH (median, IQR)	0 – 248 U/L	555 (243)	397 (241)	<b>0,014</b>
Kreatinin (median, IQR)	45 – 84 µmol/L	77 (34)	72 (65)	0,779
GUK (median, IQR)	4,10 – 5,90 mmol/L	10 (4,10)	7,60 (2,70)	<b>0,001</b>
Fe (median, IQR)	12,50 – 32,20 µmol/L	8,35 (4,85)	7,60 (9,25)	0,904
TIBC (median, IQR)	45 – 73 µmol/L	30,19 ± 5,01	24,63 ± 6,35	<b>0,002</b>
UIBC (median, IQR)	27,80 – 63,70 µmol/L	20,75 ± 7,43	14,66 ± 6,33	<b>0,001</b>
Hcy (median, IQR)	5,08 – 15,39 µmol/L	6,99 ± 2,76	6,47 ± 3,59	0,564
Vitamin D (median, IQR)	6,80 – 49,90 ng/mL	15,25 (6,55)	8,75 (6,15)	<b>&lt;0,010</b>
Vitamin B12 (median, IQR)	211 – 911 pg/mL	414,50 (141,50)	499,50 (319)	0,064

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR- odnos neutrofila i limfocita; PLT- broj trombocita; Hgb- vrijednost hemoglobina; hs-TnT- visoko senzitivni troponin T; LDH- laktat dehidrogenaza; GUK- glukoza u krvi; Fe- željezo; TIBC- ukupni kapacitet vezivanja gvožđa; UIBC- nezasićeni kapacitet vezivanja gvožđa; Hcy- homocistein.

#### 5.2.1.3. Poređenje laboratorijskih analiza dobijenih 1. dana liječenja kod preživjelih i umrlih ispitanika

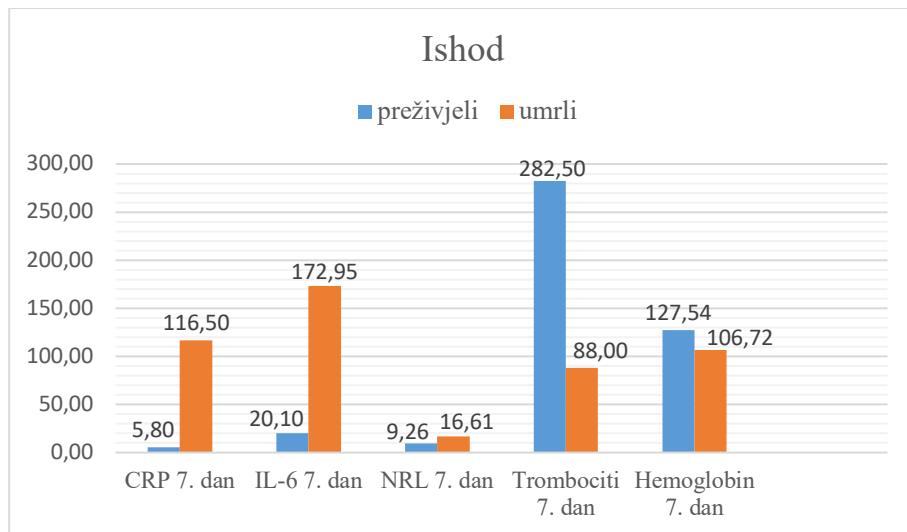
Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza između preživjelih i umrlih ispitanika urađenih prvog dana liječenja, potvrđene su veće vrijednosti kod umrlih ispitanika za LDH ( $p=0,014$ ), D-dimer ( $p=0,026$ ) i Hs-TnT ( $p=0,026$ ). Za ostale posmatrane parametre nije utvrđena statistički značajna razlika. Rezultati odabranih varijabli sa statistički značajnim razlikama su prikazani na slici 9, osim za LDH (velika razlika u poređenju sa ostalim parametrima).



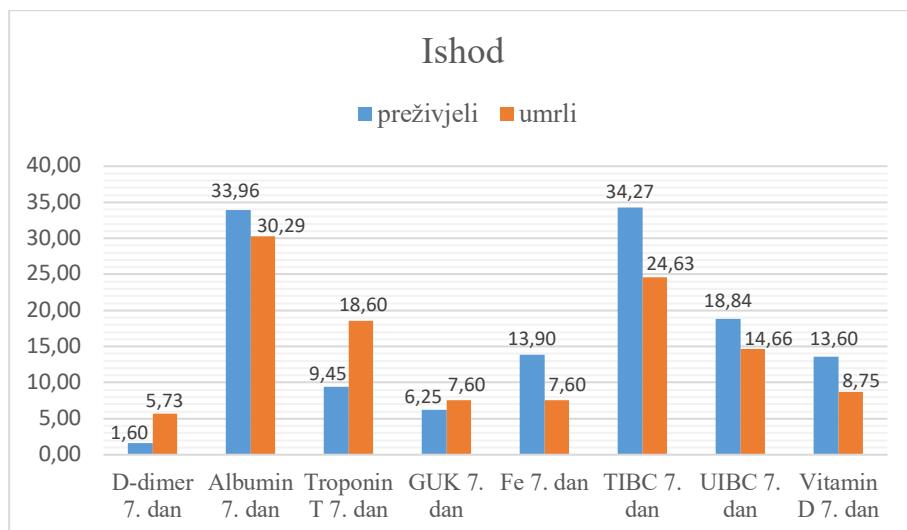
**Slika 9.** Inicijalne vrijednosti D-dimera i troponina T kod preživjelih i umrlih ispitanika

#### 5.2.1.4. Poređenje laboratorijskih analiza dobijenih 7. dana liječenja kod preživjelih i umrlih ispitanika

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza između preživjelih i umrlih ispitanika urađenih sedmog dana liječenja, potvrđene su veće vrijednosti kod umrlih ispitanika za CRP ( $p < 0,001$ ), IL-6 ( $p < 0,001$ ), feritin ( $p = 0,010$ ), NLR ( $p < 0,001$ ), D-dimer ( $p < 0,001$ ), Hs-TnT ( $p = 0,002$ ), LDH ( $p = 0,001$ ) i GUK ( $p = 0,023$ ). Međutim, kod umrlih ispitanika su potvrđene niže vrijednosti za limfocite ( $p < 0,001$ ), trombocite ( $p < 0,001$ ), hemoglobin ( $p < 0,001$ ), albumin ( $p = 0,002$ ), Fe ( $p = 0,005$ ), TIBC ( $p < 0,001$ ), UIBC ( $p = 0,008$ ), vitamin D ( $p < 0,001$ ) i vitamin B12 ( $p = 0,010$ ). Rezultati odabralih varijabli sa statistički značajnim razlikama su prikazani na slikama 10 i 11, uz izuzetak rezultata za LDH, feritin, vitamin B12 i limfocite (velika razlika u poređenju sa ostalim parametrima).



**Slika 10.** Poređenje zapaljenskih i hematoloških analiza preživjelih i umrlih ispitanika mjereneih sedmog dana liječenja



**Slika 11.** Poređenje biohemijskih analiza preživjelih i umrlih ispitanika mjereneih sedmog dana liječenja

## 5.2.2. POREĐENJE REZULTATA LABORATORIJSKIH ANALIZA INTUBIRANIH I NEINTUBIRANIH ISPITANIKA

### 5.2.2.1. Laboratorijske analize intubiranih ispitanika (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza intubiranih ispitanika urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana liječenja

za IL-6 ( $p=0,001$ ). S druge strane, bilježi se statistički značajan pad vrijednosti za TNF- $\alpha$  ( $p<0,010$ ) (Tabela 10).

**Tabela 10:** Laboratorijske analize intubiranih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	1. dan	7. dan	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	89,45 (125,85)	113 (128,38)	0,342
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	44,50 (60,65)	143,50 (454,88)	<b>0,001</b>
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	169,10 (88,52)	56,25 (95,76)	<b>&lt;0,010</b>
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1456 (1072,50)	1286 (710)	0,145
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	10,24 (6,49)	11,04 (11,53)	0,099
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	9,17 (5,96)	9,71 (9,96)	0,183
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,62 (0,47)	0,60 (0,52)	0,296
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	1,93 (9,61)	5,52 (7,94)	0,908

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ -faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR-odnos neutrofila i limfocita.

#### 5.2.2.2. Laboratorijske analize neintubiranih ispitanika (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza ispitanika koji nisu bili intubirani urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan pad vrijednosti sedmog dana liječenja za CRP ( $p<0,010$ ), TNF- $\alpha$  ( $p<0,010$ ) i feritin ( $p<0,010$ ). S druge strane, bilježi se statistički značajan porast za limfocite ( $p=0,001$ ) (Tabela 11).

**Tabela 11:** Laboratorijske analize neintubiranih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	1. dan	7. dan	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	82 (122,70)	4,70 (13,10)	<b>&lt;0,010</b>
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	23 (51,64)	17,72 (56,38)	0,710
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	160,60 (106,98)	50,22 (147,11)	<b>&lt;0,010</b>
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1339 (799,50)	803 (719,25)	<b>&lt;0,010</b>
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	10,79 (5,24)	11,32 (5,03)	0,087
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	9,45 (4,78)	9,44 (5,25)	0,381

Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,69 (0,30)	1,10 (1,28)	<b>0,001</b>
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	1,36 (2,17)	1,48 (2,21)	0,857

Skrácenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ - faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR-odnos neutrofila i limfocita.

#### 5.2.2.3. Poređenje analiza dobijenih 1. dana liječenja kod intubiranih i neintubiranih ispitanika

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza između ispitanika koji su bili intubirani i koji nisu bili intubirani u rađenih prvog dana liječenja, potvrđene su veće vrijednosti kod intubiranih ispitanika za D-dimer ( $p = 0,012$ ). Za ostale posmatrane parametre nije utvrđena statistički značajna razlika (Tabela 12).

**Tabela 12:** Poređenje laboratorijskih analiza ispitanika (intubirani/neintubirani, 1. dan)

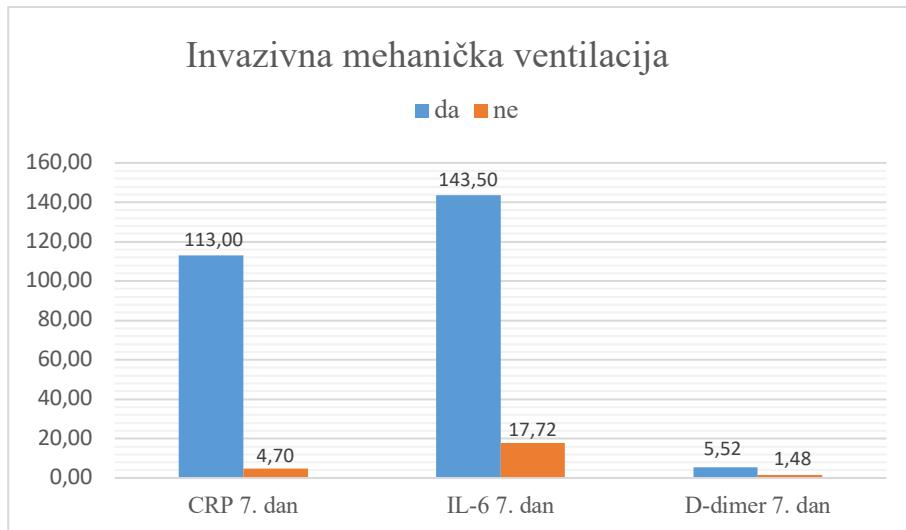
Parametar	Ref. vrijednost	Intubirani	Neintubirani	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	89,45 (125,85)	82 (122,70)	0,954
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	44,50 (60,65)	23 (51,64)	0,080
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	169,10 (88,52)	160,60 (106,98)	0,308
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1456 (1072,50)	1339 (799,50)	0,335
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	10,24 (6,49)	10,79 (5,24)	0,983
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	9,17 (5,96)	9,45 (4,78)	0,691
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,62 (0,47)	0,69 (0,30)	0,346
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	1,93 (9,61)	1,36 (2,17)	<b>0,012</b>

Skrácenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ - faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR-odnos neutrofila i limfocita.

#### 5.2.2.4. Poređenje analiza dobijenih 7. dana liječenja kod intubiranih i neintubiranih ispitanika

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza između ispitanika koji su bili intubirani i koji nisu bili intubirani u rađenih sedmog dana liječenja, potvrđene su veće vrijednosti limfocita kod ispitanika koji nisu bili intubirani ( $p= 0,001$ ). S druge strane, intubirani ispitanici su imali

veće vrijednosti za CRP ( $p < 0,010$ ), IL-6 ( $p < 0,010$ ), feritin ( $p = 0,008$ ) i D-dimer ( $p < 0,010$ ). Rezultati odabranih varijabli sa statistički značajnim razlikama su prikazani na slici 12, uz izuzetak rezultata za feritin i limfocite (velika razlika u poređenju sa ostalim parametrima).



**Slika 12.** Poređenje analiza inflamatornih markera i D-dimera između intubiranih i neintubiranih pacijenata sedmog dana liječenja

### 5.2.3. POREĐENJE REZULTATA LABORATORIJSKIH ANALIZA ISPITANIKA SA KOMORBIDITETIMA I BEZ KOMORBIDITETA

#### 5.2.3.1. Laboratorijske analize ispitanika sa komorbiditetima (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza ispitanika sa komorbiditetima urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana liječenja za IL-6 ( $p = 0,007$ ), leukocite ( $p = 0,024$ ) i limfocite ( $p = 0,009$ ). S druge strane, bilježi se statistički značajan pad vrijednosti za CRP ( $p = 0,021$ ), TNF- $\alpha$  ( $p < 0,010$ ) i feritin ( $p < 0,010$ ) (Tabela 13).

**Tabela 13:** Laboratorijske analize ispitanika sa komorbiditetima (1. i 7. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	1. dan	7. dan	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	84,35 (126,83)	35,30 (107,10)	<b>0,021</b>
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	39,20 (91)	62,45 (305,48)	<b>0,007</b>
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	160,60 (79,60)	65,22 (124,78)	<b>&lt;0,010</b>
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1273,50 (918)	951 (874)	<b>&lt;0,010</b>

WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	10,18 (5,89)	11,15 (8,02)	<b>0,024</b>
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	9,17 (5,53)	9,44 (7,62)	0,133
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,65 (0,35)	0,71 (0,72)	<b>0,009</b>
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	1,64 (9,19)	2,99 (6,66)	0,851

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ - faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR-odnos neutrofila i limfocita.

#### 5.2.3.2. Laboratorijske analize ispitanika bez komorbiditeta (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza ispitanika bez komorbiditeta urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan pad vrijednosti sedmog dana liječenja za CRP ( $p= 0,054$ ) i TNF- $\alpha$  ( $p= 0,002$ ) (Tabela 14).

**Tabela 14:** Laboratorijske analize ispitanika bez komorbiditeta (1. i 7. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	1. dan	7. dan	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	82,90 (126,20)	8,20 (130,9)	<b>0,054</b>
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	22,60 (42,06)	14,85 (119,33)	0,943
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	183,20 (128,77)	49,99 (109,97)	<b>0,002</b>
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1442 (316,50)	1215,50 (604,25)	0,067
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	11,66 (6,11)	12,51 (7,03)	0,538
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	10,73 (6,25)	10,18 (6,73)	0,653
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,73 (0,86)	1,09 (1,23)	0,068
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	1,67 (4,18)	2,30 (5,44)	0,629

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ - faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR-odnos neutrofila i limfocita.

#### 5.2.3.3. Poređenje analiza dobijenih 1. dana liječenja između ispitanika sa i bez komorbiditeta

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta urađenih prvog dana liječenja, nije utvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 15).

**Tabela 15:** Poređenje laboratorijskih analiza ispitanika (sa komorbiditetom/bez komorbiditeta, 1. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	Komorbiditeti	Bez komorbiditeta	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	84,35 (126,83)	82,90 (126,20)	0,728
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	39,20 (91)	22,60 (42,06)	0,138
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	160,60 (79,60)	183,20 (128,77)	0,358
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1273,50 (918)	1442 (316,50)	0,357
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	10,18 (5,89)	11,66 (6,11)	0,190
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	9,17 (5,53)	10,73 (6,25)	0,278
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,65 (0,35)	0,73 (0,86)	0,229
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	1,64 (9,19)	1,67 (4,18)	0,520

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ -faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR-odnos neutrofila i limfocita.

#### 5.2.3.4. Poređenje analiza dobijenih 7. dana liječenja između ispitanika sa i bez komorbiditeta

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta urađenih sedmog dana liječenja, potvrđene su statistički značajno veće vrijednosti za IL-6 kod ispitanika sa komorbiditetima ( $p= 0,013$ ) (Tabela 16).

**Tabela 16:** Poređenje laboratorijskih analiza ispitanika (sa komorbiditetom/bez komorbiditeta, 7. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	Komorbiditeti	Bez komorbiditeta	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	35,30 (107,10)	8,20 (130,9)	0,288
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	62,45 (305,48)	14,85 (119,33)	<b>0,013</b>
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	65,22 (124,78)	49,99 (109,97)	0,271
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	951 (874)	1215,50 (604,25)	0,466
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	11,15 (8,02)	12,51 (7,03)	0,612
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	9,44 (7,62)	10,18 (6,73)	0,901
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,71 (0,72)	1,09 (1,23)	0,197
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	2,99 (6,66)	2,30 (5,44)	0,804

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ -faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR-odnos neutrofila i limfocita.

## **5.2.4. POREĐENJE REZULTATA LABORATORIJSKIH ANALIZA ISPITANIKA KOJI SU LIJEČENI HEMODIJALIZOM I KOJI NISU LIJEČENI HEMODIJALIZOM**

### *5.2.4.1. Laboratorijske analize ispitanika koji su dijalizirani (1. i 7. dan liječenja)*

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza ispitanika koji su dijalizirani urađenih prvog i sedmog dana liječenja, nije utvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 17).

**Tabela 17:** Laboratorijske analize dijaliziranih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	1. dan	7. dan	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	131 (118,28)	112,50 (161,58)	0,674
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	131,55 (378)	208 (3321,80)	0,176
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	126,45 (113,99)	41,08 (124,09)	0,208
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1564,50 (2273,50)	1505,50 (918,50)	0,674
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	9,09 (9,65)	11,55 (3,28)	0,263
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	10,68 (10,51)	10,01 (8,84)	0,161
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,58 (0,71)	0,48 (0,30)	0,484
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	2,53 (13,68)	8,19 (5,69)	0,735

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ - faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR- odnos neutrofila i limfocita.

### *5.2.4.2 Laboratorijske analize ispitanika koji nisu dijalizirani (1. i 7. dan liječenja)*

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza ispitanika koji nisu dijalizirani urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana za IL-6 ( $p= 0,042$ ), leukocite ( $p= 0,040$ ) i limfocite ( $p< 0,010$ ). Sa druge strane, potvrđen je statistički značajan pad vrijednosti za CRP ( $p= 0,002$ ), TNF- $\alpha$  ( $p< 0,010$ ) i feritin ( $p< 0,010$ ) (Tabela 18).

**Tabela 18:** Laboratorijske analize ispitanika koji nisu dijalizirani (1. i 7. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	1. dan	7. dan	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	82 (114,30)	25,50 (102,70)	<b>0,002</b>
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	29,10 (47,37)	36,90 (171,87)	<b>0,042</b>
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	169,10 (80,30)	62,24 (124,45)	<0,010
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1355 (857)	933 (733)	<0,010
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	10,25 (5,48)	11,29 (7,62)	<b>0,040</b>
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	9,18 (5,29)	9,43 (7,59)	0,218
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,66 (0,38)	0,94 (0,85)	<0,010
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	1,63 (4,55)	2,32 (5,04)	0,992

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ - faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR-odnos neutrofila i limfocita.

#### 5.2.4.3. Poređenje analiza dobijenih 1. dana liječenja između ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza između ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani urađenih prvog dana liječenja, potvrđene su statistički značajno manje vrijednosti za IL-6 kod ispitanika koji nisu dijalizirani ( $p= 0,050$ ) (Tabela 19).

**Tabela 19:** Poređenje laboratorijskih analiza ispitanika (dijalizirani/nedijalizirani, 1. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	Hemodializa DA	Hemodializa NE	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	131 (118,28)	82 (114,30)	0,135
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	131,55 (378)	29,10 (47,37)	<b>0,050</b>
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	126,45 (113,99)	169,10 (80,30)	0,107
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1564,50 (2273,50)	1355 (857)	0,440
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	9,09 (9,65)	10,25 (5,48)	0,738
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	10,68 (10,51)	9,18 (5,29)	0,797
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,58 (0,71)	0,66 (0,38)	0,525
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	2,53 (13,68)	1,63 (4,55)	0,175

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ - faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR-odnos neutrofila i limfocita.

#### 5.2.4.4. Poređenje analiza dobijenih 7. dana liječenja između ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza između ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani urađenih sedmog dana liječenja, potvrđene su statistički značajno manje vrijednosti za CRP ( $p= 0,049$ ), IL-6 ( $p= 0,050$ ), feritin ( $p= 0,011$ ) i D-dimer ( $p= 0,010$ ) kod ispitanika koji nisu dijalizirani, uz veće vrijednosti za limfocite ( $p= 0,005$ ) (Tabela 20).

**Tabela 20:** Poređenje laboratorijskih analiza ispitanika (dijalizirani/nedijalizirani, 7. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	Hemodializa DA	Hemodializa NE	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	112,50 (161,58)	25,50 (102,70)	<b>0,049</b>
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	208 (3321,80)	36,90 (171,87)	<b>0,091</b>
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	41,08 (124,09)	62,24 (124,45)	0,743
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1505,50 (918,50)	933 (733)	<b>0,011</b>
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	11,55 (3,28)	11,29 (7,62)	0,973
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	10,01 (8,84)	9,43 (7,59)	0,498
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,48 (0,30)	0,94 (0,85)	<b>0,005</b>
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	8,19 (5,69)	2,32 (5,04)	<b>0,010</b>

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ - faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR- odnos neutrofila i limfocita.

## 5.2.5. POREĐENJE REZULTATA LABORATORIJSKIH ANALIZA ISPITANIKA KOJI SU TREBALI VAZOPRESORE I KOJI NISU TREBALI VAZOPRESORE

### 5.2.5.1. Laboratorijske analize ispitanika koji su trebali vazopresore (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza urađenih prvog i sedmog dana liječenja kod ispitanika koji su zbog hipotenzije trebali vazopresorne lijekove u terapiji, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana za IL-6 ( $p= 0,002$ ), dok se sa druge strane bilježi se statistički značajan pad vrijednosti za TNF- $\alpha$  ( $p< 0,010$ ) (Tabela 21).

**Tabela 21:** Laboratorijske analize ispitanika koji su trebali vazopresore (1. i 7. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	1. dan	7. dan	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	92,70 (126,05)	112 (113,45)	0,502
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	46 (124,30)	148 (504,10)	<b>0,002</b>
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	163,45 (83,10)	68,20 (118,66)	<b>&lt;0,010</b>
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1433 (1128)	1288,50 (715,75)	0,149
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	10,24 (6,36)	11,50 (11,72)	0,065
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	9,17 (5,84)	9,97 (9,92)	0,150
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,60 (0,44)	0,54 (0,52)	0,339
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	2,10 (9,68)	5,91 (7,32)	0,936

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ - faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR-odnos neutrofila i limfocita.

### 5.2.5.2. Laboratorijske analize ispitanika koji nisu trebali vazopresore (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza urađenih prvog i sedmog dana liječenja kod ispitanika koji nisu trebali vazopresore u liječenju, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana za limfocite ( $p< 0,010$ ), dok je sa druge strane zabilježen statistički značajan pad za CRP ( $p< 0,010$ ), TNF- $\alpha$  ( $p< 0,010$ ) i feritin ( $p< 0,010$ ) (Tabela 22).

**Tabela 22:** Laboratorijske analize ispitanika koji nisu trebali vazopresore (1. i 7. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	1. dan	7. dan	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	81,95 (119,30)	4,65 (12,42)	<b>&lt;0,010</b>
IL-6	0 - 7 pg/mL	22,50 (49,34)	17,15 (80)	0,799

(median, IQR)				
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	163,45 (105,25)	50,40 (142,83)	<0,010
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1347 (792,25)	811 (705,50)	<0,010
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	10,92 (5,19)	11,30 (5,03)	0,156
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	9,57 (5,17)	9,15 (5,38)	0,497
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,71 (0,31)	1,10 (1,28)	<0,010
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	1,29 (1,49)	1,45 (2,02)	0,881

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ - faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR-odnos neutrofila i limfocita.

#### 5.2.5.3. Poređenje analiza dobijenih 1. dana liječenja između ispitanika koji su trebali vazopresore i koji trebali vazopresore

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza urađenih prvog dana liječenja između kod ispitanika koji su zbog hipotenzije trebali vazopresorne lijekove i onih koji ih nisu trebali, potvrđene su statistički značajno veće vrijednosti za IL-6 ( $p= 0,035$ ) i D-dimer ( $p= 0,001$ ) kod ispitanika koji su trebali vazopresore (Tabela 23).

**Tabela 23:** Poređenje laboratorijskih analiza ispitanika (trebali vazopresore/ nisu trebali vazopresore; 1. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	Vazopresor DA	Vazopresor NE	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	92,70 (126,05)	81,95 (119,30)	0,699
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	46 (124,30)	22,50 (49,34)	<b>0,035</b>
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	163,45 (83,10)	163,45 (105,25)	0,765
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1433 (1128)	1347 (792,25)	0,275
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	10,24 (6,36)	10,92 (5,19)	0,735
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	9,17 (5,84)	9,57 (5,17)	0,996
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,60 (0,44)	0,71 (0,31)	0,177
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	2,10 (9,68)	1,29 (1,49)	<b>0,001</b>

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ - faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR-odnos neutrofila i limfocita.

#### 5.2.5.4. Poređenje analiza dobijenih 7. dana liječenja između ispitanika koji su trebali vazopresore i koji nisu trebali vazopresore

Poređenjem rezultata laboratorijskih analiza urađenih sedmog dana liječenja između ispitanika koji su zbog hipotenzije trebali vazopresore u liječenju i onih koji ih nisu trebali, potvrđene su statistički značajno veće vrijednosti za CRP ( $p < 0,010$ ), IL-6 ( $p < 0,010$ ), feritin ( $p = 0,004$ ) i D-dimer ( $p < 0,010$ ) kod ispitanika koji su trebali vazopresore. Sa druge strane, kod njih se bilježe statistički značajno niže vrijednosti limfocita ( $p < 0,010$ ) (Tabela 24).

**Tabela 24:** Poređenje laboratorijskih analiza ispitanika (trebali vazopresore/ nisu trebali vazopresore; 7. dan)

Parametar	Ref. vrijednost	Vazopresor DA	Vazopresor NE	p
CRP (median, IQR)	0 - 5 mg/mL	112 (113,45)	4,65 (12,42)	<b>&lt;0,010</b>
IL-6 (median, IQR)	0 - 7 pg/mL	148 (504,10)	17,15 (80)	<b>&lt;0,010</b>
TNF- $\alpha$ (median, IQR)	-	68,20 (118,66)	50,40 (142,83)	0,701
Feritin (median, IQR)	22 - 322 ng/mL	1288,50 (715,75)	811 (705,50)	<b>0,004</b>
WBC (median, IQR)	3,40 – 9,70 (1e9)/L	11,50 (11,72)	11,30 (5,03)	0,604
Neutro (median, IQR)	2,06 – 6,49 (1e9)/L	9,97 (9,92)	9,15 (5,38)	0,299
Lymph (median, IQR)	1,19 – 3,35 (1e9)/L	0,54 (0,52)	1,10 (1,28)	<b>&lt;0,010</b>
D-dimer (median, IQR)	0,00 – 0,50 mg/L	5,91 (7,32)	1,45 (2,02)	<b>&lt;0,010</b>

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; CRP- C-reaktivni protein; IL-6- interleukin-6; TNF- $\alpha$ - faktor nekroze tumora alfa; WBC- broj leukocita; Neutro- apsolutni broj neutrofila; Lymph- apsolutni broj limfocita; NLR- odnos neutrofila i limfocita.

## 5.3. REZULTATI MARKERA OKSIDATIVNOG STRESA

### 5.3.1. POREĐENJE REZULTATA MARKERA OKSIDATIVNOG STRESA IZMEĐU PREŽIVJELIH I UMRLIH ISPITANIKA

#### 5.3.1.1 Preživjeli ispitanici (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata prooksidanasa i antioksidanasa urađenih prvog i sedmog dana liječenja kod preživjelih bolesnika, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana liječenja za  $\text{NO}_2^-$  ( $p = 0,037$ ), CAT ( $p = 0,010$ ) i SOD ( $p = 0,003$ ). Za ostale posmatrane parametre nije utvrđena statistički značajna razlika (Tabela 25).

**Tabela 25:** Proksidansi i antioksidansi preživjelih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (median, IQR)	2,36 ( $\pm$ 0,79)	2,28 ( $\pm$ 0,82)	0,593
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	23,42 ( $\pm$ 14,24)	23,81 ( $\pm$ 14,03)	0,911
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	2,51 (0,46)	2,71 (1,20)	<b>0,037</b>
CAT (median, IQR)	1122,93 (443,36)	1377,78 (479,43)	<b>0,010</b>
SOD (median, IQR)	24,42 (16,28)	32,56 (50,88)	<b>0,003</b>
GSH (median, IQR)	69892,44 (7139,55)	71520,76 (11899,26)	0,115

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- vodonik-peroksid; O<sub>2</sub><sup>-</sup>- superoksid-anjon-radikal; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>- nitriti; CAT- katalaza; SOD- superoksid-dizmutaza; GSH- totalni redukovani glutation

### 5.3.1.2. Umrlji ispitanici (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa urađenih prvog i sedmog dana liječenja kod umrlih bolesnika, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana liječenja za NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (p= 0,049), CAT (p= 0,009) i SOD (p= 0,000). Za ostale posmatrane parametre nije utvrđena statistički značajna razlika (Tabela 26).

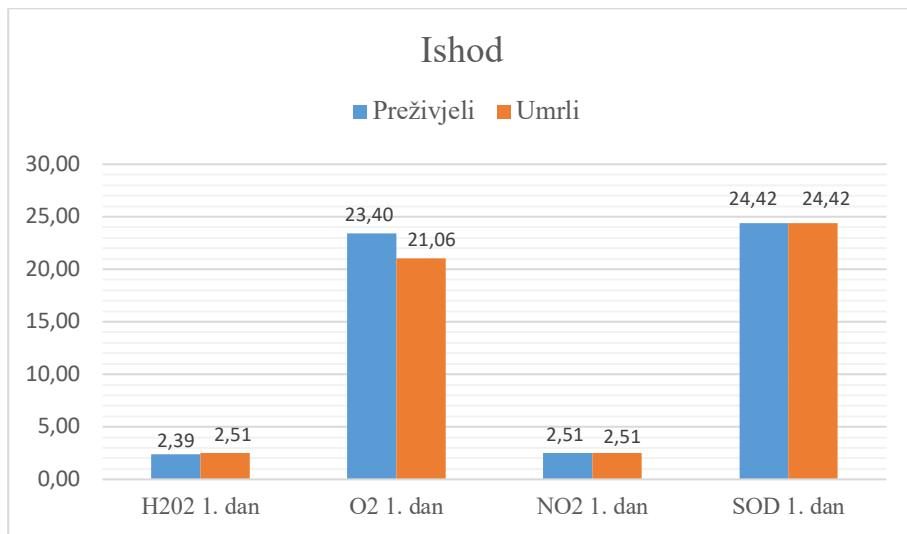
**Tabela 26:** Proksidansi i antioksidansi umrlih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (median, IQR)	2,51 ( $\pm$ 0,67)	2,54 ( $\pm$ 0,81)	0,858
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	21,06 ( $\pm$ 10,26)	23,23 ( $\pm$ 13,80)	0,466
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	2,51 (0,35)	2,61 (0,54)	<b>0,049</b>
CAT (median, IQR)	1033,33 (392,74)	1293,99 (342,99)	<b>0,009</b>
SOD (median, IQR)	24,42 (8,14)	40,70 (36,63)	<b>0,000</b>
GSH (median, IQR)	68138,87 (9394)	74652,14 (14404,35)	0,172

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- vodonik-peroksid; O<sub>2</sub><sup>-</sup>- superoksid-anjon-radikal; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>- nitriti; CAT- katalaza; SOD- superoksid-dizmutaza; GSH- totalni redukovani glutation

### *5.3.1.3. Poređenje rezultata analiza dobijenih 1. dana liječenja između preživjelih i umrlih ispitanika*

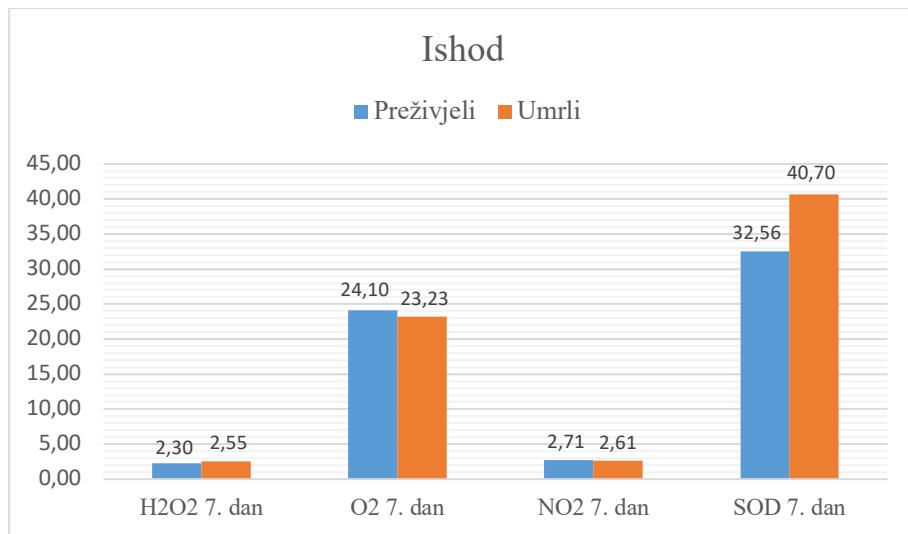
Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa urađenih prvog dana liječenja između preživjelih i umrlih ispitanika, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Ipak, zbog lakšeg pregleda i komparacije, dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 13), uz izuzetak rezultata za GSH i CAT (velika razlika u poređenju sa ostalim parametrima)



**Slika 13.** Proksidansi i antioksidansi mjereni prvog dana liječenja kod preživjelih i umrlih ispitanika

### *5.3.1.4. Poređenje rezultata analiza dobijenih 7. dana liječenja između preživjelih i umrlih ispitanika*

Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa urađenih sedmog dana liječenja između preživjelih i umrlih ispitanika, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Izuzetak predstavlja rezultat za SOD, čije su vrijednosti bile veće kod umrlih osoba i na granici statističke značajnosti ( $p= 0,058$ ). Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički, uz izuzetak rezultata za GSH i CAT (velika razlika u poređenju sa ostalim parametrima) (Slika 14).



**Slika 14.** Proksidansi i antioksidansi mjereni sedmog dana liječenja kod preživjelih i umrlih ispitanika

### 5.3.2. POREĐENJE MARKERA OKSIDATIVNOG STRESA IZMEĐU INTUBIRANIH I NEINTUBIRANIH ISPITANIKA

#### 5.3.2.1. Intubirani ispitanici (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa urađenih prvog i sedmog dana liječenja kod intubiranih ispitanika, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana liječenja za CAT ( $p= 0,001$ ) i SOD ( $p= 0,000$ ). Za ostale posmatrane parametre nije utvrđena statistički značajna razlika (Tabela 27).

**Tabela 27:** Proksidansi i antioksidansi intubiranih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (median, IQR)	2,55 ± 0,65	2,52 ± 0,86	0,862
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	21,81 ± 10,79	24,74 ± 14,20	0,280
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	2,48 (0,43)	2,59 (0,66)	0,106
CAT (median, IQR)	1017,04 (380,52)	1307,95 (339,2)	<b>0,001</b>
SOD (median, IQR)	24,42 (10,17)	40,70 (26,45)	<b>0,000</b>
GSH (median, IQR)	68514,63 (7891,09)	74526,88 (14028,59)	0,122

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- vodonik-peroksid; O<sub>2</sub><sup>-</sup>- superoksid-anjon-radikal; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>- nitriti; CAT- katalaza; SOD- superoksid-dizmutaza; GSH- totalni redukovani glutation

### 5.3.2.2. Neintubirani ispitanici (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa urađenih prvog i sedmog dana liječenja kod neintubiranih ispitanika, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana liječenja za  $\text{NO}_2^-$  ( $p= 0,019$ ), CAT ( $p= 0,055$ ) i SOD ( $p= 0,011$ ). Za ostale posmatrane parametre nije utvrđena statistički značajna razlika (Tabela 28).

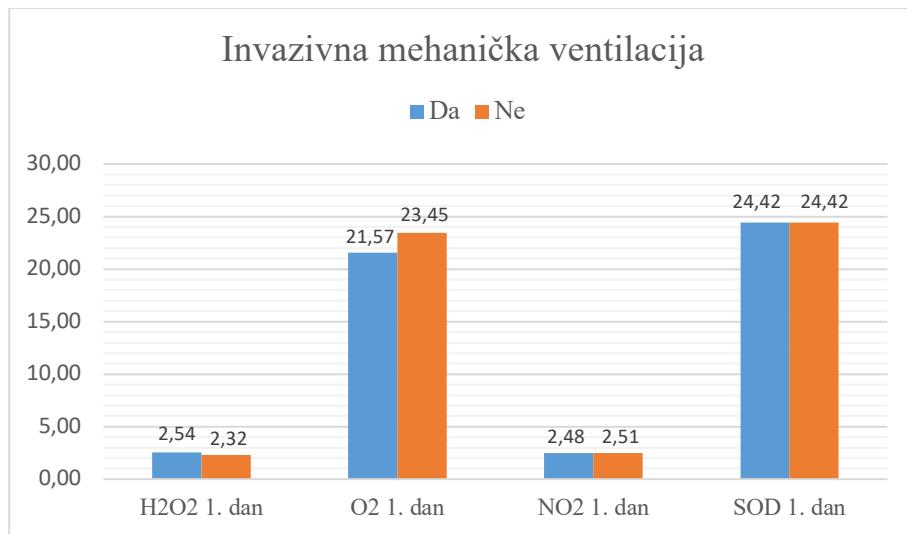
**Tabela 28:** Proksidansi i antioksidansi neintubiranih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
$\text{H}_2\text{O}_2$ (median, IQR)	$2,28 \pm 0,82$	$2,25 \pm 0,77$	0,872
$\text{O}_2^-$ (median, IQR)	$23,10 \pm 14,65$	$22,25 \pm 13,51$	0,831
$\text{NO}_2^-$ (median, IQR)	2,51 (0,47)	2,80 (1,54)	<b>0,019</b>
CAT (median, IQR)	1147,37 (428,23)	1368,47 (482,34)	<b>0,055</b>
SOD (median, IQR)	24,42 (16,28)	24,42 (56,98)	<b>0,011</b>
GSH (median, IQR)	69767,18 (7390,06)	71395,51 (11147,72)	0,182

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon;  $\text{H}_2\text{O}_2$ - vodonik-peroksid;  $\text{O}_2^-$ - superoksid-anjon-radikal;  $\text{NO}_2^-$ - nitriti; CAT- katalaza; SOD- superoksid-dizmutaza; GSH- totalni redukovani glutatoni

### 5.3.2.3. Poređenje rezultata analiza dobijenih 1. dana liječenja između intubiranih i neintubiranih ispitanika

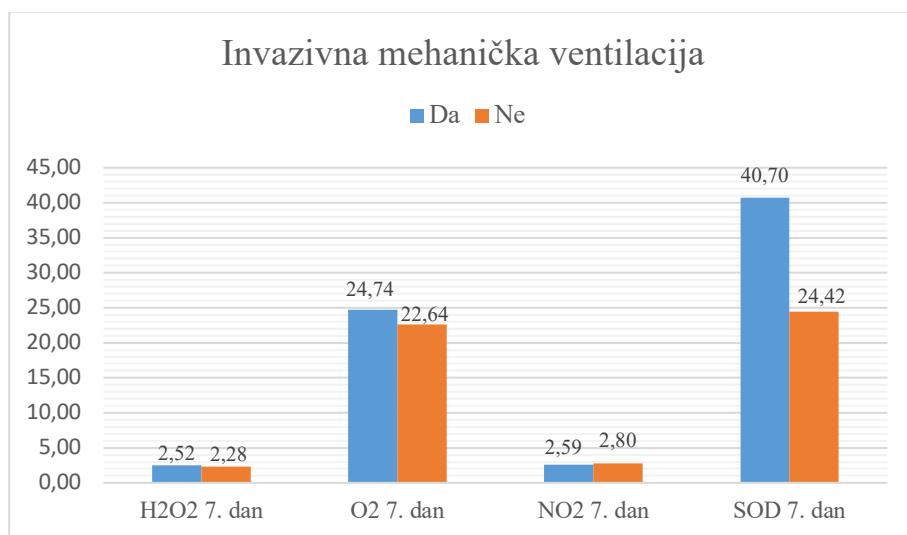
Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa urađenih prvog dana liječenja između intubiranih i neintubiranih ispitanika, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Ipak, zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički, uz izuzetak rezultata za GSH i CAT (velika razlika u poređenju sa ostalim parametrima) (Slika 15).



**Slika 15.** Proksidansi i antioksidansi mjereni prvog dana liječenja kod ispitanika koji su bili intubirani i koji nisu bili intubirani

#### 5.3.2.4. Poređenje analiza dobijenih 7. dana liječenja između intubiranih i neintubiranih ispitanika

Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa urađenih sedmog dana liječenja između intubiranih i neintubiranih ispitanika, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Ipak, zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički, uz izuzetak rezultata za GSH i CAT (velika razlika u poređenju sa ostalim parametrima) (Slika 16).



**Slika 16.** Proksidansi i antioksidansi mjereni sedmog dana liječenja kod ispitanika koji su bili intubirani i koji nisu bili intubirani

### 5.3.3. POREĐENJE REZULTATA MARKERA OKSIDATIVNOG STRESA IZMEĐU ISPITANIKA SA KOMORBIDITETIMA I BEZ KOMORBIDITETA

#### 5.3.3.1. Ispitanici sa komorbiditetima (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa ispitanika sa komorbiditetima urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana liječenja za CAT ( $p= 0,005$ ), SOD ( $p= 0,000$ ) i GSH ( $p= 0,033$ ). Za ostale posmatrane parametre nije utvrđena statistički značajna razlika (Tabela 29).

**Tabela 29:** Proksidansi i antioksidansi ispitanika sa komorbiditetima (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (median, IQR)	2.38 ± 0.71	2.48 ± 0.82	0.527
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	23.18 ± 13.48	24.31 ± 13.73	0.688
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	2.51 (0.40)	2.59 (0.68)	0.062
CAT (median, IQR)	1096.17 (404.96)	1325.41 (447.43)	<b>0.005</b>
SOD (median, IQR)	24.42 (12.21)	32.56 (42.73)	<b>0.000</b>
GSH (median, IQR)	69892.44 (7264.8)	72522.80 (12713.41)	<b>0.033</b>

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- vodonik-peroksid; O<sub>2</sub><sup>-</sup>- superoksid-anjon-radikal; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>- nitriti; CAT- katalaza; SOD- superoksid-dizmutaza; GSH- totalni redukovani glutation

#### 5.3.3.2. Ispitanici bez komorbiditeta (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa ispitanika bez komorbiditeta urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana liječenja za NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ( $p= 0,007$ ), CAT ( $p= 0,027$ ) i SOD ( $p= 0,004$ ). Za ostale posmatrane parametre nije utvrđena statistički značajna razlika (Tabela 30).

**Tabela 30:** Proksidansi i antioksidansi ispitanika bez komorbiditeta (1. i 7. dan)

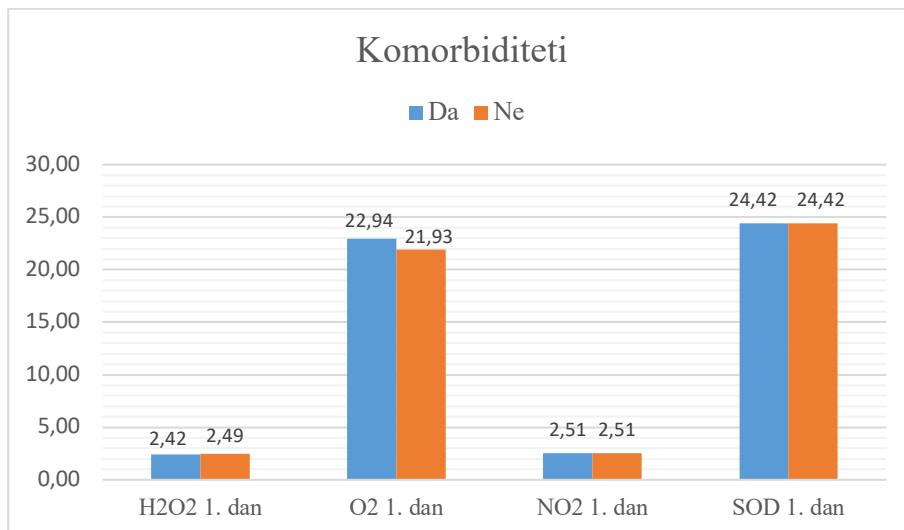
Parametar	1. dan	7. dan	p
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (median, IQR)	2,53 ± 0,81	2,17 ± 0,82	0,069
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	20,44 ± 10,36	21,64 ± 14,30	0,784
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	2,51 (0,50)	2,88 (1,49)	<b>0,007</b>
CAT	1089,19 (347,94)	1280,03 (470,71)	<b>0,027</b>

(median, IQR)			
SOD (median, IQR)	24.42 (20.35)	40.70 (73.26)	<b>0,004</b>
GSH (median, IQR)	67637,85 (8642,61)	70643,98(19164,06)	0,626

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- vodonik-peroksid; O<sub>2</sub><sup>-</sup>- superoksid-anjon-radikal; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>- nitriti; CAT- katalaza; SOD- superoksid-dizmutaza; GSH- totalni redukovani glutation

### 5.3.3.3. Poređenje rezultata analiza dobijenih 1. dana liječenja između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta

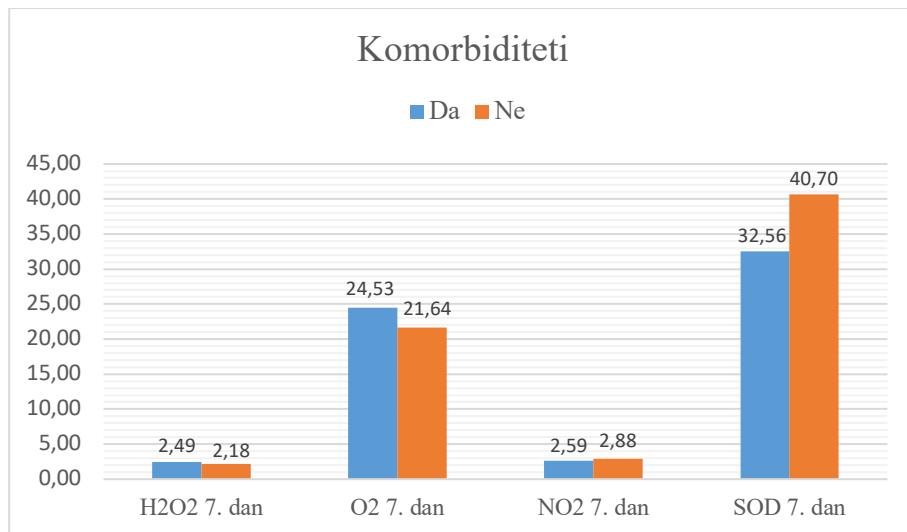
Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta urađenih prvog dana liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Ipak, zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički, uz izuzetak rezultata za GSH i CAT (velika razlika u poređenju sa ostalim parametrima) (Slika 17).



**Slika 17.** Proksidansi i antioksidansi mjereni prvog dana liječenja kod ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta

### 5.3.3.4. Poređenje analiza dobijenih 7. dana liječenja između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta

Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta urađenih sedmog dana liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Ipak, zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički, uz izuzetak rezultata za GSH i CAT (velika razlika u poređenju sa ostalim parametrima) (Slika 18).



**Slika 18.** Proksidansi i antioksidansi mjereni sedmog dana liječenja kod ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta

### 5.3.4. POREĐENJE REZULTATA MARKERA OKSIDATIVNOG STRESA IZMEĐU ISPITANIKA KOJI SU LIJEČENI HEMODIJALIZOM I KOJI NISU LIJEČENI HEMODIJALIZOM

#### 5.3.4.1. Ispitanici koji su liječeni hemodializom (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa ispitanika sa koji su dijalizirani urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana liječenja za CAT ( $p= 0,036$ ). Za ostale posmatrane parametre nije utvrđena statistički značajna razlika (Tabela 31).

**Tabela 31:** Proksidansi i antioksidansi ispitanika koji su liječeni hemodializom (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (median, IQR)	2,73 ± 0,52	2,48 ± 0,99	0,560
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	19,23 ± 12,14	25,20 ± 16,72	0,302
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	2,48 (0,25)	2,51 (0,64)	0,352
CAT (median, IQR)	968,16 (424,15)	1395,23 (298,49)	<b>0,036</b>
SOD (median, IQR)	16,28 (16,28)	32,56 (36,63)	0,396
GSH (median, IQR)	68264,12 (5072,83)	72773,31 (12087,13)	0,063

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- vodonik-peroksid; O<sub>2</sub><sup>-</sup>- superoksid-anjon-radikal; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>- nitriti; CAT- katalaza; SOD- superoksid-dizmutaza; GSH- totalni redukovani glutonit.

#### 5.3.4.2. Ispitanici koji nisu liječeni hemodializom (1. i 7. dana liječenja)

Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa ispitanika koji nisu dijalizirani urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana liječenja za  $\text{NO}_2^-$  ( $p= 0,007$ ), CAT ( $p= 0,002$ ) i SOD ( $p= 0,000$ ). Za ostale posmatrane parametre nije utvrđena statistički značajna razlika (Tabela 32).

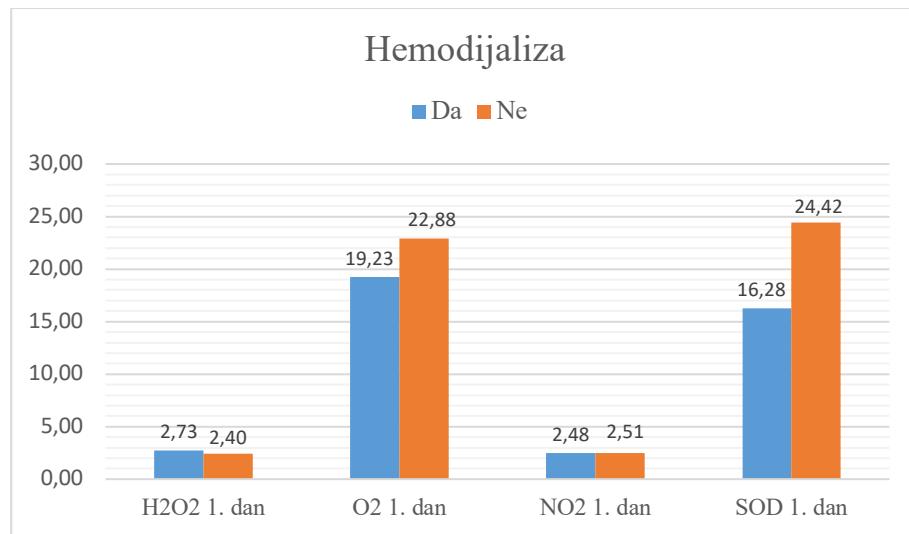
**Tabela 32:** Proksidansi i antioksidansi ispitanika koji su nisu liječeni hemodializom (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
$\text{H}_2\text{O}_2$ (median, IQR)	$2,38 \pm 0,76$	$2,38 \pm 0,81$	0,993
$\text{O}_2^-$ (median, IQR)	$22,84 \pm 12,77$	$23,35 \pm 13,56$	0,843
$\text{NO}_2^-$ (median, IQR)	2,51 (0,46)	2,65 (1,01)	<b>0,007</b>
CAT (median, IQR)	1107,81(421,25)	1293,99 (457,91)	<b>0,002</b>
SOD (median, IQR)	24,42 (10,17)	40,70 (56,98)	<b>0,000</b>
GSH (median, IQR)	69767,18 (7577,95)	72397,55 (13277,06)	0,110

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon;  $\text{H}_2\text{O}_2$ - vodonik-peroksid;  $\text{O}_2^-$ - superoksid-anjon-radikal;  $\text{NO}_2^-$ - nitriti; CAT- katalaza; SOD- superoksid-dizmutaza; GSH- totalni redukovani glutatton

#### 5.3.4.3. Poređenje analiza dobijenih 1. dana liječenja između ispitanika koji su liječeni hemodializom i koji nisu liječeni hemodializom

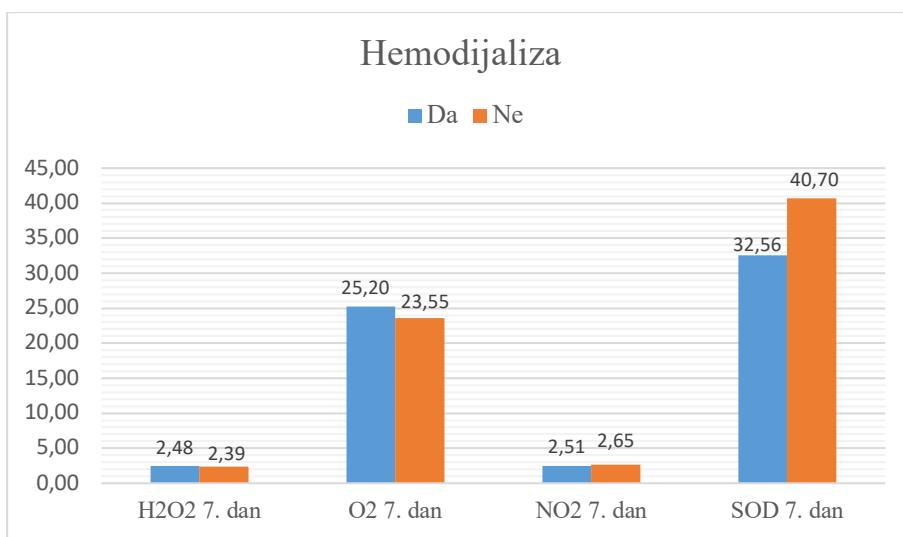
Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa između ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani urađenih prvog dana liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Ipak, zbog lakšeg pregleda i komparacije, dobijeni rezultati su predstavljeni grafički, uz izuzetak rezultata za GSH i CAT (velika razlika u poređenju sa ostalim parametrima) (Slika 19).



**Slika 19.** Proksidansi i antioksidansi mjereni prvog dana liječenja kod ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani

#### 5.3.4.4. Poređenje analiza dobijenih 7. dana liječenja između ispitanika koji su liječeni hemodijalizom i koji nisu liječeni hemodijalizom

Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa između ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani urađenih sedmog dana liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Ipak, zbog lakšeg pregleda i komparacije, dobijeni rezultati su predstavljeni grafički, uz izuzetak rezultata za GSH i CAT (velika razlika u poređenju sa ostalim parametrima) (Slika 20).



**Slika 20.** Proksidansi i antioksidansi mjereni sedmog dana liječenja kod ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani

### **5.3.5. POREĐENJE MARKERA OKSIDATIVNOG STRESA IZMEĐU ISPITANIKA KOJI SU TREBALI I KOJI NISU TREBALI VAZOPRESORNU TERAPIJU**

#### *5.3.5.1. Ispitanici koji su trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan liječenja)*

Poređenjem rezultata prooksidanasa i antioksidanasa urađenih prvog i sedmog dana liječenja kod ispitanika koji su zbog hipotenzije trebali vazopresore u liječenju, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana za CAT ( $p= 0,002$ ), SOD ( $p= 0,000$ ) i GSH ( $p= 0,054$ ) (Tabela 33).

**Tabela 33:** Prooksidansi i antioksidansi ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (median, IQR)	2,53 ± 0,63	2,49 ± 0,85	0,832
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	22,46 ± 11,23	24,88 ± 14,32	0,367
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	2,51 (0,41)	2,59 (0,50)	0,106
CAT (median, IQR)	1006,57 (395,07)	1321,22 (354,92)	<b>0,002</b>
SOD (median, IQR)	24,42 (12,21)	40,70 (28,49)	<b>0,000</b>
GSH (median, IQR)	68639,89 (7515,32)	74652,14 (13652,82)	<b>0,054</b>

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- vodonik-peroksid; O<sub>2</sub><sup>-</sup>- superoksid-anjon-radikal; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>- nitriti; CAT- katalaza; SOD- superoksid-dizmutaza; GSH- totalni redukovani glutation

#### *5.3.5.2. Ispitanici koji su nisu trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan liječenja)*

Poređenjem rezultata prooksidanasa i antioksidanasa urađenih prvog i sedmog dana liječenja kod ispitanika koji nisu trebali vazopresore u liječenju, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana za NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ( $p= 0,019$ ), CAT ( $p= 0,048$ ) i SOD ( $p= 0,002$ ). (Tabela 34).

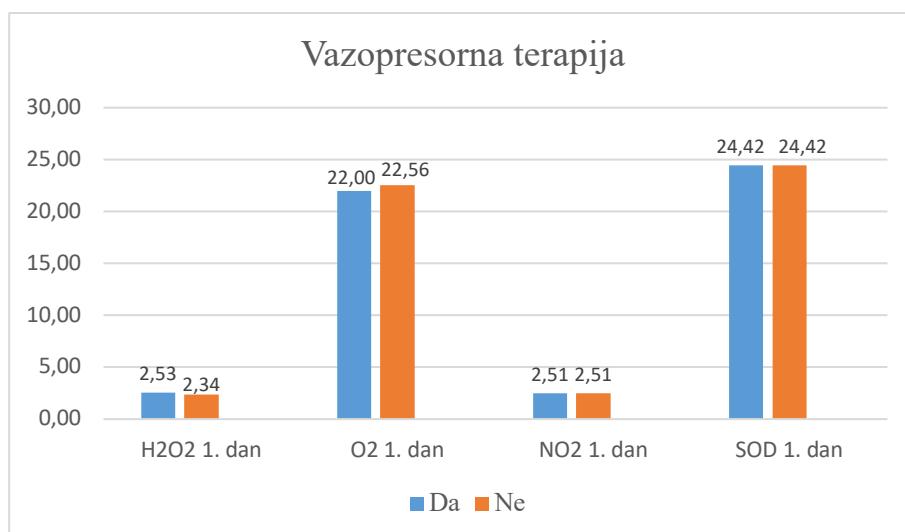
**Tabela 34:** Proksidansi i antioksidansi ispitanika koji nisu trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (median, IQR)	2,30 ± 0,84	2,28 ± 0,80	0,906
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	22,37 ± 14,29	22,10 ± 13,35	0,945
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (median, IQR)	2,51 (0,48)	2,80 (1,57)	<b>0,019</b>
CAT (median, IQR)	1149,70 (407,87)	1324,25 (484,67)	<b>0,048</b>
SOD (median, IQR)	24,42 (16,28)	32,56 (56,98)	<b>0,002</b>
GSH (median, IQR)	69641,93 (7891,09)	71019,74 (10959,83)	0,323

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- vodonik-peroksid; O<sub>2</sub><sup>-</sup>- superoksid-anjon-radikal; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>- nitriti; CAT- katalaza; SOD- superoksid-dizmutaza; GSH- totalni redukovani glutation

### 5.3.5.3. Poređenje rezultata analiza dobijenih 1. dana liječenja između ispitanika koji su liječeni vazopresornom terapijom i koji nisu liječeni vazopresornom terapijom

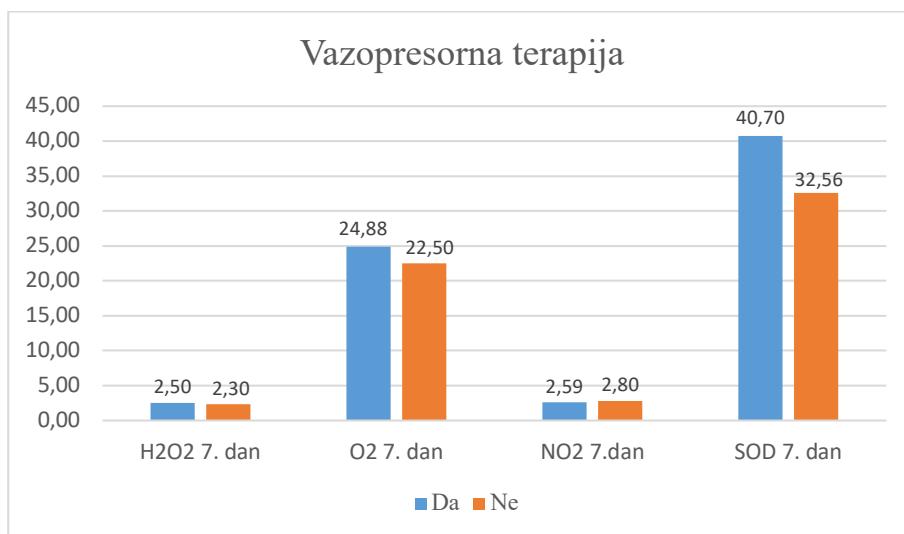
Poređenjem rezultata proksidanasa i antioksidanasa između ispitanika koji su liječeni vazopresornom terapijom i grupe koja nije liječena vazopresornom terapijom urađenih prvog dana liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Ipak, zbog lakšeg pregleda i komparacije, dobijeni rezultati su predstavljeni grafički, uz izuzetak rezultata za GSH i CAT (velika razlika u poređenju sa ostalim parametrima) (Slika 21).



**Slika 21.** Proksidansi i antioksidansi mjereni prvog dana liječenja kod ispitanika koji su trebali vazopresore i koji nisu trebali vazopresore

#### 5.3.5.4. Poređenje rezultata dobijenih 7. dana liječenja između ispitanika koji su liječeni vazopresornom terapijom i koji nisu liječeni vazopresornom terapijom

Poređenjem rezultata prooksidanasa i antioksidanasa između ispitanika koji su liječeni vazopresornom terapijom i grupe koja nije liječena vazopresornom terapijom urađenih sedmog dana liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Ipak, zbog lakšeg pregleda i komparacije, dobijeni rezultati su predstavljeni grafički, uz izuzetak rezultata za GSH i CAT (velika razlika u poređenju sa ostalim parametrima) (Slika 22).



**Slika 22.** Prooksidansi i antioksidansi mjereni sedmog dana liječenja kod ispitanika koji su trebali vazopresor i koji nisu trebali vazopresore

### 5.4 REZULTATI ANALIZA PEPTIDA RENIN-ANGIOTENZIN-ALDOSTERON SISTEMA

#### 5.4.1. POREĐENJE REZULTATA PEPTIDA RAAS IZMEĐU PREŽIVJELIH I UMRLIH ISPITANIKA

##### 5.4.1.1. Preživjeli ispitanici (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS kod preživjelih ispitanika urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan porast vrijednosti sedmog dana za ACE2 ( $p= 0,011$ ), dok je za Ang I zabilježen statistički značajan pad vrijednosti ( $p= 0,001$ ). Za ostala mjerena nije zabilježena statistički značajna razlika (Tabela 35).

**Tabela 35:** Analize RAAS kod preživjelih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
ACE (median, IQR) ng/mL	21,69 (9,44)	20,88 (12,12)	0,263
ACE2 (median, IQR) ng/mL	13,3 (3,45)	14,72 (4,33)	<b>0,011</b>
Ang I (median, IQR) pg/mL	39,15 (5,49)	37,12 (6,23)	<b>0,001</b>
Ang II (median, IQR) pg/mL	39,24 (34,66)	52,58 (41,04)	0,213
Ang 1-7 (median, IQR) pg/mL	11,24 (8,47)	13,04 (8,93)	0,420
Ang 1-9 (median, IQR) pg/mL	32,93 (6,26)	31,57 (9,29)	0,393

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; ACE- angiotenzin konvertujući enzim; ACE2- angiotenzin konvertujući enzim 2; Ang I- angiotenzin 1; Ang II- angiotenzin 2; Ang 1-7- angiotenzin 1-7; Ang 1-9- angiotenzin 1-9

#### 5.4.1.2. Umrli ispitanici (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS kod umrlih ispitanika urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan pad vrijednosti sedmog dana za Ang I ( $p = 0,037$ ). Za ostala mjerena nije zabilježena statistički značajna razlika (Tabela 36).

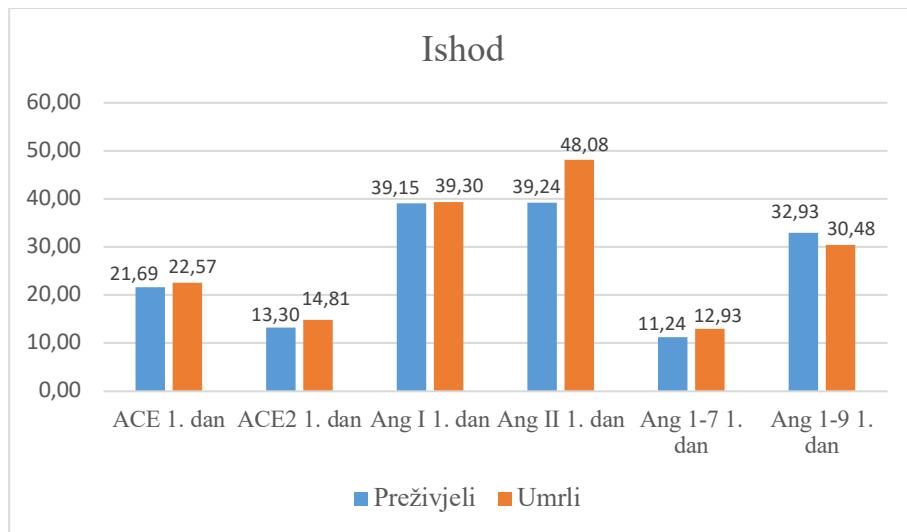
**Tabela 36:** Analize RAAS kod umrlih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
ACE (median, IQR) ng/mL	22,57 (11,93)	23,68 (8,93)	0,755
ACE2 (median, IQR) ng/mL	14,81 (4,74)	14,05 (3,23)	0,701
Ang I (median, IQR) pg/mL	39,30 (5,11)	36,98 (5,48)	<b>0,037</b>
Ang II (median, IQR) pg/mL	48,08 (50,65)	52,29 (29,79)	0,885
Ang 1-7 (median, IQR) pg/mL	12,93 (12,82)	13,99 (8,10)	0,829
Ang 1-9 (median, IQR) pg/mL	30,48 (6,82)	31,03 (7,10)	0,923

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; ACE- angiotenzin konvertujući enzim; ACE2- angiotenzin konvertujući enzim 2; Ang I- angiotenzin 1; Ang II- angiotenzin 2; Ang 1-7- angiotenzin 1-7; Ang 1-9- angiotenzin 1-9

#### 5.4.1.3. Poređenje rezultata RAAS dobijenih 1. dana između preživjelih i umrlih ispitanika

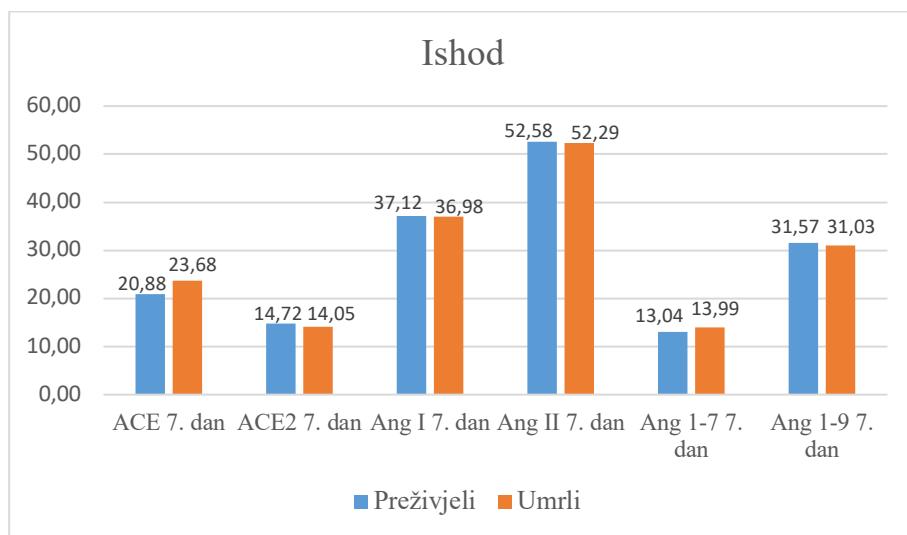
Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS između preživjelih i umrlih ispitanika urađenih prvog dana liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 23).



**Slika 23.** Poređenje rezultata peptida RAAS dobijenih prvog dana između preživjelih i umrlih ispitanika

#### 5.4.1.4. Poređenje rezultata RAAS dobijenih 7. dana između preživjelih i umrlih ispitanika

Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS između preživjelih i umrlih ispitanika urađenih sedmog dana liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 24).



**Slika 24.** Poređenje rezultata peptida RAAS dobijenih sedmog dana između preživjelih i umrlih ispitanika

## 5.4.2. POREĐENJE REZULTATA PEPTIDA RAAS IZMEĐU INTUBIRANIH I NEINTUBIRANIH ISPITANIKA

### 5.4.2.1. Intubirani ispitanici (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS intubiranih ispitanika urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan pad vrijednosti sedmog dana za Ang I ( $p = 0,025$ ). Za ostala mjerena nije zabilježena statistički značajna razlika (Tabela 37).

**Tabela 37:** Analize RAAS kod intubiranih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
ACE (median, IQR) ng/mL	22,11 (11,55)	21,46 (9,07)	0,512
ACE2 (median, IQR) ng/mL	14,43 (4,60)	14,05 (3,23)	0,974
Ang I (median, IQR) pg/mL	39,37 (4,42)	36,98 (6,95)	<b>0,025</b>
Ang II (median, IQR) pg/mL	44,34 (44,75)	54,36 (29,49)	0,793
Ang 1-7 (median, IQR) pg/mL	14,07 (12,76)	13,99 (8,34)	0,831
Ang 1-9 (median, IQR) pg/mL	31,02 (6,41)	30,75 (7,12)	0,521

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; ACE- angiotenzin konvertujući enzim; ACE2- angiotenzin konvertujući enzim 2; Ang I- angiotenzin 1; Ang II- angiotenzin 2; Ang 1-7- angiotenzin 1-7; Ang 1-9- angiotenzin 1-9

### 5.4.2.2. Neintubirani ispitanici (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS ispitanika koji nisu bili intubirani urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan pad vrijednosti sedmog dana za Ang I ( $p = 0,002$ ). Sa druge strane, za ACE2 je zabilježen statistički značajan porast vrijednosti ( $p = 0,008$ ). Za ostala mjerena nije zabilježena statistički značajna razlika (Tabela 38).

**Tabela 38:** Analize RAAS kod neintubiranih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
ACE (median, IQR) ng/mL	21,69 (9,70)	21,01 (12,44)	0,397
ACE2 (median, IQR) ng/mL	13,30 (3,20)	14,72 (4,53)	<b>0,008</b>
Ang I (median, IQR) pg/mL	39 (5,78)	37,26 (4,05)	<b>0,002</b>
Ang II (median, IQR) pg/mL	42,81 (34,66)	51,01 (41,15)	0,317
Ang 1-7 (median, IQR) pg/mL	11,20 (7,01)	12,51 (9,02)	0,309
Ang 1-9 (median, IQR)	32,66 (6,27)	31,57 (8,46)	0,796

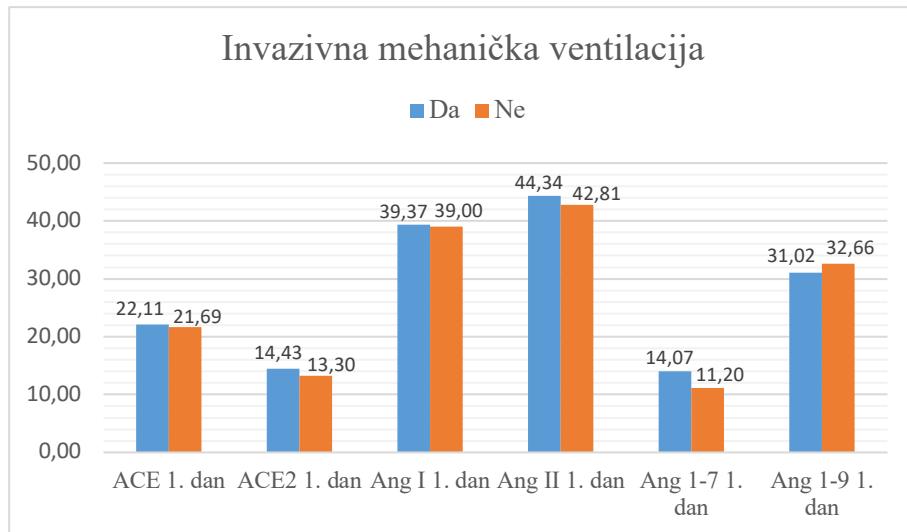
---

pg/mL

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; ACE- angiotenzin konvertujući enzim; ACE2- angiotenzin konvertujući enzim 2; Ang I- angiotenzin 1; Ang II- angiotenzin 2; Ang 1-7- angiotenzin 1-7; Ang 1-9- angiotenzin 1-9

#### 5.4.2.3. Poređenje rezultata RAAS dobijenih 1. dana između intubiranih i neintubiranih ispitanika

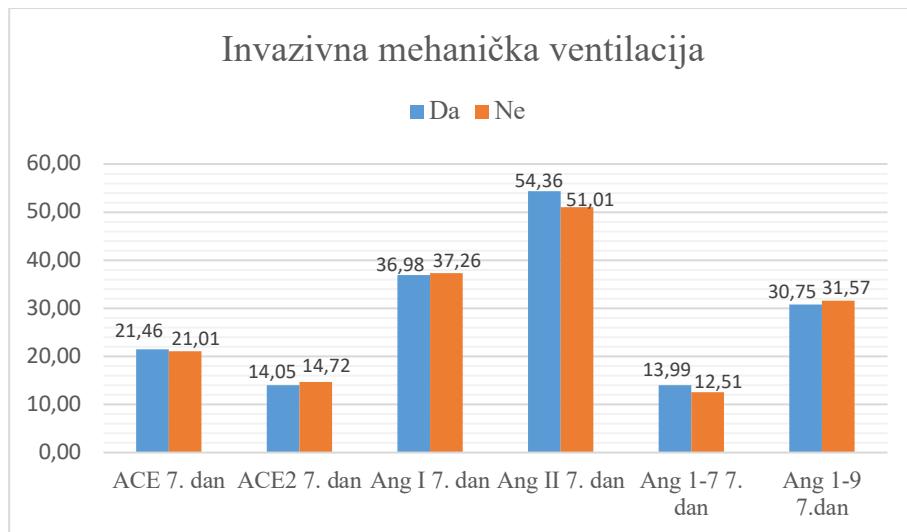
Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS između ispitanika koji su bili intubirani i ispitanika koji nisu bili intubirani urađenih prvog dana liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 25).



**Slika 25.** Poređenje rezultata peptida RAAS dobijenih prvog dana između intubiranih i neintubiranih bolesnika

#### 5.4.2.4. Poređenje rezultata RAAS dobijenih 7. dana između intubiranih i neintubiranih ispitanika

Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS između ispitanika koji su bili intubirani i ispitanika koji nisu bili intubirani urađenih sedmog dana liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 26).



**Slika 26.** Poređenje rezultata peptida RAAS dobijenih sedmog dana između intubiranih i neintubiranih bolesnika

#### 5.4.3. POREĐENJE REZULTATA PEPTIDA RAAS IZMEĐU ISPITANIKA SA KOMORBIDITETIMA I BEZ KOMORBIDITETA

##### 5.4.3.1. Ispitanici sa komorbiditetima (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS ispitanika sa komorbiditetima urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajan pad vrijednosti sedmog dana za Ang I ( $p= 0,001$ ). Za ostala mjerena nije zabilježena statistički značajna razlika (Tabela 39).

**Tabela 39:** RAAS analize pacijenata sa komorbiditetima (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
ACE (median, IQR) ng/mL	22,99 (11,88)	21,26 (11,63)	0,131
ACE2 (median, IQR) ng/mL	13,68 (3,39)	14,24 (3,23)	0,253
Ang I (median, IQR) pg/mL	39,37 (4,96)	37,26 (4,75)	<b>0,001</b>
Ang II (median, IQR) pg/mL	48,62 (37,21)	55,58 (33,64)	0,434
Ang 1-7 (median, IQR) pg/mL	11,86 (11,14)	13,87 (9,34)	0,636
Ang 1-9 (median, IQR) pg/mL	31,57 (5,99)	31,03 (6,01)	0,460

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; ACE- angiotenzin konvertujući enzim; ACE2- angiotenzin konvertujući enzim 2; Ang I- angiotenzin 1; Ang II- angiotenzin 2; Ang 1-7- angiotenzin 1-7; Ang 1-9- angiotenzin 1-9

#### *5.4.3.2. Ispitanici bez komorbiditeta (1. i 7. dan liječenja)*

Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS ispitanika bez komorbiditeta urađenih prvog i sedmog dana liječenja, nije zabilježena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 40).

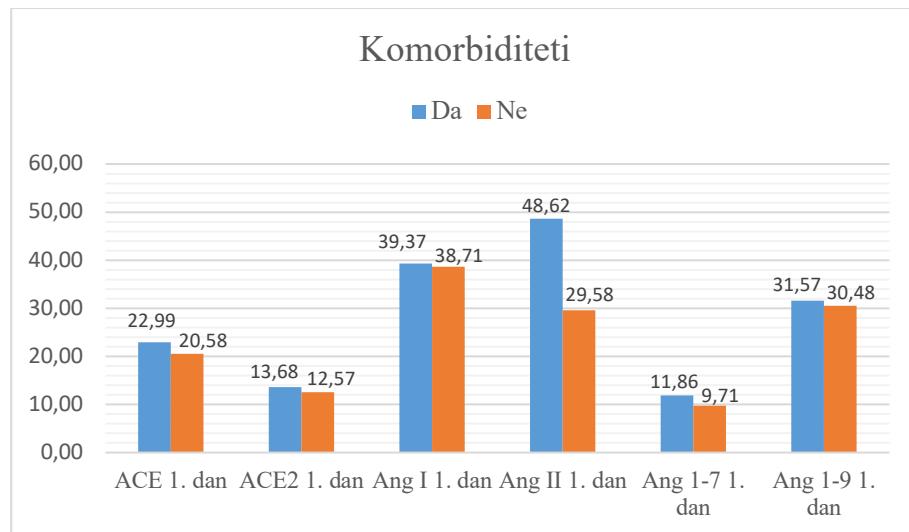
**Tabela 40:** RAAS analize pacijenata bez komorbiditeta (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
ACE (median, IQR) ng/mL	20,58 (5,65)	22,89 (10,25)	0,435
ACE2 (median, IQR) ng/mL	12,57 (4,05)	15,20 (3,90)	0,113
Ang I (median, IQR) pg/mL	38,71 (5,83)	36,42 (11,82)	0,064
Ang II (median, IQR) pg/mL	29,58 (24,28)	42,44 (39,45)	0,381
Ang 1-7 (median, IQR) pg/mL	9,71 (9,02)	13,24 (7,78)	0,831
Ang 1-9 (median, IQR) pg/mL	30,48 (7,36)	35,38 (11,95)	0,831

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; ACE- angiotenzin konvertujući enzim; ACE2- angiotenzin konvertujući enzim 2; Ang I- angiotenzin 1; Ang II- angiotenzin 2; Ang 1-7- angiotenzin 1-7; Ang 1-9- angiotenzin 1-9

#### *5.4.3.3. Poređenje analiza RAAS dobijenih 1. dana liječenja kod ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta*

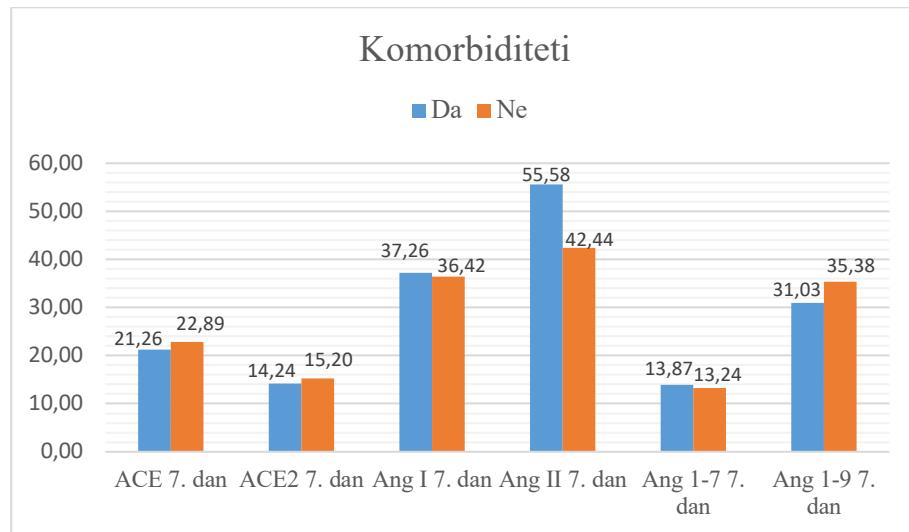
Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta urađenih prvog dana liječenja, zabilježene su statistički značajno manje vrijednosti Ang II u grupi ispitanika bez komorbiditeta ( $p= 0,015$ ). Za ostale posmatrane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 27).



**Slika 27.** Poređenje rezultata peptida RAAS dobijenih prvog dana između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta

#### 5.4.3.4. Poređenje analiza RAAS dobijenih 7. dana liječenja kod ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta

Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta urađenih sedmog dana liječenja, nisu potvrđene statistički značajne razlike za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 28).



**Slika 28.** Poređenje rezultata peptida RAAS dobijenih sedmog dana između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta

#### **5.4.4. POREĐENJE REZULTATA PEPTIDA RAAS IZMEĐU ISPITANIKA KOJI SU LIJEČENI HEMODIJALIZOM I KOJI NISU LIJEČENI HEMODIJALIZOM**

##### *5.4.4.1. Ispitanici koji su liječeni hemodijalizom (1. i 7. dan liječenja)*

Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS kod ispitanika koji su liječeni hemodijalizom urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđen je statistički značajano povećanje vrijednosti ACE sedmog dana ( $p= 0,012$ ). Za ostala mjerena nije zabilježena statistički značajna razlika (Tabela 41).

**Tabela 41:** Analize RAAS ispitanika na hemodializi (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
ACE (median, IQR) ng/mL	24,16 (11,56)	13,95 (7,77)	<b>0,012</b>
ACE2 (median, IQR) ng/mL	15,59 (5,29)	14,92 (3,20)	0,484
Ang I (median, IQR) pg/mL	39,82 (3,27)	37,93 (6,04)	0,069
Ang II (median, IQR) pg/mL	49,33 (97,40)	62,05 (54,32)	0,889
Ang 1-7 (median, IQR) pg/mL	16,94 (39,86)	12,19 (6,12)	0,401
Ang 1-9 (median, IQR) pg/mL	30,48 (7,34)	31,57 (4,22)	0,889

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; ACE- angiotenzin konvertujući enzim; ACE2- angiotenzin konvertujući enzim 2; Ang I- angiotenzin 1; Ang II- angiotenzin 2; Ang 1-7- angiotenzin 1-7; Ang 1-9- angiotenzin 1-9

##### *5.4.4.2. Ispitanici koji nisu liječeni hemodijalizom (1. i 7. dan liječenja)*

Poređenjem rezultata analiza peptida RAAS kod ispitanika koji nisu liječeni hemodijalizom urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajano smanjenje vrijednosti Ang I sedmog dana ( $p= 0,001$ ). Za ostala mjerena nije zabilježena statistički značajna razlika (Tabela 42).

**Tabela 42:** Analize RAAS ispitanika koji nisu dijализirani (1. i 7. dan)

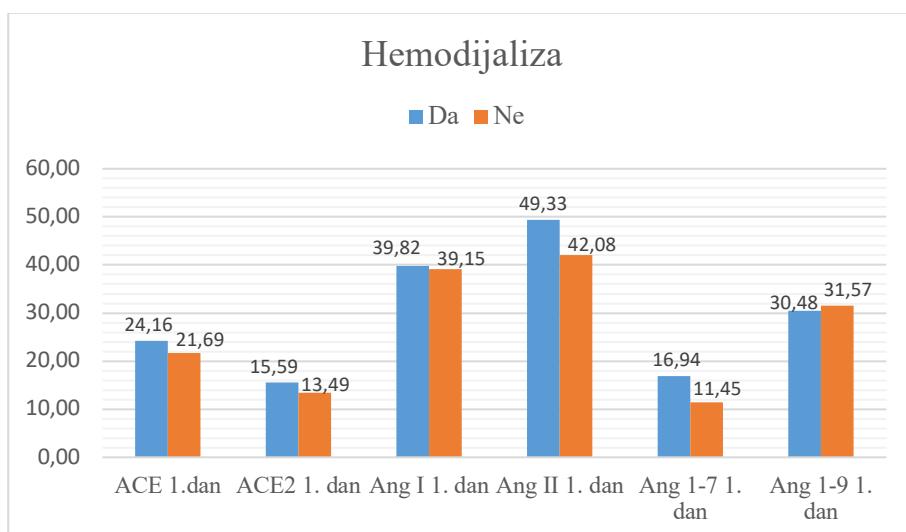
Parametar	1. dan	7. dan	p
ACE (median, IQR) ng/mL	21,69 (10,09)	22,22 (9,93)	0,752
ACE2 (median, IQR) ng/mL	13,49 (4,0)	14,43 (3,42)	0,070
Ang I (median, IQR) pg/mL	39,15 (5,83)	36,98 (5,34)	<b>0,001</b>
Ang II (median, IQR) pg/mL	42,08 (34,00)	52,29 (36,73)	0,264

Ang 1-7 (median, IQR) pg/mL	11,45 (9,07)	13,75 (8,78)	0,352
Ang 1-9 (median, IQR) pg/mL	31,57 (6,54)	31,03 (4,38)	0,569

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; ACE- angiotenzin konvertujući enzim; ACE2- angiotenzin konvertujući enzim 2; Ang I- angiotenzin 1; Ang II- angiotenzin 2; Ang 1-7- angiotenzin 1-7; Ang 1-9- angiotenzin 1-9

#### 5.4.4.3. Poređenje analiza RAAS dobijenih 1. dana liječenja kod ispitanika koji su lječeni hemodijalizom i koji nisu lječeni hemodijalizom

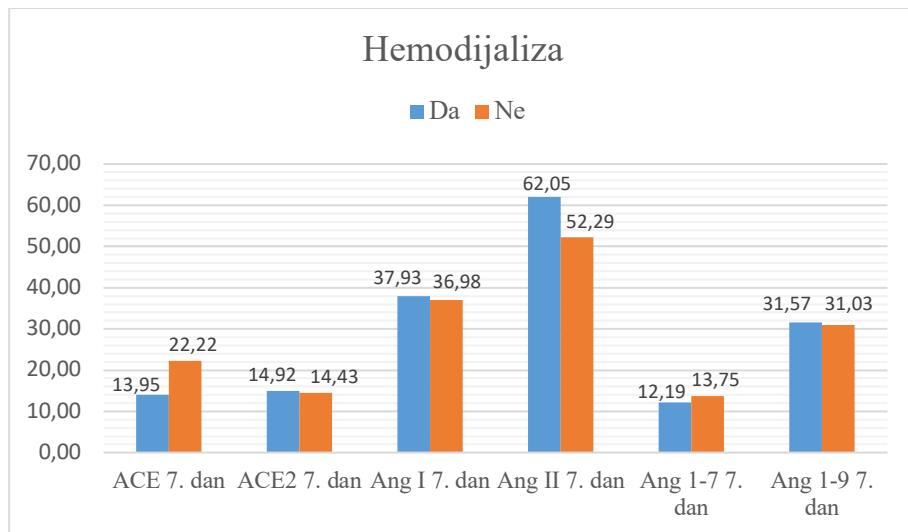
Poređenjem rezultata peptida RAAS dobijenih prvog dana liječenja u grupama ispitanika koji su lječeni hemodijalizom i koji nisu lječeni hemodijalizom nije zabilježena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Tabela 29).



**Slika 29.** Poređenje rezultata peptida RAAS dobijenih prvog dana između ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani

#### 5.4.4.4. Poređenje analiza RAAS dobijenih 7. dana liječenja kod ispitanika koji su lječeni hemodijalizom i koji nisu lječeni hemodijalizom

Poređenjem rezultata peptida RAAS dobijenih sedmog dana liječenja u grupama ispitanika koji su lječeni hemodijalizom i koji nisu lječeni hemodijalizom, potvrđene su statistički značajno veće vrijednosti za ACE kod ispitanika koji nisu dijalizirani ( $p=0,019$ ). Za ostale posmatrane parametre nije zabilježena statistički značajna razlika. Zbog lakšeg praćenja i poređenja, rezultati su predstavljeni grafički (Slika 30).



**Slika 30.** Poređenje rezultata peptida RAAS dobijenih sedmog dana između ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani

#### 5.4.5. POREĐENJE REZULTATA PEPTIDA RAAS IZMEĐU ISPITANIKA KOJI SU TREBALI VAZOPRESORNU POTPORU I KOJI NISU TREBALI VAZOPRESORNU POTPORU

##### 5.4.5.1. Ispitanici koji su trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata analize peptida RAAS urađenih prvog i sedmog dana liječenja kod ispitanika koji su zbog hipotenzije koristili vazopresore, potvrđeno je statistički značajno smanjenje vrijednosti za Ang I sedmog dana liječenja ( $p= 0,038$ ). Za ostala mjerena nije zabilježena statistički značajna razlika (Tabela 43).

**Tabela 43:** Analize RAAS ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
ACE (median, IQR) ng/mL	22,11 (10,72)	21,62 (8,30)	0,635
ACE2 (median, IQR) ng/mL	14,43 (4,90)	14,43 (3,04)	0,706
Ang I (median, IQR) pg/mL	39,45 (3,87)	36,98 (6,63)	<b>0,038</b>
Ang II (median, IQR) pg/mL	47,14 (51,20)	54,36 (30,16)	0,870
Ang 1-7 (median, IQR) pg/mL	14,07 (13,69)	13,99 (8,51)	0,670
Ang 1-9 (median, IQR) pg/mL	30,48 (6,82)	30,48 (7,12)	0,700

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; ACE- angiotenzin konvertujući enzim; ACE2- angiotenzin konvertujući enzim 2; Ang I- angiotenzin 1; Ang II- angiotenzin 2; Ang 1-7- angiotenzin 1-7; Ang 1-9- angiotenzin 1-9

#### *5.4.5.2. Ispitanici koji nisu trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan liječenja)*

Poređenjem rezultata analize peptida RAAS urađenih prvog i sedmog dana liječenja kod ispitanika koji nisu koristili vazopresore, potvrđeno je statistički značajno smanjenje vrijednosti za Ang I sedmog dana liječenja ( $p=0,001$ ). Sa druge strane, zabilježeno je statistički značajno povećanje vrijednosti ACE2 ( $p=0,025$ ). Za ostala mjerena nije zabilježena statistički značajna razlika (Tabela 44).

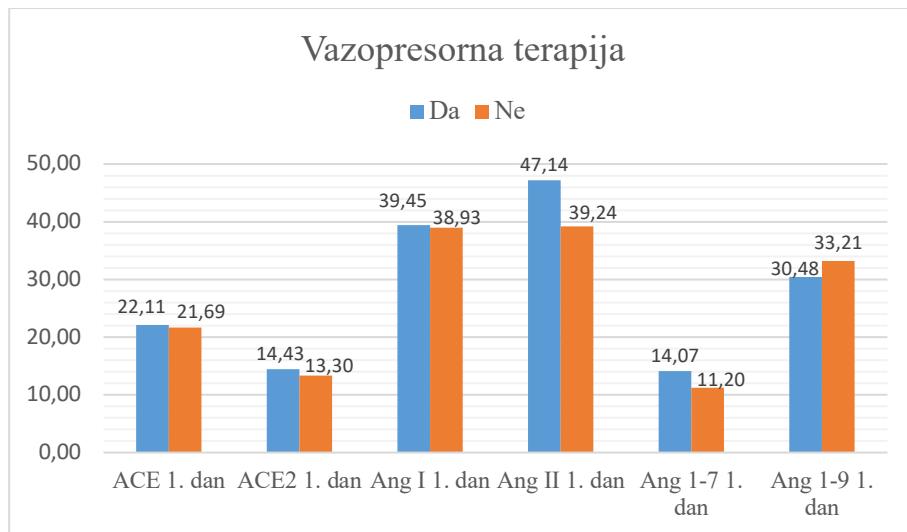
**Tabela 44:** Analize RAAS ispitanika koji nisu trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
ACE (median, IQR) ng/mL	21,69 (11,86)	20,10 (12,44)	0,293
ACE2 (median, IQR) ng/mL	13,30 (3,20)	14,52 (4,52)	<b>0,025</b>
Ang I (median, IQR) pg/mL	38,93 (6,39)	37,12 (4,21)	<b>0,001</b>
Ang II (median, IQR) pg/mL	39,24 (31,59)	51,01 (41,15)	0,149
Ang 1-7 (median, IQR) pg/mL	11,20 (7,01)	12,51 (8,54)	0,215
Ang 1-9 (median, IQR) pg/mL	33,21 (6,67)	31,84 (8,18)	0,574

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; ACE- angiotenzin konvertujući enzim; ACE2- angiotenzin konvertujući enzim 2; Ang I- angiotenzin 1; Ang II- angiotenzin 2; Ang 1-7- angiotenzin 1-7; Ang 1-9- angiotenzin 1-9

#### *5.4.5.3. Poređenje analiza RAAS dobijenih 1. dana liječenje između ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju i koji nisu trebali vazopresornu terapiju*

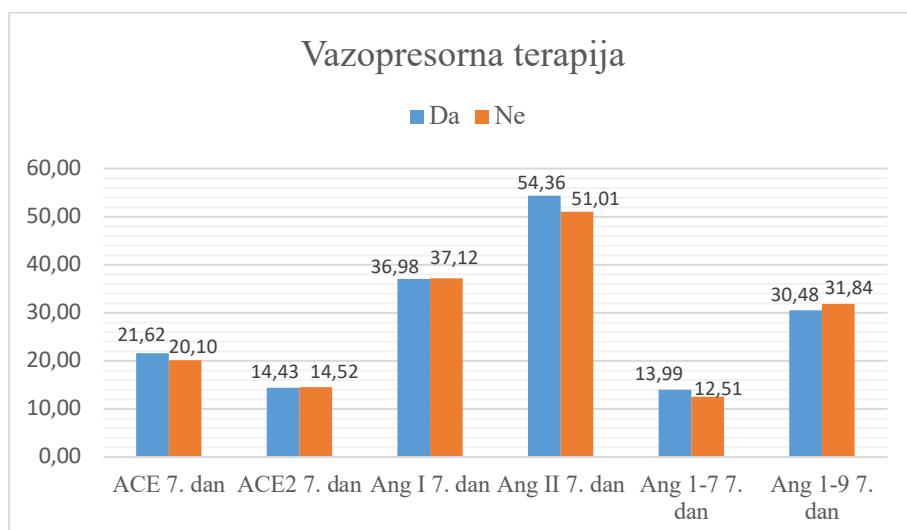
Poređenjem rezultata peptida RAAS dobijenih prvog dana liječenja u grupama ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju i koji nisu trebali vazopresornu terapiju nije zabilježena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 31).



**Slika 31.** Poređenje rezultata peptida RAAS dobijenih prvog dana liječenja između ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju i koji nisu trebali vazopresornu terapiju

#### 5.4.5.4. Poređenje analiza RAAS dobijenih 7. dana liječenje između ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju i koji nisu trebali vazopresornu terapiju

Poređenjem rezultata peptida RAAS dobijenih sedmog dana liječenja u grupama ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju i koji nisu trebali vazopresornu terapiju nije zabilježena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 32).



**Slika 32.** Poređenje rezultata peptida RAAS dobijenih sedmog dana liječenja između ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju i koji nisu trebali vazopresornu terapiju

## 5.5. REZULTATI ANALIZA ADHEZIONIH MOLEKULA

### 5.5.1. POREĐENJE REZULTATA ADHEZIONIH MOLEKULA IZMEĐU PREŽIVJELIH I UMRLIH PACIJENATA

#### 5.5.1.1. Adhezione molekule preživjelih ispitanika (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata adhezionih molekula kod preživjelih ispitanika urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno povećanje vrijednosti za ICAM-1 sedmog dana liječenja ( $p= 0,040$ ). S druge strane, za VCAM-1 se bilježi statistički značajno smanjenje ( $p= 0,002$ ) (Tabela 45).

**Tabela 45:** Adhezione molekule kod preživjelih ispitanika ( 1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
VCAM-1 (median, IQR) mcg/L	548,30 (187,9)	268,05 (422,45)	<b>0,002</b>
ICAM-1 (median, IQR) ng/mL	2223 (1)	2224 (1)	<b>0,040</b>

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; VCAM-1- vaskularni adhezionalni molekul 1; ICAM-1- intercelularni adhezionalni molekul 1; IQR- interquartile range

#### 5.5.1.2. Adhezione molekule umrlih ispitanika (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata adhezionih molekula kod umrlih ispitanika urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno povećanje vrijednosti za ICAM-1 sedmog dana liječenja ( $p= 0,007$ ). S druge strane, za VCAM-1 se bilježi statistički značajno smanjenje ( $p= 0,015$ ) (Tabela 46).

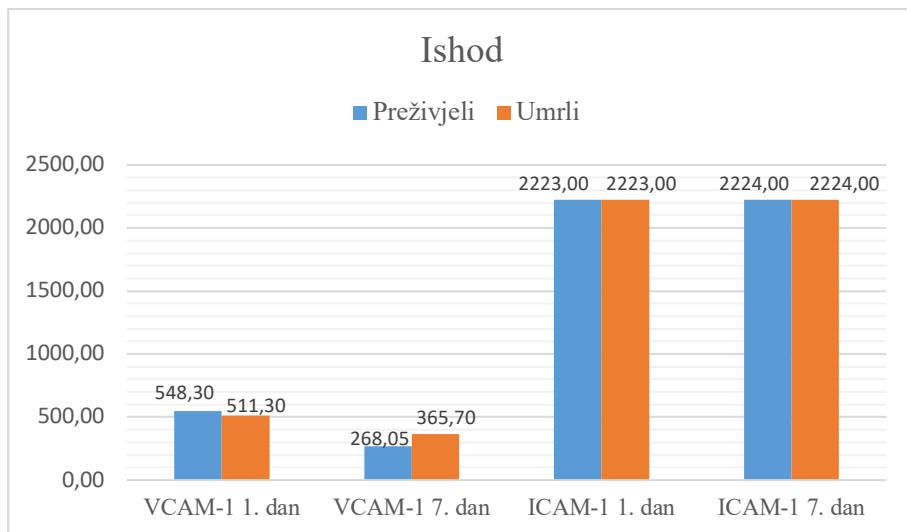
**Tabela 46:** Adhezione molekule kod umrlih ispitanika ( 1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
VCAM-1 (median, IQR) mcg/L	511,3 (115,23)	365,7 (357)	<b>0,015</b>
ICAM-1 (median, IQR) ng/mL	2223 (1)	2224 (0)	<b>0,007</b>

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; VCAM-1- vaskularni adhezionalni molekul 1; ICAM-1- intercelularni adhezionalni molekul 1; IQR- interquartile range

### 5.5.1.3. Uporedna analiza rezultata adhezionih molekula dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između preživjelih i umrlih ispitanika

Poređenjem rezultata analiza adhezionih molekula između preživjelih i umrlih ispitanika dobijenih prvog i sedmog dana liječenja nije zabilježena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 33).



**Slika 33.** Poređenje rezultata adhezionih molekula dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između preživjelih i umrlih ispitanika

## 5.5.2. POREĐENJE REZULTATA ADHEZIONIH MOLEKULA IZMEĐU INTUBIRANIH I NEINTUBIRANIH PACIJENATA

### 5.5.2.1. Adhezione molekule intubiranih ispitanika (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata adhezionih molekula kod intubiranih ispitanika urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno povećanje vrijednosti za ICAM-1 sedmog dana liječenja ( $p= 0,014$ ). S druge strane, za VCAM-1 se bilježi statistički značajno smanjenje ( $p= 0,009$ ) (Tabela 47).

**Tabela 47:** Adhezione molekule kod intubiranih ispitanika ( 1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
VCAM-1 (median, IQR) mcg/L	511,30 (187,07)	365,7 (378)	0,009

ICAM-1 (median, IQR) ng/mL	2223 (1)	2224 (0)	<b>0,014</b>
-------------------------------	----------	----------	--------------

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; VCAM-1- vaskularni adhezioni molekul 1; ICAM-1- intercelularni adhezioni molekul 1; IQR- interquartile range

#### 5.5.2.2. Adhezione molekule kod neintubiranih ispitanika (1. i 7. dan liječenja)

Poređenjem rezultata adhezionih molekula kod ispitanika koji nisu bili intubirani urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno povećanje vrijednosti za ICAM-1 sedmog dana liječenja ( $p= 0,042$ ). S druge strane, za VCAM-1 se bilježi statistički značajno smanjenje ( $p= 0,003$ ) (Tabela 48).

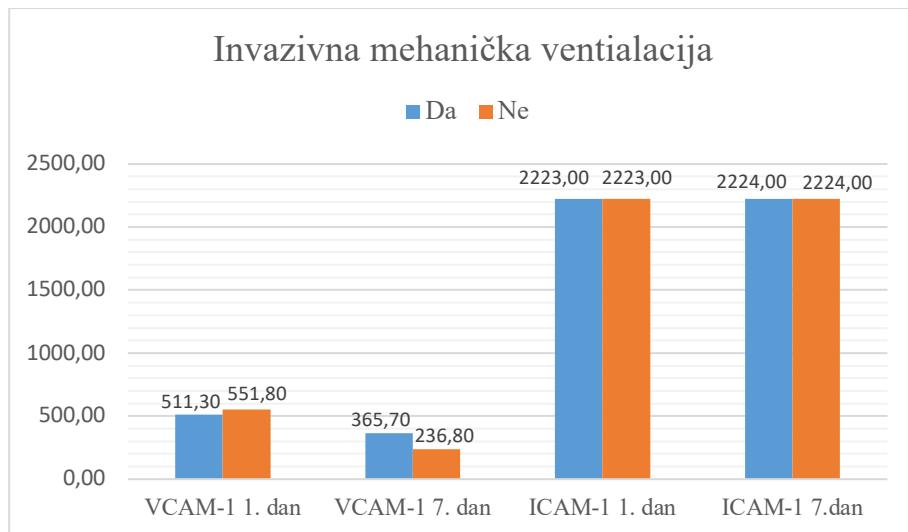
**Tabela 48:** Adhezione molekule kod neintubiranih ispitanika ( 1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
VCAM-1 (median, IQR) mcg/L	551,80 (130,48)	236,80 (420,70)	<b>0,003</b>
ICAM-1 (median, IQR) ng/mL	2223 (1)	2224 (1)	<b>0,042</b>

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; VCAM-1- vaskularni adhezioni molekul 1; ICAM-1- intercelularni adhezioni molekul 1; IQR- interquartile range

#### 5.5.2.3. Uporedna analiza rezultata adhezionih molekula dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između intubiranih i neintubiranih pacijenata

Poređenjem rezultata analiza adhezionih molekula između ispitanika koji su bili intubirani i koji nisu bili intubirani dobijenih prvog i sedmog dana liječenja nije zabilježena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 34).



**Slika 34.** Poređenje rezultata adhezionih molekula dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između ispitanika koji su bili intubirani i koji nisu bili intubirani

### 5.5.3. POREĐENJE REZULTATA ADHEZIONIH MOLEKULA ISPITANIKA SA I BEZ KOMORBIDITETA

#### 5.5.3.1. Adhezione molekule kod ispitanika sa komorbiditetima (1. i 7. dan)

Poređenjem rezultata adhezionih molekula kod ispitanika sa komorbiditetima urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno povećanje vrijednosti za ICAM-1 sedmog dana liječenja ( $p= 0,005$ ). S druge strane, za VCAM-1 se bilježi statistički značajno smanjenje ( $p= 0,001$ ) (Tabela 49).

**Tabela 49:** Adhezione molekule kod pacijenata sa komorbiditetima (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
VCAM-1 (median, IQR) mcg/L	527,25 (160,57)	372,50 (408,20)	<b>0,001</b>
ICAM-1 (median, IQR) ng/mL	2223 (1)	2224 (1)	<b>0,005</b>

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; VCAM-1- vaskularni adhezionalni molekul 1; ICAM-1- intercelularni adhezionalni molekul 1; IQR- interquartile range

#### 5.5.3.2. Adhezione molekule kod ispitanika bez komorbiditeta (1. i 7. dan)

Poređenjem rezultata adhezionih molekula kod ispitanika bez komorbiditeta urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno smanjenje vrijednosti za VCAM-1 ( $p= 0,031$ ) (Tabela 50).

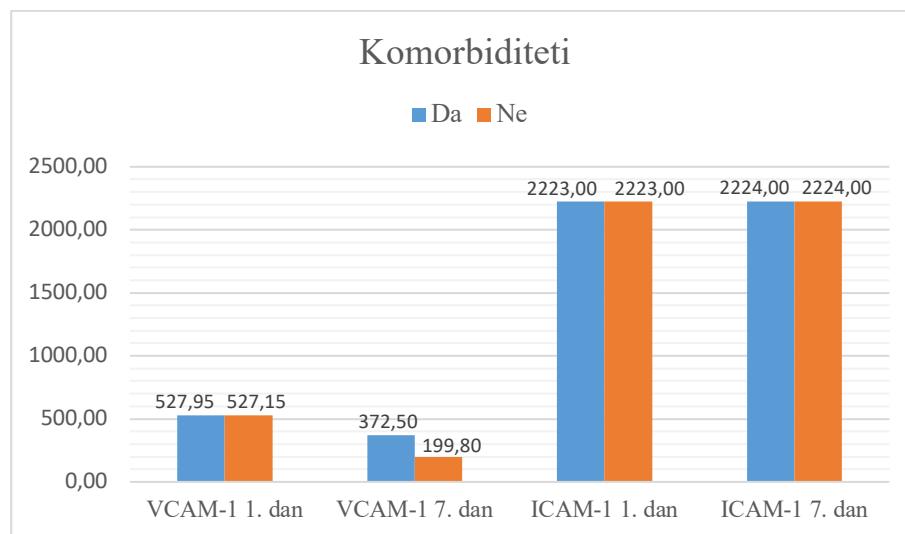
**Tabela 50:** Adhezije molekula kod pacijenata bez komorbiditeta (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
VCAM-1 (median, IQR) meg/L	527,15 (125,48)	199,80 (409,25)	<b>0,031</b>
ICAM-1 (median, IQR) ng/mL	2223 (1)	2224 (0,50)	0,238

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; VCAM-1- vaskularni adhezionni molekul 1; ICAM-1- intercelularni adhezionni molekul 1; IQR- interquartile range

#### 5.5.3.3. Uporedna analiza rezultata adhezionih molekula dobijenih prvog i sedmog dana liječenja kod ispitanika sa i bez komorbiditeta

Poređenjem rezultata analiza adhezionih molekula između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta dobijenih prvog i sedmog dana liječenja nije zabilježena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 35).



**Slika 35.** Poređenje rezultata adhezionih molekula dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta

### **5.3.4. POREĐENJE REZULTATA ADHEZIONIH MOLEKULA ISPITANIKA KOJI SU LIJEČENI HEMODIJALIZOM I KOJI NISU LIJEČENI HEMODIJALIZOM**

#### *5.3.4.1. Adhezione molekule kod ispitanika koji su liječeni hemodijalizom (1. i 7. dan)*

Poređenjem rezultata adhezionih molekula kod ispitanika koji su dijalizirani urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno smanjenje vrijednosti za VCAM-1 ( $p = 0,001$ ) (Tabela 51).

**Tabela 51:** Adhezione molekule ispitanika na hemodijalizi (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
VCAM-1 (median, IQR) mcg/L	529,65 (92,05)	350,35 (363,85)	<b>0,036</b>
ICAM-1 (median, IQR) ng/mL	2223 (1)	2224 (0)	0,096

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; VCAM-1- vaskularni adhezionalni molekul 1; ICAM-1- intercelularni adhezionalni molekul 1; IQR- interquartile range

#### *5.3.4.2. Adhezione molekule kod ispitanika koji nisu liječeni hemodijalizom (1. i 7. dan)*

Poređenjem rezultata adhezionih molekula kod ispitanika koji nisu dijalizirani urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno povećanje vrijednosti za ICAM-1 sedmog dana liječenja ( $p = 0,007$ ). S druge strane, za VCAM-1 se bilježi statistički značajno smanjenje ( $p = 0,001$ ) (Tabela 52).

**Tabela 52:** Adhezione molekule ispitanika bez hemodijalize (1. i 7. dan)

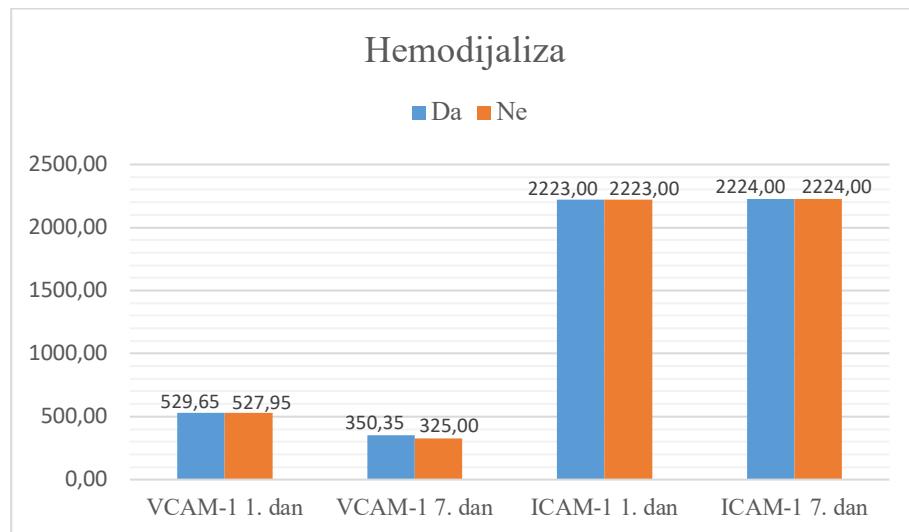
Parametar	1. dan	7. dan	p
VCAM-1 (median, IQR) mcg/L	527,95 (182,52)	325 (416,90)	<b>0,001</b>
ICAM-1 (median, IQR) ng/mL	2223 (1)	2224 (1)	<b>0,007</b>

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; VCAM-1- vaskularni adhezionalni molekul 1; ICAM-1- intercelularni adhezionalni molekul 1; IQR- interquartile range

#### *5.3.4.3. Uporedna analiza rezultata adhezionih molekula dobijenih prvog i sedmog. dana liječenja između ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani*

Poređenjem rezultata analiza adhezionih molekula između ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu bili dijalizirani dobijenih prvog i sedmog dana liječenja nije zabilježena statistički

značajna razlika za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 36).



**Slika 36.** Poređenje rezultata adhezionih molekula dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani

### 5.3.5. POREĐENJE REZULTATA ADHEZIONIH MOLEKULA ISPITANIKA KOJI SU TREBALI VAZOPRESORNU POTPORU I KOJI NISU TREBALI VAZOPRESORNU POTPORU

#### 5.3.5.1. Adhezione molekule ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan)

Poređenjem rezultata adhezionih molekula kod ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno povećanje vrijednosti za ICAM-1 sedmog dana liječenja ( $p=0,021$ ). S druge strane, za VCAM-1 se bilježi statistički značajno smanjenje ( $p=0,019$ ) (Tabela 53).

**Tabela 53:** Adhezione molekule ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
VCAM-1 (median, IQR) mcg/L	511,30 (123,42)	379,30 (393,40)	<b>0,019</b>
ICAM-1 (median, IQR) ng/mL	2223 (1)	2224 (0)	<b>0,021</b>

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; VCAM-1- vaskularni adhezioni molekul 1; ICAM-1- intercelularni adhezioni molekul 1; IQR- interquartile range

### 5.3.5.2. Adhezione molekule ispitanika koji nisu trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan)

Poređenjem rezultata adhezionih molekula kod ispitanika koji nisu trebali vazopresornu terapiju urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno povećanje vrijednosti za ICAM-1 sedmog dana liječenja ( $p= 0,033$ ). S druge strane, za VCAM-1 se bilježi statistički značajno smanjenje ( $p= 0,001$ ) (Tabela 54).

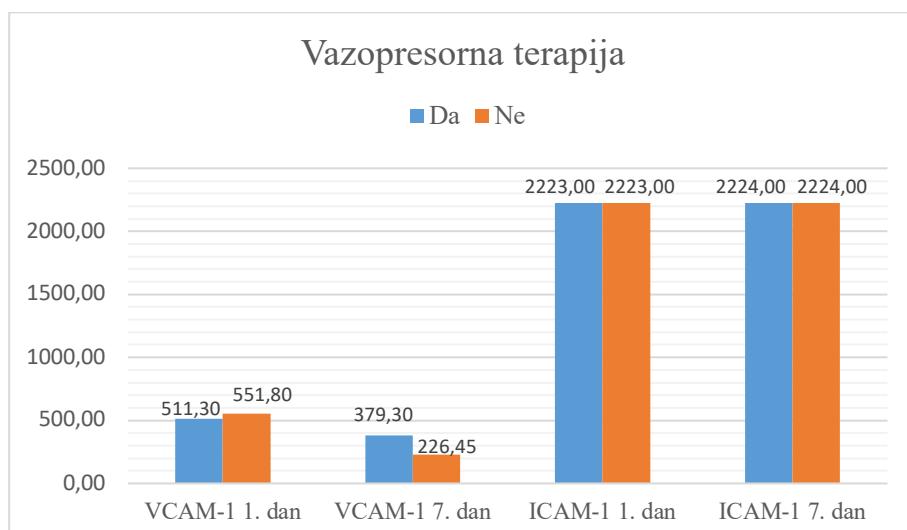
**Tabela 54:** Adhezione molekule ispitanika koji nisu trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
VCAM-1 (median, IQR) mcg/L	551,80 (156,58)	226,45 (424,03)	<b>0,001</b>
ICAM-1 (median, IQR) ng/mL	2223 (1)	2224 (1)	<b>0,033</b>

Skraćenice: IQR- interkvartilni raspon; VCAM-1- vaskularni adhezionalni molekul 1; ICAM-1- intercelularni adhezionalni molekul 1; IQR- interquartile range

### 5.3.5.3. Uporedna analiza rezultata adhezionih molekula dobijenih prvog i sedmog dana liječenja ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju i koji nisu trebali vazopresornu terapiju

Poređenjem rezultata analiza adhezionih molekula između ispitanika koji su trebali vazopresorne lijekove i koji nisu trebali vazopresorne lijekove dobijenih prvog i sedmog dana liječenja nije zabilježena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 37).



**Slika 37.** Poređenje rezultata adhezionih molekula dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između ispitanika koji su primali i onih koji nisu primali vazopresornu terapiju

## **5.6 REZULTATI ANALIZA LEPTINA I ADIPONEKTINA**

### **5.6.1. POREĐENJE REZULTATA ANALIZA LEPTINA I ADIPONEKTINA IZMEĐU PREŽIVJELIH I UMRLIH ISPITANIKA**

#### *5.6.1.1. Leptin i adiponektin kod preživjelih ispitanika (1. i 7. dan)*

Poređenjem rezultata leptina i adiponektina preživjelih ispitanika urađenih prvog i sedmog dana liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 55).

**Tabela 55:** Leptin i adiponektin preživjelih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
Leptin (median, IQR) ng/mL	13,74 (16,62)	8,39 (12,06)	0,315
Adiponektin (median, IQR) mcg/mL	7,35 (4,62)	8,33 (5,20)	0,288

#### *5.6.1.2. Leptin i adiponektin kod umrlih ispitanika (1. i 7. dan)*

Poređenjem rezultata leptina i adiponektina umrlih ispitanika urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno smanjenje vrijednosti za adiponektin sedmog dana liječenja ( $p= 0,000$ ) (Tabela 56).

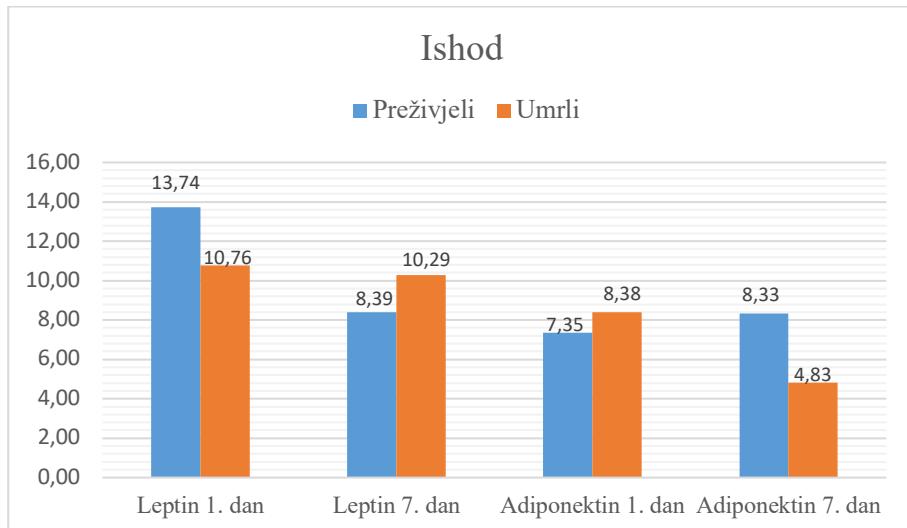
**Tabela 56:** Leptin i adiponektin umrlih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
Leptin (median, IQR) ng/mL	10,76 (11,66)	10,29 (13,95)	0,830
Adiponektin (median, IQR) mcg/mL	8,38 (4,59)	4,83 (3,69)	<b>0,000</b>

#### *5.6.1.3. Uporedna analiza rezultata leptina i adiponektina dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između preživjelih i umrlih ispitanika*

Poređenjem rezultata analiza leptina i adiponektina između preživjelih i umrlih ispitanika dobijenih prvog dana liječenja, nije zabilježena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Međutim, poredeći iste analize sedmog dana liječenja, potvrđene su

statistički značajne niže vrijednosti adiponektina kod umrlih ( $p= 0,000$ ). Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 38).



**Slika 38.** Poređenje rezultata leptina i adiponektina dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između preživjelih i umrlih ispitanika

## 5.6.2. POREĐENJE REZULTATA ANALIZA LEPTINA I ADIPONEKTINA IZMEĐU INTUBIRANIH I NEINTUBIRANIH ISPITANIKA

### 5.6.2.1. Leptin i adiponektin kod intubiranih ispitanika (1. i 7. dan)

Poređenjem rezultata leptina i adiponektina ispitanika koji su bili intubirani urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno smanjenje vrijednosti za adiponektin sedmog dana liječenja ( $p= 0,000$ ) (Tabela 57).

**Tabela 57:** Leptin i adiponektin intubiranih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
Leptin (median, IQR) ng/mL	11,25 (10,34)	8,38 (10,57)	0,483
Adiponektin (median, IQR) mcg/mL	8,07 (4,95)	4,91 (3,83)	<b>0,000</b>

### 5.6.2.2. Leptin i adiponektin kod neintubiranih ispitanika (1. i 7. dan)

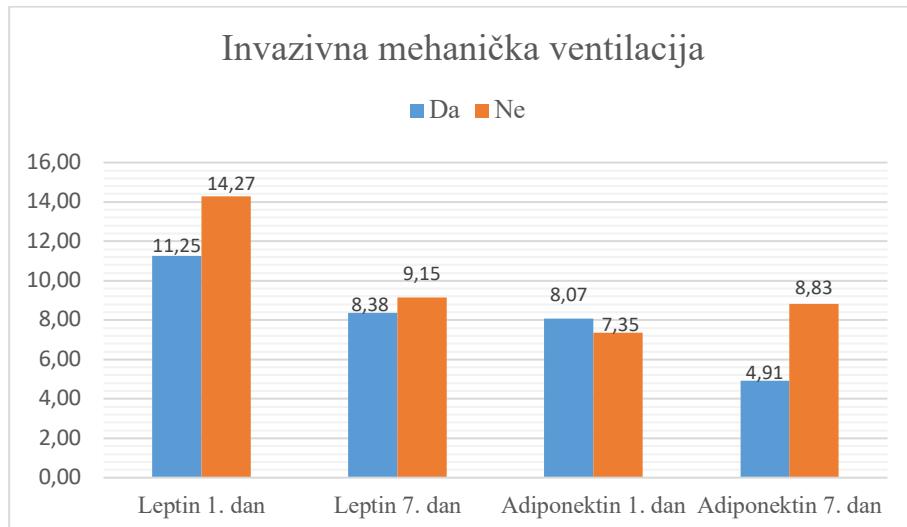
Poređenjem rezultata leptina i adiponektina ispitanika koji nisu bili intubirani urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno povećanje vrijednosti za adiponektin sedmog dana liječenja ( $p= 0,044$ ) (Tabela 58).

**Tabela 58:** Leptin i adiponektin neintubiranih ispitanika (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
Leptin (median, IQR) ng/mL	14,27 (18,85)	9,15 (13,94)	0,493
Adiponektin (median, IQR) mcg/mL	7,35 (4,58)	8,83 (6,04)	<b>0,044</b>

#### 5.6.2.3. Uporedna analiza rezultata analiza leptina i adiponektina dobijenih prvog i sedmog dana između intubiranih i neintubiranih ispitanika

Poređenjem rezultata za leptin i adiponektin između intubiranih i neintubiranih ispitanika dobijenih prvog dana liječenja, nije zabilježena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Međutim, poredeći iste analize sedmog dana liječenja, potvrđene su statistički značajne veće vrijednosti adiponektina kod ispitanika koji nisu bili intubirani ( $p=0,000$ ). Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 39).



**Slika 39.** Poređenje rezultata leptina i adiponektina dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između ispitanika koji su bili intubirani i koji nisu bili intubirani

### **5.6.3. POREĐENJE REZULTATA ANALIZA LEPTINA I ADIPONEKTINA ISPITANIKA SA I BEZ KOMORBIDITETA**

#### *5.6.3.1. Leptin i adiponektin ispitanika sa komorbiditetima (1. i 7. dan)*

Poređenjem rezultata leptina i adiponektina ispitanika sa komorbiditetima urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno smanjenje vrijednosti za adiponektin sedmog dana liječenja ( $p= 0,006$ ) (Tabela 59).

**Tabela 59:** Leptin i adiponektin ispitanika sa komorbiditetima (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
Leptin (median, IQR) ng/mL	14,27 (14,18)	8,41 (10,90)	0,161
Adiponektin (median, IQR) mcg/mL	7,67 (4,85)	6,35 (5,06)	<b>0,006</b>

#### *5.6.3.2. Leptin i adiponektin ispitanika bez komorbiditeta (1. i 7. dan)*

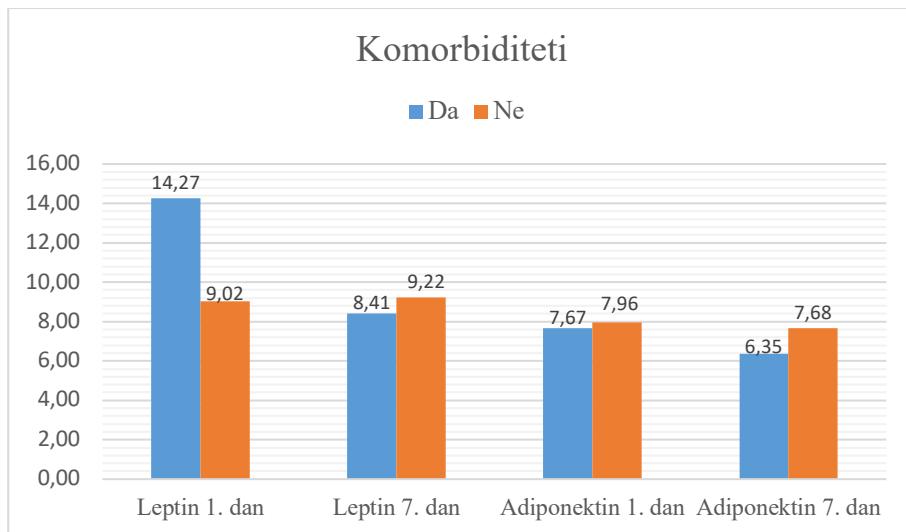
Poređenjem rezultata leptina i adiponektina ispitanika bez komorbiditeta urađenih prvog i sedmog dana liječenja, nije nađena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 60).

**Tabela 60:** Leptin i adiponektin ispitanika bez komorbiditeta (1. dan i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
Leptin (median, IQR) ng/mL	9,02 (11,95)	9,22 (20,84)	0,605
Adiponektin (median, IQR) mcg/mL	7,96 (4,09)	7,68 (4,71)	0,796

#### *5.6.3.3. Uporedna analiza rezultata leptina i adiponektina dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta*

Poređenjem rezultata za leptin i adiponektin između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta dobijenih prvog i sedmog dana liječenja, nije zabilježena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 40).



**Slika 40.** Poređenje rezultata leptina i adiponektina dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između ispitanika koji imaju komorbiditete i koji su bez komorbiditeta

#### **5.6.4. POREĐENJE REZULTATA ANALIZA LEPTINA I ADIPONEKTINA ISPITANIKA KOJI SU LIJEČENI HEMODIJALIZOM I KOJI NISU LIJEČENI HEMODIJALIZOM**

##### *5.6.4.1. Leptin i adiponektin ispitanika koji su liječeni hemodializom (1. i 7. dan)*

Poređenjem rezultata leptina i adiponektina ispitanika koji su dijalizirani urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno smanjenje vrijednosti leptina sedmog dana liječenja ( $p=0,025$ ) (Tabela 61).

**Tabela 61:** Leptin i adiponektin ispitanika na hemodializi (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
Leptin (median, IQR) ng/mL	12,49 (24,41)	4,14 (7,76)	<b>0,025</b>
Adiponektin (median, IQR) mcg/mL	6,48 (10,08)	5,48 (3,93)	0,263

##### *5.6.4.2. Leptin i adiponektin ispitanika koji nisu liječeni hemodializom (1. i 7. dan)*

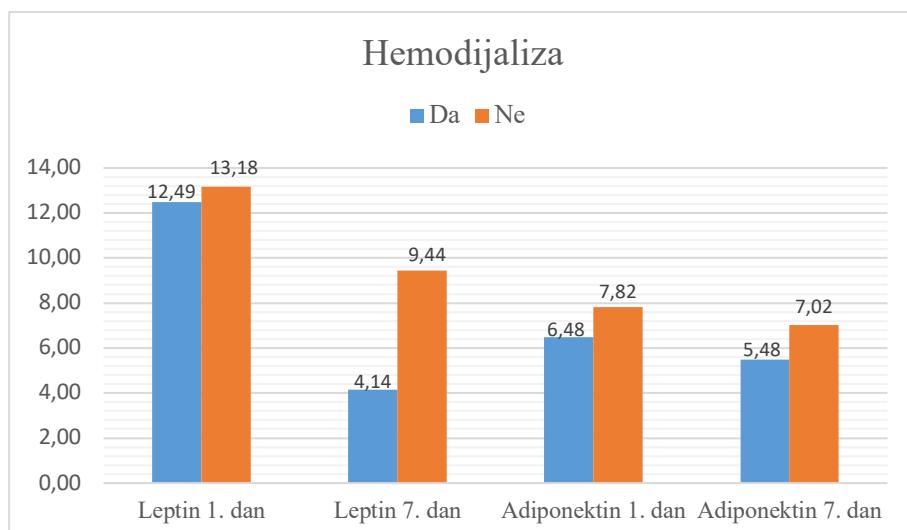
Poređenjem rezultata leptina i adiponektina ispitanika koji nisu dijalizirani urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno smanjenje vrijednosti adiponektina sedmog dana liječenja ( $p=0,035$ ) (Tabela 62).

**Tabela 62:** Leptin i adiponektin ispitanika bez hemodialize (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
Leptin (median, IQR) ng/mL	13,18 (13,03)	9,44 (13,29)	0,829
Adiponektin (median, IQR) mcg/mL	7,82 (4,26)	7,02 (4,86)	<b>0,035</b>

*5.6.4.3. Uporedna analiza rezultata leptina i adiponektina dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između ispitanika koji su liječeni hemodializom i koji nisu liječeni hemodializom*

Poređenjem rezultata za leptin i adiponektin između ispitanika sa komorbiditetima i bez komorbiditeta dobijenih prvog dana liječenja, nije zabilježena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Međutim, poređenjem vrijednosti leptina sedmog dana liječenja ove dvije grupe pacijenata, statistički značajno veće vrijednosti leptina je potvrđen kod onih koji nisu dijalizirani ( $p= 0,007$ ). Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 41).



**Slika 41.** Poređenje rezultata leptina i adiponektina dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između ispitanika koji su dijalizirani i koji nisu dijalizirani

## **5.6.5. POREĐENJE REZULTATA ANALIZA LEPTINA I ADIPONEKTINA ISPITANIKA KOJI SU TREBALI VAZOPRESORNU POTPORU I KOJI NISU TREBALI VAZOPRESORNU POTPORU**

### *5.6.5.1. Leptin i adiponektin ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan)*

Poređenjem rezultata leptina i adiponektina ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno smanjenje vrijednosti adiponektina sedmog dana liječenja ( $p= 0,000$ ) (Tabela 63).

**Tabela 63:** Leptin i adiponektin ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
Leptin (median, IQR) ng/mL	11,43 (10,95)	8,38 (11,11)	0,405
Adiponektin (median, IQR) mcg/mL	8,22 (4,61)	5,29 (4,25)	<b>0,000</b>

### *5.6.5.2. Leptin i adiponektin ispitanika koji nisu trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan)*

Poređenjem rezultata leptina i adiponektina ispitanika koji nisu trebali vazopresornu terapiju urađenih prvog i sedmog dana liječenja, potvrđeno je statistički značajno povećanje vrijednosti adiponektina sedmog dana liječenja ( $p= 0,021$ ) (Tabela 64).

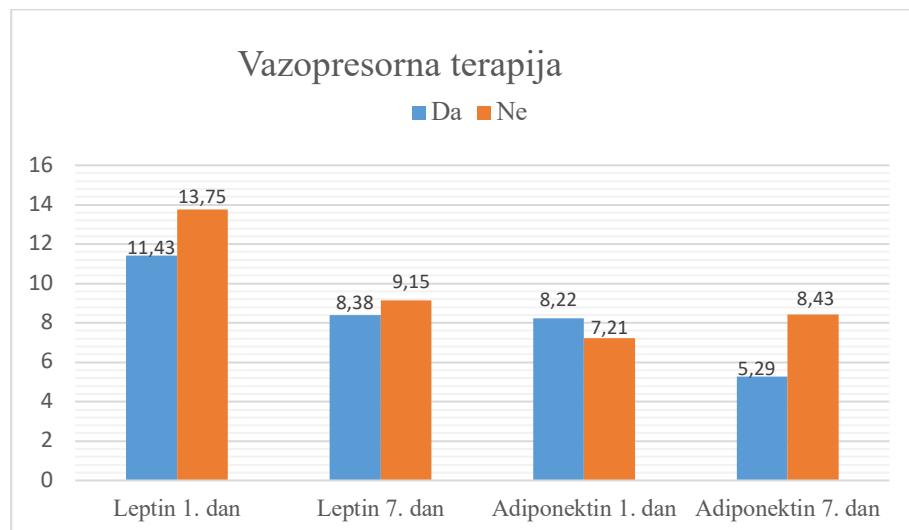
**Tabela 64:** Leptin i adiponektin ispitanika koji nisu trebali vazopresornu terapiju (1. i 7. dan)

Parametar	1. dan	7. dan	p
Leptin (median, IQR) ng/mL	13,75 (17,77)	9,15 (13,60)	0,624
Adiponektin (median, IQR) mcg/mL	7,21 (3,93)	8,43 (6,14)	<b>0,021</b>

### *5.6.5.3. Uporedna analiza rezultata leptina i adiponektina dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju i koji nisu trebali vazopresornu terapiju*

Poređenjem rezultata za leptin i adiponektin između ispitanika koji su trebali vazopresornu terapiju i koji nisu trebali vazopresornu terapiju dobijenih prvog dana liječenja,

nije zabilježena statistički značajna razlika za posmatrane parametre. Međutim, poređenjem vrijednosti adiponektina sedmog dana liječenja ove dvije grupe pacijenata, zabilježene su statistički značajno veće vrijednosti adiponektina kod onih koji nisu trebali vazopresornu terapiju (nisu bili hipotenzivni) ( $p= 0,000$ ). Zbog lakšeg pregleda i komparacije dobijeni rezultati su predstavljeni grafički (Slika 42).



**Slika 42.** Poređenje rezultata leptina i adiponektina dobijenih prvog i sedmog dana liječenja između ispitanika koji su između ispitanika koji su primali i onih koji nisu primali vazopresornu terapiju

## **6 DISKUSIJA**

### **6.1. DEMOGRAFSKE I KLINIČKE KARAKTERISTIKE ISPITANIKA**

Sprovedeno istraživanje je pokazalo da su se teške kliničke slike kovida sa pneumonijom i potrebom za liječenjem u Klinici intenzivne medicine za nehirurške grane (KIM) pretežnojavljale kod srednjovječnih muškaraca (prosječna starost ispitanika je bila  $56,13 \pm 9,45$  godina, od čega su 72% ispitanika bili muškarci), što se slaže sa podacima iz literature [119-120]. Potencijalno objašnjenje za ovakav rezultat je činjenica da je ova dobna skupina najmobilnija, radno sposobna i sa brojnim socijalnim kontaktima, uz moguće slabije pridržavanje preporučenih protivepidemijskih mjera. Među ispitanicima je zabilježena visoka prevalencija gojaznosti (45,30%), mada se iz istraživanja ne vidi direktna povezanost sa mortalitetom. Dobro je poznato da je gojaznost povezana sa hroničnim proinflamatornim stanjem, oksidativnim stresom i izmjenjenim imunim odgovorom, što sve zajedno pridonosi češćem obolijevanju gojaznih osoba. Sistematski pregled i metanaliza Qadira i saradnika su pokazali prevalenciju gojaznosti kod pacijenata liječenih u JIL od 37%, što implicira da je gojaznost važan faktor rizika za prijem bolesnika u JIL [121]. Udio aktivnih pušača među ispitanicima je bio 10,70%, iako se prema radu Tsigarisa i saradnika Bosna i Hercegovina ubraja u top 5 zemalja Evrope po broju pušača koji su oboljeli od kovida (na trećem mjestu, sa prevalencijom od 38,90%) [122]. Suprotno istom izvoru, čiji su rezultati ukazali na "pušački paradoks", velika metaanaliza Patanavanika i saradnika koja je obuhvatila 22939 pacijenata je pokazala da je pušenje nezavisni faktor rizika za progresiju kovida i za smrtni ishod [123]. U aktuelnom istraživanju je bio veći procent pušača u grupi umrlih (17,20% vs. 6,50%), što bi se moglo dovesti u vezu sa tim. Skoro ¾ ispitanika (72%) je imala neki komorbiditet, češće u skupini umrlih (82,76%), što implicira da je hronična bolest faktor rizika za obolijevanje od kovida i prijem u , međutim nije nađena direktna korelacija sa mortalitetom. U aktuelnom istraživanju su najučestaliji komorbiditeti bili hipertenzija (48% ispitanika; 51,72% u grupi umrlih), dijabetes (16% ispitanika; 20,69% u grupi umrlih), kardiomiopatije (6,70% ispitanika; 6,90% u grupi umrlih), hronična opstruktivna bolest pluća (6,70% ispitanika; 3,45% u grupi umrlih), aritmije (5,30%; 10,34% u grupi umrlih), reumatološke bolesti (6,70% ispitanika; 10,34% u grupi umrlih) ili neka druga bolest (6,70% ispitanika; 6,90% u grupi umrlih). U metaanalizama urađenim na ovu temu, najčešći komorbiditeti među kritično oboljelim pacijentima su takođe bili hipertenzija i dijabetes [124,125]. Prosječno vrijeme od pojave bolesti do hospitalizacije ( $6,64 \pm 3,65$  dana; u grupi umrlih  $7,10 \pm 3,30$  dana) i prosječno

vrijeme od pojave bolesti do prijema u KIM ( $9,65 \pm 4,13$  dana) je bilo slično ili duže u odnosu na druga istraživanja. U NOSO-COR studiji koja je obuhvatila 827 pacijenta liječena u 13 Francuskih bolnica je pokazano da je vrijeme proteklo od pojave bolesti do prijema u bolnicu povezano sa prognozom bolesti[126]. Najčešći simptomi ispitanika su bili povišena temperatura, gušenje, suh kašalj, gubitak apetita, malaksalost i slabost, bolovi u mišićima, povraćanje i dijareja, gubitak čula mirisa, što se generalno slaže sa opisanim simptomima bolesti [127]. Više od polovina ispitanika je premještena u KIM iz nekog od bolničkih odjeljenja (57,30%), obično zbog pogoršanja opšteg stanja i respiratornog statusa, međutim ovo nije imalo uticaj na mortalitet. Među skorovima koji su izračunati nakon prva 24h liječenja za prilično homogene grupe ispitanika, nijedan se nije pokazao superioran u smislu predikcije ishoda liječenja ili težine bolesti, mada je APACHE II skor najbolje korelirao sa težinom bolesti (9,50 (6) vs. 12 (5)). Studija iz Wuhana je pokazala statistički značajne razlike kod preživjelih i umrlih pacijenata za APACHE II (13 vs. 15,  $p=0,006$ ) i SOFA skor (5 vs. 6,  $p=0,02$ ), dok je studija urađena u Iranu kod 204 pacijenta liječena u JIL pokazala superiornost SOFA skora u odnosu na APACHE II [128]. Analiza Charlsonovog indeksa komorbiditeta nije pokazala senzitivnost u predikciji ishoda bolesti. U aktuelnom istraživanju, od ukupno 75 ispitanika koliko je učestvovalo u istraživanju, nakon 28 dana liječenja je umrlo 46, a preživjelo 29 ispitanika (mortalitet je bio 61,30%). Generalno, u literaturi stopa mortaliteta kod oboljelih od kovida značajno varira, što može biti odraz razlika u zdravstvenim sistemima, demografskoj strukturi, socioekonomskom statusu i administrativnim razlikama (npr. prijavljivanje kovida kao uzročnika smrti). Multicentrična studija koja je rađena u intenzivnoj njezi u Meksiku kod 164 pacijenta sa teškim formama bolesti je pokazala 30-dnevni mortalitet od 51,80% [129], multicentrična studija rađena u Wuhanu sa 239 kritično oboljela pacijenta je pokazala 60-dnevni mortalitet od 61,50% [130], multicentrična studija rađena intenzivnoj njezi u Holandiji (prvi i drugi val) je pokazala mortalitet od 26,90% i 32,00% [131]. U literaturi, dužina liječenja u intenzivnim njegama takođe značajno varira: od 12 dana u Meksiku (slično kao u ovom istraživanju) do 17,50 dana u intenzivnim njegama u Holandiji (naprijed navedene studije). Aktuelno su umrli pacijenti imali dužu hospitalizaciju u odnosu na preživjele pacijente ( $p=0,006$ ), što se može objasniti potrebom za produženim liječenjem zbog težine zdravstvenog stanja umrlih ispitanika. Dobro je poznato da produžena hospitalizacija u JIL povećava rizik od intrahospitalnih infekcija, plućne tromboembolije, duboke venske tromboze, sepse, pneumonije i malnutricije, što može uticati na krajnji ishod liječenja. Budući da je respiratorna insuficijencija sa hipoksemijom bila dominantna klinička prezentacija bolesti, svi ispitanici u

studiji su trebali liječenje sa visokoprotočnim kiseonikom/neinvazivnom mehaničkom ventilacijom ili invazivnom mehaničkom ventilacijom, što je korišteno u skoro podjednakom omjeru (49,30% vs. 50,70%). Slično ostalim studijama, odlaganje intubacije je povezano sa mortalitetom ( $p= 0,043$ ). Od 38 pacijenata koji su bili intubirani i kontrolisano mehanički ventilirani, njih 29 je umrlo (76,31%). Ovo se može dovesti u vezu sa činjenicama da su pacijenti koji su bili intubirani i liječeni kontrolisanom mehaničkom ventilacijom imali težu kliničku sliku i da su često trebali multiorgansku podršku. Terapiju visokoprotočnim kiseonikom/neinvazivnu mehaničku ventilaciju je trebalo 37 ispitanika (49,3%), a svi ispitanici iz grupe preživjelih su liječeni ovom vrstom respiratorne potpore. Rezultati velikog istraživanja sprovedenom u 37 država sa 69093 pacijenta liječenih u JIL su pokazali kako je 58% bolesnika trebalo mehaničku ventilaciju (od čega je 25,50% bolesnika trebalo neinvazivnu mehaničku ventilaciju), da je prosječno trajanje liječenja bilo 9 dana i prosječna dužina trajanja mehaničke ventilacije 8,40 dana [132]. Gledajući prosječno trajanje invazivne i neinvazivne mehaničke ventilacije, evidentno je da je prosječna dužina liječenja sa invazivnom MV bila duža u odnosu na neinvazivnu ventilaciju/terapiju visokoprotočnim kiseonikom ( $12,43 \pm 5,97$  vs. 6 (4,50)), što je nešto duže kada se posmatra naprijed spomenuto istraživanje. Neinvazivna mehanička ventilacija se koristila vremenski duže u grupi preživjelih ispitanika ( $p= 0,002$ ). Zbog potrebe za produženom mehaničkom ventilacijom i lakšeg odvajanja od respiratora perkutana traheotomija je urađena kod 14 ispitanika (18,70%), podjednako često u grupama preživjelih i umrlih. Generalno se procjenjuje da broj urađenih traheotomija u prekovid eri kod intubiranih i invazivno ventiliranih pacijenata bio oko 9,10% [133], ali se tokom kovida bilježi veća indicenca urađenih traheostomija, obično od 16% do 61% [134]. VV ECMO je urađen kod 2 ispitanika (2,70%), oba iz grupe umrlih, međutim s obzirom na mali uzorak, teško je izvesti ispravan zaključak. U studijama koje su pratile kovid pacijente na ECMO, mortalitet je takođe bio visok, od 36,40% do 94,10% [135, 136]. U našoj studiji, skoro polovina pacijenata (49,30%) je bila hemodinamski nestabilna i trebala kontinuiranu vazopresornu podršku (obično noradrenalin), što je povezano sa mortalitetom (svi iz grupe umrlih su trebali vazopresornu podršku;  $p= 0,000$ ). Ovo se slaže sa rezultatima iz drugih istraživanja, koji takođe prijavljuju često korištenje vazopresorne terapije kod kritično oboljelih kovid pacijenata [137]. Razlog za veliku upotrebu vazopresornih lijekova bi se mogao objasniti teškom kliničkom prezentacijom, potrebom za mehaničkom ventilacijom i sedacijom, postojanjem endotelne disfunkcije i oksidativnog stresa, što je moglo uticati na razvoj hipotenzije. Prosječna dužina korištenja vazopresorne terapije je bila duža u grupi umrlih bolesnika (5 vs. 4,5 dana). Zamjena bubrežne

funkcije (dominantno kontinuirana veno-venska hemodijafiltracija), kao terapijski modalitet liječenja akutne bubrežne insuficijencije u sklopu kovida, je urađena kod 10,70% pacijenata, češće u grupi umrlih (20,70% vs. 4,50%). Inače, stopa urađenih kontinuiranih metoda zamjene bubrežne funkcije tokom kovida je varirao od 5% do 28%, što se može objasniti različitim pristupom i protokolima liječenja. Prema rezultatima velike studije koja je analizirala akutnu bubrežnu povredu i potrebu za hemodijalizom kod 18,043 odrasla kovid pacijenta, procjenjena incidenca akutne bubrežne povrede je bila 9,20%, odnosno 32,50% kod pacijenata koji su liječeni u intenzivnoj njezi, dok je potrebu za hemodijalizom imalo 3,20% pacijenata [138]. Studija sprovedena u Vašingtonu sa 166 kritično oboljela kovid pacijenata liječena u jedinici intenzivnog liječenja je pokazala da je 26% pacijenata trebalo hemodijalizu i da je potreba za kontinuiranom hemodijalizom bila nezavisni faktor rizika za smrtni ishod [139]. Što se tiče standardnog medikamentoznog terapijskog protokola, svi ispitanici su liječeni antibioticima (100%), kortikosteroidima (100%), ulkus profilaksom (100%), terapijskim dozama niskomolekularnog heparina (100%). Zbog citokinske oluje u sklopu kovida, 21,30% pacijenata je primilo tocilizumab (iz grupe preživjelih 26,1%, iz grupe umrlih 13,8%). Jedna od kontroverzi tokom pandemije je bila neracionalna upotreba antibiotika i strah od posljedične rezistencije na antibiotike. U aktuelnom istraživanju svi pacijenti su dobili antibiotsku terapiju, što prema rezultatima nije direktno uticalo na mortalitet. Odluka o uključenju antibiotika je bila donijeta na osnovu povišenih upalnih parametara, radiološkog nalaza pneumonije, potrebe za kiseoničnom terapijom i mehaničkom ventilacijom. I drugi centri su imali visoku stopu propisivanja antibiotika [140]. Tocilumab je korišten kod 1/5 pacijenata, od toga 75% pacijenata je preživjelo. Velika studija koja je analizirala 27,004 kovid pacijenta sa teškom ili kritičnom formom bolesti je pokazala da je upotreba tocilizumaba povezana sa redukcijom mortaliteta kod pacijenata koji se liječe u intenzivnim njegama i odjeljenjima: smanjenje je 11% u randomizovanim kontrolisanim studijama do 31% u opservacionim studijama [141]. Kortikosteroidi su lijekovi koji su našli mjesto u nacionalnim preporukama za liječenje teških formi kovida širom svijeta, a njihova upotreba je povezana sa redukcijom mortaliteta. U aktuelnom ispitivanju, a shodno nacionalnim preporukama, svi pacijenti su liječeni kortikosteroidima, što nije imalo direktnu vezu sa mortalitetom [142]. Međutim, jedan od nedostataka terapije kortikosteroidima je proporcionalna povezanost sa rizikom od bakterijske superinfekcije, što je prikazano u literaturi [143].

## **6.2 LABORATORIJSKE ANALIZE ISPITANIKA**

Kako se cijeli svijet suočio sa novom bolešću i vanrednom situacijom u svim segmentima života, u žižu javnosti je dospjela upotreba različitih hematoloških i biohemijskih analiza (biomarkera) koje bi mogle poslužiti za ranu identifikaciju pacijenata sa rizikom od razvoja teških formi bolesti, za predikciju težine bolesti i ishoda liječenja. Njihovo određivanje je bilo izvodivo i korisno svim zdravstvenim sistemima kroz svakodnevni klinički rad, mada neke od analiza nisu bile dostupne svim bolnicama (npr. IL-6). Korištenje biomarkera je interesantno sa aspekta rane identifikacije teških formi bolesti, identifikacije pogoršanja i komplikacija bolesti, kao i predikcije ishoda liječenja, što omogućava pravovremeni terapijski pristup. Ovo je posebno važno za pacijente koji zahtjevaju liječenje u jedinicama intenzivnog liječenja, gdje je faktor vrijeme jedan od ključnih faktora za ishod liječenja. U sprovedenom istraživanju najvažnije zapažanje koje se tiče laboratorijskih analiza jeste da je bolja kontrola inflamacije i koagulopatije povezana sa povoljnim tokom i ishodom bolesti.

Iako su inicijalne vrijednosti CRP-a, IL-6 i feritina bile slične i bez statistički značajne razlike kod svih ispitanika, zanimljivo je da su se njihove vrijednosti sedmog dana liječenja značajno razlikovale. Kod preživjelih, onih koji nisu trebali invazivnu mehaničku ventilaciju i vazopresornu terapiju se bilježi značajan trend pada, za razliku od grupe umrlih, intubiranih i onih koji su trebali vazopresornu terapiju, gdje se bilježi značajan trend porasta njihovih vrijednosti. Posmatrajući ovu korelaciju, može se izvesti zaključak da je praćenje trenda CRP-a, IL-6 i feritina važno u kliničkom radu, da može poslužiti kao prediktor toka bolesti i ishoda liječenja. Dobijeni rezultati se slažu sa rezultatima iz drugih studija, gdje se takođe hiperinflamacija navodi kao jedna od glavnih obilježja kovida [144,145]. Razlog za nalaz povišenih markera inflamacije i trend rasta u grupi umrlih pacijenata se može objasniti razvojem sistemskog inflamatornog odgovora i citokinske oluje, što je detaljno objašnjeno u uvodnom dijelu. Ovdje je važno napomenuti činjenicu da je upotreba biološke imunomodulatorne terapije (tocilizumab) kod određenog broja pacijenata mogla uticati na rezultate za dobijene vrijednosti IL-6 i feritina, što je moglo u konačnici uticati na krajnje rezultate istraživanja. Drugi inflamatorni marker, TNF- $\alpha$ , koji se ne koristi rutinski u kliničkoj praksi, bilježi trenda pada sedmog dana liječenja kod svih ispitanika, značajnije u grupi preživjelih pacijenata, međutim ovaj rezultat se ne može dovesti u vezu sa stopom mortaliteta. Već je ranije napomenuto kako se kod kritično oboljelih kovid pacijenata bilježe različita odstupanja u krvnoj slici, u smislu postojanja limfopenije, trombocitopenije, anemije i povišenog NRL odnosa [146]. U aktuelnom istraživanju pored blage leukocitoze prisutne kod

svih ispitanika pri prijemu i tokom liječenja, zapažaju se značajne promjene i razlike u diferencijalnoj krvnoj slici između preživjelih i umrlih ispitanika za vrijednosti limfocita, trombocita, hemoglobina i NRL odnosa. Evidentno je da su umrli pacijenti 7. dana liječenja imali izraženiju limfopeniju, trombocitopeniju, anemiju i povišen NRL odnos, što znači da rana detekcija ovih parametara, praćenje njihove dinamike tokom vremena i trend pada mogu poslužiti kao prediktori negativnog ishoda kod kritično oboljelih kovid pacijenata. Važan je podatak da u grupi preživjelih pacijenata limfociti pokazuju trend oporavka, a dalju deterioraciju u grupi umrlih pacijenata, što praktično znači da se oporavak limfocita može smatrati prediktorom pozitivnog ishoda. Pored inflamacije kao važnog patofiziološkog mehanizma bolesti, važan mehanizam je hiperkoagulabilnost krvi, što se može vidjeti kroz detekciju odstupanja u laboratorijskim analizama koagulacije i praćenje koagulopatije. Kod teških formi kovid pneumonije se sreću povišene vrijednosti D-dimera, koji je indikator hiperkoagulabilnosti i povećanog rizika za trombozu, a koji se pokazao i kao nezavisan faktor rizika za mortalitet [147]. U aktuelnoj studiji svi pacijenti su pri prijemu u KIM imali povišene inicijalne vrijednosti D-dimera, međutim pacijenti iz grupe umrlih, koji su liječeni hemodijalizom i koji su trebali vazopresor su imali značajan porast vrijednosti 7. dana liječenja, tako da se ovaj nalaz može posmatrati kao prediktor progresije bolesti i ishoda liječenja. Važno je napomenuti da je na dobijene rezultate vrijednosti D-dimera mogla uticati činjenica da su pacijenti liječeni terapijskim dozama niskomolekularnog heparina, a prema nacionalnim smjernicama za liječenje teških formi bolesti. Vrijednosti troponina, kao markera miokardne povrede, mogu biti povišene u različitim stanjima kao što su teška hipoksemija, hipotenzija, akutni koronarni sindrom, miokarditis i različitim drugim kardiovaskularnim bolestima. Miokardna lezija je česta kod kritično oboljelih kovid pacijenata i smatra se da je povezana sa neadekvatnim imunim odgovorom, većim rizikom od organske disfunkcije i rizikom za mortalitet [148]. U aktuelnom istraživanju su prilikom prijema u KIM prežивeli ispitanici imali vrijednosti troponina T u referentnom opsegu, dok su kod umrlih ispitanika odmah inicijalno verifikovane povišene vrijednosti troponina T. Važna je i njegova dinamika tokom vremena: kod preživjelih pacijenata troponin T ostaje u referentnom opsegu sedmog dana liječenja, dok kod umrlih pacijenata pokazuje trend porasta, tako da i ovaj parametar takođe može poslužiti kao prediktor progresije bolesti i ishoda liječenja. Još jedan marker bolesti koji je povezan sa lošom prognozom je povišena LDH, sa senzitivnošću od 74% i specifičnošću od 69% [149]. U svjetlu kovida, smatra se da povišena LDH nastaje kao posljedica oštećenje pluća i tkiva, ali do njegovog porasta mogu dovesti i drugi uzroci kao što je tromboza. U aktuelnom istraživanju

je kod svih ispitanika, u svim vremenima mjerenja zabilježena povišena LDH, značajnije u grupi umrlih, kako na dan prijema, tako i sedmog dana liječenja, sa tendencijom pada vrijednosti, koje je bilo značajnije u grupi preživjelih pacijenata. Budući da je dijabetes imalo 16% i gojaznost 45,30% ispitanika, da su svi ispitanici imali pneumoniju (inflamaciju u osnovi) i da su liječeni kortikosteroidima, ne iznenađuje činjenica da je kod ispitanika zabilježena hiperglikemija, uz napomenu da su preživjeli pacijenti imali bolju kontrolu glikemije (umrli pacijenti su imali veće vrijednosti glikemije u oba mjerenja). Ono što je potrebno naglasiti je činjenica da je ordinirana terapija insulinom potencijalno mogla uticati na rezultate glikemije iz ove studije. Aktuelno istraživanje je kod ispitanika pratilo i vrijednosti albumina, budući da je hipoalbuminemija prijavljeno odstupanje koje se često susreće kod teških formi kovida i koje može poslužiti kao prediktor težine oboljenja i lošeg ishoda liječenja [150]. Albumin je važna molekula sa mnogo aspekata: reguliše koloidno-osmotski pritisak krvi, vaskularnu permeabilnost, važan je transporter mnogih molekula (bilirubini, joni, masne kiseline, lijekovi, itd.), ponaša se kao antioksidans, itd. U aktuelnom istraživanju su svi ispitanici imali hipoalbuminemiju, koja je bila izraženija u skupini umrlih pacijenata kako 1. dana liječenja, tako i 7. dana, tako da se ovaj nalaz može posmatrati kao negativan prediktivni pokazatelj. Za razliku od drugih studija sprovedenih na ovu temu [151], vrijednosti kreatinina su bile sve vrijeme u granicama referentnih za sve ispitanike i nisu se mogle povezati sa stopom mortaliteta. Međutim, ovdje se mora imati u vidu činjenica da je oko 10% ispitanika dijalizirano i da su vrijednosti kreatinina bilježene u svrhu studije samo prvog i sedmog dana liječenja, što je moglo uticati na rezultate kreatinina i stvoriti pogrešnu sliku o ovom parametru. Od svih mikroelemenata koji su proučavani u kovidu najviše je ispitivano gvožđe (Fe) zbog svoje imunomodulatorne funkcije kojom može, između ostalog, uticati na tok i ishod virusnih infekcija. Fe se nalazi u makrofazima i učestvuje u regulaciji mnogih proinflamatornih citokina, promoviše diferencijaciju makrofaga, limfocita i metabolizam imunih ćelija. Čak i dva mjeseca od nastanka kovida se mogu detektovati niske vrijednosti serumskog Fe i visoke koncentracije serumskog feritina, a studije navode da oko 90% hospitalizovanih kovid pacijenata ima vrijednosti serumskog Fe ispod referentnog opsega. Vrijednosti serumskog Fe pokazuju tendenciju pada sa težinom kovida, dok vrijednosti feritina i hepcidina pokazuju tendenciju porasta sa težinom kovida [152]. Generalno, niske serumske koncentracije Fe u uslovima infekcije su fiziološki odgovor organizma, jer se zadržavanjem Fe u ćelijama retikuloendotelnog sistema nastoji ograničiti dostupnost Fe patogenima i na taj način kontrolisati širenje infekcije. Studija Yadava i saradnika koja je upoređivala Fe i njegove

biomarkere (TIBC, UIBC) kod 150 pacijenata oboljelih od kovida sa nalazima 50 zdravih pojedinaca je pronašla da kovid pacijenti imaju značajno niže vrijednosti Fe, TIBC i UIBC u odnosu na zdrave ispitanike [153]. Interesantno je da su vrijednosti Fe, TIBC i UIBC u aktuelnoj studiji sprovedenoj u KIM-u bile kod svih ispitanika ispod referentnih vrijednosti sve vrijeme, sa značajnim trendom rasta (oporavka) sedmog dana liječenja za Fe i TIBC kod preživjelih, a sa trendom pada kod umrlih pacijenata. Budući da je već spomenuta koagulopatija jedno od obilježja ove bolesti, došlo se do ideje da se izmjere vrijednosti homocisteina u serumu, kao markera trombotskih bolesti, kardiovaskularnog rizika i komplikacija. U studijama su prijavljene visoke vrijednosti homocisteina kod kritično oboljelih pacijenata [154]. Suprotno očekivanjima, vrijednosti homocisteina u aktuelnoj studiji su bile u granicama referentnih u svim vremenima mjerena kod svih ispitanika, čak sa tendencijom pada u grupi umrlih pacijenata. Moguća objašnjenja za ovaj nalaz je preusmjeravanje cisteina za sintezu GSH, malnutricija ili da je nalaz povezan sa inflamacijom koja je bila jače izražena u grupi umrlih. Vitamin D je liposolubilni vitamin koji reguliše imuni odgovor i povećava sintezu jakih antimikrobnih peptida koji su nađeni u neutrofilima, monocitima, NK-ćelijama i epitelnim ćelijama koje oblažu respiratorični trakt i igraju značajnu ulogu u prevenciji infekcije pluća. Insuficijencija vitamina D je česta kod pacijenata koji se liječe u jedinicama intenzivnog liječenja i povezana je sa težinom bolesti, dužinom liječenja u intenzivnoj njezi i dužinom mehaničke ventilacije. Studije rađene kod kovid pacijenata koji su liječeni u intenzivnoj njezi pokazuju snažnu korelaciju između vrijednosti vitamina D i težine oboljenja [155]. U aktuelnom istraživanju vrijednosti vitamina D su bile ispod preporučenih za sve ispitanike i sa značajnom tendencijom pada vrijednosti u grupi umrlih. Inače, zbog svog imunomodulatornog djelovanja, vitamin D je ušao u skoro sve nacionalne vodiče za liječenje kovida kao adjuvantna suplementacijska terapija (i vodiče Republike Srpske i Srbije). Pored vitamina D, može se zapaziti trend pada vrijednosti vitamina B12 u grupi umrlih pacijenata, što se potencijalno može iskoristiti kao prognostički marker. Inače, vitamin B12 je uključen u regulaciju imunog sistema i antivirusne aktivnosti, inhibišući inflamaciju preko modulacije faktora rasta, citokina i drugih imunomodulatornih supstanci. Ono što je moglo uticati na dobijene rezultate je činjenica da je ovo vitamin koji se gubi dijalizom i da je određeni broj pacijenata dijaliziran.

### **6.3 MARKERI OKSIDATIVNOG STRESA**

Određivanje markera oksidativnog stresa je interesantna tema na koju ne postoji mnogo publikacija i koja svakako zaslužuje dalja istraživanja. Posljednjih godina je oksidativni stres postao aktuelan predmet izučavanja i to najčešće u kontekstu hroničnih nezaraznih bolesti, starenja i tumora. Ograničavajuće stavke aktuelnog istraživanja su bile mali uzorak ispitanika, uniformnost grupe (isti zdravstveni problem i terapijski pristup) i nedostatak kontrolne grupe (npr. zdravi ispitanici ili oni koji se liječe na stacionarnom odjeljenju). Na dobijene rezultate markera oksidativnog stresa je teorijski moglo uticati mnogo faktora, kao što su sama bolest, kiseonična terapija (obično su višednevno bile potrebne visoke koncentracije kiseonika), lijekovi (npr. nesteroidni antinflamatorni lijekovi- NSAIL), stres, malnutricija i uzimanje različitih preparata antioksidanasa prije prijema u KIM (npr. vitamin C, D, E, i dr.). Što se tiče aktuelnog istraživanja, opšti utisak je da su svi ispitanici bili izloženi oksidativnom stresu (u posmatranim grupama postoji dinamika prooksidanasa i antioksidanasa), ali da njihovo određivanje u kontekstu kritično oboljelih pacijenata od kovid pneumonije nema prognostički značaj. U ovom slučaju, određivanje markera oksidativnog stresa ima više akademski nego klinički značaj.

Ono što se može vidjeti u našem istraživanju je da nije bilo značajne razlike vrijednosti bazalnog profila prooksidanasa ( $H_2O_2$ ,  $O_2^-$  i  $NO_2^-$ ) i antioksidanasa (CAT, SOD i GSH) u grupama preživjelih i umrlih ispitanika. Ipak, nakon sedam dana liječenja se zapaža dinamika porasta vrijednosti antioksidanasa, t.j. porast koncentracije  $NO_2^-$ , CAT i SOD. Ovaj rezultat može značiti da su ispitanici tokom akutne bolesti i liječenja u intenzivnoj njezi bili izloženi velikom oksidativnom stresu i da su povećane vrijednosti antioksidanasa predstavljale odbrambeni odgovor organizma. Međutim, postoji mogućnost da se antioksidansi u kovidu ne mogu iskoristiti na pravi način, što je razlog njihove "rezerve". U istraživanju je veliki značaj imala SOD, koja se značajno razlikovala između preživjelih i umrlih ispitanika 7. dana liječenja (umrli su imali povišene vrijednosti), što bi značilo da se SOD može koristiti kao prognostički parametar. U radu Golabija i saradnika je pokazano da su serumske koncentracije SOD i glutation peroksidaze bile značajno povišene u grupi kovid pacijenata u odnosu na zdrave pojedince [156]. U studiji Bastina i saradnika koja je poredila aktivnost SOD kod zdravih pojedinaca, lakših i teških formi kovida je nađeno da su najveće vrijednosti SOD izmjerene kod najtežih formi bolesti, što se slaže sa rezultatima aktuelnog istraživanja [157]. Poznato je da je kiseonična terapija bila temelj suportivne terapije kritično oboljelih pacijenta oboljelih od kovida, gdje je kiseonik korišten u cilju optimalizacije tkivne oksigenacije. Kiseonik je lijek

koji u slučaju neodgovorajućeg doziranja može uzrokovati hipoksemiju (ćelije se prevode na anaerobni metabolizam) ili hiperoksiju (koja indukuje veliki oksidativni stres). Svi pacijenti iz naše studije su trebali kiseoničnu terapiju, koja je ordinirana u formi invazivne mehaničke ventilacije (zahtjeva intubaciju) ili neinvazivne mehaničke ventilacije/visokoprotočne kiseonične maske (ne zahtjeva intubaciju). U kontekstu mehaničke ventilacije bazalne vrijednosti i vrijednosti dobijene nakon sedam dana su bile slične kod pacijenata koji su bili intubirani i koji nisu bili intubirani. Međutim, posmatrajući izolovano ove dvije grupe, ipak se primjećuje dinamika porasta antioksidanasa: u grupi intubiranih rastu CAT i SOD, dok u grupi neintubiranih rastu CAT, SOD i  $\text{NO}_2^-$ . Na osnovu navedenog se može izvesti zaključak da se vrijednosti prooksidanasa i antioksidanasa ne mogu povezati sa rizikom od intubacije i invazivne mehaničke ventilacije, ali i da postoji mogućnost da produžena kiseonična terapija u većim dozama indukuje oksidativni stres, što se vidi po porastu antioksidanasa. Slična zapažanja je imala grupa autora iz Brazila koja je proučavala povezanost mehaničke ventilacije i oksidativnog stresa, i koja je zaključila kako su pacijenti sa produženom mehaničkom ventilacijom imali veće vrijednosti CAT [158].

Sa aspekta komorbiditeta, svi ispitanici su imali inicijalno slične nivoe prooksidanasa i antioksidanasa, bez obzira da li su imali neki od komorbiditeta ili su bili prethodno zdravi. Iako je poznato da su bolesti koje su imali naši ispitanici (u prvom redu hipertenzija, dijabetes i gojaznost) povezane sa oksidativnim stresom, zanimljivo je da nije bilo razlike u markerima oksidativnog stresa u odnosu na zdrave ispitanike. Ovakav nalaz može imati više objašnjenja: 1. bolesnici sa komorbiditetima su imali dobru kontrolu hroničnih bolesti, 2. imajući u vidu činjenicu da su bolesnici u prosjeku hospitalizovani u KIM nakon 9 dana bolesti, za to vrijeme je nastupio oksidativni stres kod svih ispitanika ili 3. „zdravi“ ispitanici nisu bili zaista zdravi (npr. u istraživanju se 12% gojaznih ispitanika sa  $\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$  izjašnjavao kao zdravo, od toga 77% ispitanika je imalo gojaznost klase I i 33% gojaznost klase II). Ipak, ukoliko se posmatraju odvojeno, kod ispitanika sa komorbiditetima se nakon sedam dana liječenja bilježi porast vrijednosti za CAT, SOD i GSH, dok se kod ispitanika bez komorbiditeta bilježi porast vrijednosti za  $\text{NO}_2^-$ , CAT i SOD. Interesantno je zapažanje da su bolesnici bez komorbiditeta imali tokom liječenja porast  $\text{NO}_2^-$ , što nije zabilježeno kod pacijenta sa komorbiditetima, a može se dovesti u vezu sa disfunkcionalnim endotelom i ograničenom mogućnošću stvaranja NO. Pored oslobađanja NO u endotelu uz pomoć NO sintetaze, nitritni anjon ima i druge uloge, kao što je modulacija hipoksične vazodilatacije i protektivna uloga kod sindroma ishemija-reperfuzija [159]. Posmatrajući GSH kao neenzimski antioksidans, njegov značajan porast

tokom vremena je zabilježen samo kod pacijenata sa komorbiditetima, što se može objasniti reakcijom na povećanu proizvodnju reaktivnih kiseoničnih radikala. Sam glutation se tokom kovida razmatrao kao terapijska opcija, budući da su smanjene koncentracije GSH zabilježene kod kovid pacijenata, a što se može povezati sa povećanjem virusne replikacije, oslobađenjem proinflamatornih citokina i trombozom [160]. Rezultati markera oksidativnog stresa su bili slični između ispitanika sa i bez komorbiditeta i nakon sedam dana liječenja.

Od ranije je dobro poznato da je hemodializa terapijska metoda koja je povezana sa oksidativnim stresom. Kardiovaskularni mortalitet pacijenata na hemodializi je 10-20 puta veći u odnosu na ostalu populaciju, što se povezuje sa NO. Mjereći koncentracije nitrata i nitrita pacijenta na hemodializi Brajan i saradnici su zaključili da su njihove vrijednosti značajno manje nakon dijalize, što praktično znači smanjen bioavibilitet za NO [161]. U aktuelnoj studiji inicijalne vrijednosti proksidanasa i antioksidanasa se nisu značajno razlikovale u grupama pacijenata koji su dijalizirani (kontinuirana veno-venska hemodijafiltracija) i koji nisu bili dijalizirani, kao ni njihove vrijednosti određivane nakon sedam dana liječenja. Međutim, realan prikaz povezanosti markera oksidativnog stresa i hemodialize se mogao jedino dobiti da su markeri oksidativnog stresa određivani prije uključivanja dijalize i nakon njenog završetka, tako da je postojeće tumačenje markera oksidativnog stresa u svjetlu dijalize insuficijentno. Ukoliko se grupe posmatraju ponaosob, u grupi dijaliziranih pacijenata se tokom vremena vidi porast CAT, dok se u grupi koja nije dijalizirana vidi porast SOD, CAT i  $\text{NO}_2^-$ . Grupa bugarskih istraživača je proučavala oksidativni stres kod pacijenata na kontinuiranim metodama dijalize i došla do zaključka da ovi pacijenti imaju manju koncentraciju antioksidanasa [162]. Ovo se slaže sa našim rezultatima, jer jedino za kategoriju dijalize u odnosu na ispitivane kategorije (preživljavanje, mehanička ventilacija, komorbiditeti, vazopresorna potpora) ne postoji dinamika porasta vrijednosti antioksidansa SOD. Potencijalno objašnjenje je da se antioksidansi gube kontinuiranom hemodijafiltracijom. Sa aspekta hemodinamske stabilnosti, rezultati proksidanasa i antioksidanasa su bili slični u grupama ispitanika koja je trebala i koja nije trebala vazopresornu potporu pri prijemu i nakon sedam dana liječenja, mada se generalno bilježi njihov trend porasta. Ovakav nalaz govori u prilog činjenici da markeri oksidativnog stresa nemaju uticaj na hemodinamsku stabilnost ispitanika. Međutim, hemodinamski stabilni pacijenti vremenom pokazuju značajan trend porasta  $\text{NO}_2^-$ , CAT i SOD, za razliku od hemodinamskih nestabilnih pacijenata koji su trebali infuziju noradrenalina i gdje su tokom vremena vidi značajan porast za CAT, SOD i GSH. Zanimljiva je nađena razlika za  $\text{NO}_2^-$  i GSH. Poznato je da plazmatska koncentracija  $\text{NO}_2^-$  reflektuje aktivnost NO-sintaze i važna je

rezerva NO. Rasaf i saradnici su pokazali da je drugačiji odgovor endotela u smislu produkcije  $\text{NO}_2^-$  i dilatacije krvnog suda kod „zdravog“ endotela i „bolesnog“ endotela, odnosno osoba bez i sa endotelne disfunkcije [163]. Na osnovu ovog rada, vjerovatno je da su hemodinamski stabilni ispitanici imali normalnu bioaktivnost NO odnosno „bolje stanje endotela“ u odnosu na hemodinamski nestabilne ispitanike kod kojih se praktično nije mjenjala koncentracija  $\text{NO}_2^-$  tokom vremena uprkos možda povećanim zahtjevima. Slični rezultati su nađeni u radu Lauera i saradnika koji su mjerili vrijednosti  $\text{NO}_2^-$  nakon fizičkog vježbanja kod zdravih mlađih i starijih osoba (bez kardiovaskularnih bolesti) i konstatovali kako normalan porast vrijednosti  $\text{NO}_2^-$  kod mlađih osoba izostaje kod starijih osoba kao rezultat poremećenog kapaciteta vaskulature da odgovori na stimulanse, t.j. endotelne disfunkcije [164]. Sa aspekta kritično oboljelih pacijenata, prema radu Tagana i saradnika koji su pratili vrijednosti nitrata ( $\text{NO}_3^-$ ) kod pacijenata sa kardiogenim i septičnim šokom u odnosu na zdravu populaciju je nađeno da su vrijednosti povećane kod pacijenata u šoku u odnosu na zdravu populaciju (značajnije kod septičnog nego kardiogenog) [165]. Pregledom literature, nije pronađena studija koja je ponavljala mjerjenja markera oksidativnog stresa u različitim vremenima kod pacijenata liječenih u intenzivnoj njezi, što otežava upoređivanje dobijenih rezultata.

#### **6.4 PEPTIDI RENIN-ANGIOTENZIN-ALDOSTERON SISTEMA**

Analiza rezultata koji se tiču RAAS sistema je posebno izazovna i interesantna iz razloga što je poznato da je ACE2 receptor za SARS-CoV-2. Zbog malog uzorka ispitanika, uniformne grupe pacijenata (nedostatka kontrolne grupe), činjenice da je hipertenziju imalo 48% ispitanika (od čega je ACE inhibitore koristilo 55,50% ispitanika, sartane 5,55% ispitanika, a kombinovane preparate koji u sebi sadrže ACE inhibitor 13,90% ispitanika), protokola liječenja i tehničkih problema (npr. različiti laboratorijski eseji, niska serumska koncentracija, *ex vivo* degradacija, itd.), postoji mogućnost da su rezultati istraživanja maskirani navedenim faktorima. Takođe, postoji šansa da cirkulišući nivo peptida RAAS sistema ne prikazuje lokalni nivo (npr. nivo u plućima), tako da možemo samo pretpostaviti da su cirkulišuće koncentracije povezane sa tkivnim koncentracijama. Iako poredeći grupe pacijenata (preživjeli vs. umrli, intubirani vs. neintubirani, sa komorbiditetima vs. bez komorbiditeta, dijalizirani vs. nedijalizirani, sa vazopresornom podrškom vs. bez vazopresorne podrške) nisu dobijene statistički značajne razlike, ipak su veće vrijednosti zabilježene kod težih pacijenata. Na osnovu tih vrijednosti se stiže utisak da je kod težih pacijenata više aktiviran alternativni put RAAS-a što se vidi po povećanom Ang 1-7 i konkomitantnom povećanju

ACE2, ali i klasični put RAAS-a što se vidi po povećanim koncentracijama Ang II. Zbog korištenja različitih kitova koji su različite senzitivnosti i specifičnosti bilo je teško upoređivati dobijene rezultate sa onima iz dostupne literature.

## ACE

Kod ispitanika nije uočena asocijacija između cirkulišućih bazalnih vrijednosti ACE i njegove kinetike sa ishodom liječenja, potrebom za invazivnom mehaničkom ventilacijom, komorbiditetima i potrebom za vazopresornom terapijom. Težina bolesti (blaga vs. teška kovid pneumonija) nije imala uticaj na serumske vrijednosti ACE ni u studiji Turskih autora, što se slaže sa našim istraživanjem [166]. Od svih određivanih peptida, on se najviše koristi u kliničkoj praksi (npr. za dijagnostiku i praćenje sarkoidoze) i prema literaturi za adultnu populaciju referentne vrijednosti su  $< 40 \text{ ng/mL}$ . U skladu sa navedenim, naši ispitanici nisu imali povišene koncentracije ACE, na šta je potencijalno mogla uticati terapija kortikosteroidima, ACE inhibitorima, kao i postojanje genskog polimorfizma za ACE gen. I ranije je proučavana povezanost između genskog polimorfizma i ishoda ARDS-a kod pacijenata koji su liječeni u jedinicama intenzivne njegе, sa zaključkom da polimorfizam gena za ACE predstavlja značajan prognostički faktor [167]. Grupa Kineskih autora je prijavila niske vrijednosti ACE kao nezavisan faktor rizika za progresiju kovida, povezujući ovaj nalaz sa usporenom eliminacijom virusa, hiperinflamatornim stanjem i poremećenim imunim odgovorom domaćina [168]. Što se tiče dinamike nalaza, uočeno je da su bazalne vrijednosti i vrijednosti ACE mjerene nakon sedam dana bile blago veće kod umrlih, intubiranih i ispitanika koji su trebali vazopresornu potporu (što odgovara težim kliničkim slikama bolesti). Potencijalno objašnjenje za ovakav nalaz je ili veća produkcija ili usporena degradacija /eliminacija. Posmatrajući ACE u kontekstu dijalize, iako su bazalne vrijednosti bile slične, 7. dana liječenja se bilježe značajno veće vrijednosti ACE u grupi koja nije dijalizirana ( $p=0,019$ ), moguće kao posljedica kontinuirane hemodialize koja je sprovedena u grupi dijaliziranih.

## ACE2

Kod ispitanika nije uočena asocijacija između cirkulišućih bazalnih vrijednosti ACE2 i njegove kinetike sa ishodom liječenja, potrebom za invazivnom mehaničkom ventilacijom, hemodializom i potrebom za vazopresornom terapijom. Podaci o solubilnim ACE2 kod kovid pacijenata su kontraverzni: neki autori su kod pacijenata sa teškim formama kovida prijavili

povećanje ACE2 aktivnosti, dok su drugi prijavili njegovo smanjenje. Prema grupi ukrajinskih autora, koncentracije ACE2 su bile niže kod kritično oboljelih pacijenata u poređenju sa blagim oblicima bolesti, dok su prema grupi jordanskih autora serumske koncentracije bile veće u grupi kritično oboljelih ili umrlih kovid pacijenata [169,170]. U metaanalizi Naderija i saradnika koncentracije ACE2 su bile slične u grupi srednje teških i teških kovid pacijenata [171], što je slaže sa našim istraživanjem gdje nije nađena značajna razlika između upoređivanih grupa. Zbog činjenice da predstavlja receptor za SARS-CoV-2, ovaj peptid je tokom pandemije postao jedan od najviše proučavanih komponenti RAAS sistema. Vezivanje virusa praktično znači njegovu funkcionalnu nishodnu regulaciju i poremećenu katalitičku funkciju, čime se potencira klasični RAAS put (ACE/Ang II/AT1R). Važno je imati na umu da postoje dvije forme ACE2: tkivna (integralni membranski protein, dominantna forma) i cirkulišuća forma (u krvi, male količine), te da cirkulišuća komponenta ne mora odražavati tkivnu. U našem istraživanju, bazalne vrijednosti ACE2 su bile veće kod ispitanika koji su umrli, trebali invazivnu mehaničku ventilaciju, hemodijalizu, vazopresornu potporu i imali neki komorbiditet. Međutim, 7. dana bolesti se bilježe veće vrijednosti ACE2 u grupi preživjelih, onih koji nisu trebali invazivnu mehaničku ventilaciju, vazopresornu potporu i bili bez komorbiditeta. Objasnjenje za ovakav nalaz bi mogla da bude nishodna stimulacija receptora zbog viremije i posljedično manje oslobođanje u cirkulaciju u grupi težih pacijenta. Ovome ide u prilog činjenica da se kod ispitanika koji nisu invazivno mehanički ventilirani ( $p=0,008$ ) i koji nisu trebali vazopresornu potporu ( $p=0,001$ ) sedmog dana bilježi porast ACE2. Uloga komorbiditeta je naglašavana tokom pandemije, jer je poznato da je veći nivo ekspresije ACE2 prisutan kod osoba sa kardiovaskularnim bolestima, HOBP i dijabetesu, tako da su ove osobe samim tim pod rizikom za infekciju sa SARS-CoV-2.

## **Ang I**

Kod ispitanika nije uočena asocijacija između cirkulišućih bazalnih vrijednosti neaktivnog peptida RAAS sistema Ang I i njegove kinetike sa ishodom liječenja, potrebom za invazivnom mehaničkom ventilacijom, komorbiditetima, hemodijalizom i potrebom za vazopresornom terapijom. Činjenica da su upoređivane kategorije ispitanika (preživjeli vs. umrli, intubirani vs. neintubirani, sa komorbiditetima vs. bez komorbiditeta, dijalizirani vs. nedijalizirani, koji su trebali vs. nisu trebali vazopresornu terapiju) imali slične vrijednosti u svim mjeranjima čini ovaj peptid je neupotrebivim u prognostičkom smislu. Kada se posmatra dinamika Ang I unutar iste grupe ispitanika, primjećuje se dinamika pada u svim grupama, a značajno sedmog dana u

grupi preživjelih ( $p= 0,001$ ), intubiranih ( $p= 0,025$ ), neintubiranih ( $p= 0,002$ ) sa komorbiditetima ( $p= 0,001$ ), koji su trebali vazopresornu podršku ( $p= 0,038$ ) i koji nisu trebali vazopresornu podršku ( $p= 0,001$ ). Dobijeni rezultati se mogu objasniti: 1) povećanom razgradnjom Ang I koja se desila tokom vremena pod djelovanjem ACE i ACE2, 2) smanjenom sintezom Ang I tokom vremena, 3) opcijom da je metabolizam moguć putem drugačijim od ACE2 (npr. uz pomoć neprilizina do ang 1-7). Inače, ACE2 ima oko 400 puta veći afinitet za Ang II od afiniteta za Ang I.

## **Ang II**

Kod ispitanika nije uočena asocijacija između cirkulišućih bazalnih vrijednosti Ang II i njegove kinetike sa ishodom liječenja, potrebom za invazivnom mehaničkom ventilacijom, hemodializom i potrebom za vazopresornom terapijom. Ovaj važan peptid predstavlja centralnu efektorsku molekulu RAAS sistema zbog svoje povezanosti sa ACE2 (Ang II je susptrat za ACE2) je postao tema brojnih istraživača tokom pandemije. Zaključeno je da pored vazokonstriktornog dejstva on povećava stvaranje trombina i remeti fibrinolizu, a povećane vrijednosti koreliraju sa viremijom i oštećenjem pluća kod teških formi kovida [172]. Iako nije bilo statistički značajne razlike, bazalne vrijednosti Ang II su bile ipak veće kod ispitanika koji su umrli, bili intubirani, dijalizirani i koji su trebali vazopresornu terapiju, ali posmatrajući pojedinačne grupe, svi ispitanici su imali trend porasta Ang II sedmog dana. Objašnjenje za ovakav nalaz je mogućnost da su teži pacijenti imali veće inicijalne vrijednosti zbog izraženije viremije, funkcionalne inaktivacije ACE2 i posljedično smanjene inaktivacije Ang II (što može ukazati na pacijente sa lošom prognozom), a dinamika nalaza se vjerovatno slaže sa tokom bolesti. Istraživanje Karamaga i saradnika je imalo rezultate koji su bili slični našim: inicijalne vrijednosti Ang II su bile veće kod kritično oboljelih kovid pacijenata u odnosu na one sa teškom kliničkom slikom [173]. U radu Kaura i saradnika koji su koristili isti kit za određivanje Ang II kao u našem istraživanju, oboljeli od kovida su imali znatno niže vrijednosti Ang II od naših (oko 12 pg/mL, u poređenju sa našim rezultatima  $> 39$  pg/mL)[174]. Važno je imati na umu i činjenicu da Ang II može nastati nezavisno od ACE, npr. uz pomoć himaza iz Ang I ili Ang 1-12, što je potencijalno mogao biti razlog za dobijene rezultate. Ukoliko se ispitanici posmatraju kroz kategoriju komorbiditeta, značajno veće inicijalne vrijednosti Ang II su imali ispitanici sa komorbiditetima ( $p=0,015$ ), što se može objasniti hipertenzijom kao glavnim komorbiditetom i ulogom RAAS sistema u hipertenziji.

### **Ang 1-7**

Kod ispitanika nije uočena asocijacija između cirkulišućih bazalnih vrijednosti Ang 1-7 i njegove kinetike sa ishodom liječenja, potrebom za invazivnom mehaničkom ventilacijom, komorbiditetima, hemodijalizom i potrebom za vazopresornom terapijom. Iako generalno slične, izmjerene bazalne vrijednosti Ang 1-7 su ipak bile veće kod težih ispitanika (koji su umrli, bili intubirani, dijalizirani, trebali vazopresornu terapiju i imali neki komorbiditet, što se može objasniti aktivacijom alternativnog puta RAAS-a, ali i opcijom da postoji produkcija Ang 1-7 nezavisna od ACE2, t.j. produkcija pomoću oligopeptidaza. Inače, ovaj peptid ima kratak poluživot i metaboliše se u neaktivne polipeptide na dva načina: 1) pomoću ACE u Ang 1-5 ili 2) uz pomoć aminopeptidaza u inaktivne fragmente. U istraživanjima grupe brazilskih autora koji su poredili ne-kovid i pacijente sa teškom kliničkom slikom kovida su nađene veće koncentracije Ang 1-7 kod teških formi kovid pacijenata, što je objašnjeno postojanjem disregulacije RAAS sistema kod kovida ili posljedica terapije ACE inhibitorima [175], mada je nedostatak istraživanja poređenje nekovid i kovid pacijenta. Studija iranskih autora je, za razliku od naših rezultata, imala niže izmjerene vrijednosti Ang 1-7 kod težih kliničkih formi kovida u odnosu na blaže forme, ali njihovi isključujući kriterijumi su bili, između ostalog, faktori koji su bili prisutni u našem istraživanju (u njihovoј studiji isključujući kriterijumi su bili smrtni ishod, pušači, pacijenti sa više komorbiditeta, koji su uzimali vitamin D u prethodnih 6 mjeseci, i sl.) [176]. Prema rezultatima metaanalize koju su napravila grupa istraživača iz Brisela kod teških formi kovida postoji hiperaktivacija alternativnog puta RAAS i povećane koncentracije Ang 1-7, sa tendencijom povećanja tokom vremena, što se slaže sa našom opservacijom [177]. Činjenica da Ang 1-7 ima vazodilatatorno djelovanje se slaže sa rezultatima da su kod hipotenzivnih pacijenata koji su trebali vazopresornu podršku bazalne vrijednosti i vrijednosti mjerene 7 dana kasnije bili veći u odnosu na pacijente koji nisu bili hipotenzivni i koji nisu trebali vazopresornu terapiju (noradrenalin).

### **Ang 1-9**

Kod ispitanika nije uočena asocijacija između cirkulišućih bazalnih vrijednosti Ang 1-9 i njegove kinetike sa ishodom liječenja, potrebom za invazivnom mehaničkom ventilacijom, komorbiditetima, hemodijalizom i potrebom za vazopresornom terapijom. Već spomenuto istraživanje Karamaga i saradnika takođe nije uočilo razliku u vrijednostima Ang 1-9 između teških formi kovida i kritično oboljelih kovid pacijenata, što je u korelaciji sa našim rezultatima. Ovaj peptid RAAS sistema, po djelovanju sličan Ang 1-7, je imao veće kako

bazalne tako i vrijednosti izmjerene nakon 7 dana u grupama preživjelih, neintubiranih i hemodinamski stabilnih pacijenata, što bi moglo da ukaže da se radi o „dobrom peptidu“ kod kritično oboljelih kovid pacijenata. U eksperimentalnim studijama, Ang 1-9 se pokazao kao antihipertenzivna i kardioprotektivna supstanca, a uz to povećava sintezu NO i poboljšava endotelnu funkciju [178]. Nisu poznati efekti direktnog vezivanja Ang 1-9 za receptor, ali je poznato da djeluje na Mas receptor i AT2R, da stimuliše oslobođanje bradikinina na endotelu, da je kompetitivni inhibitor ACE na način da više dovodi do smanjivanja Ang II nego što dovodi do povećanja Ang 1-7 [179].

## 6.5. ADHEZIONE MOLEKULE

U kontekstu ovog istraživanja, adhezione molekule (VCAM-1 i ICAM-1) su upotrebljene kao jedan od markera endotelne disfunkcije i potencijalni pokazatelji stanja endotela u kovidu. Budući da je inflamacija značajan segment ove bolesti, a imajući u vidu blisku povezanost leukocita i adhezionih molekula, bilo je za očekivati da rezultati pokažu statistički značajnu korelaciju između upoređivanih grupa pacijenata (preživjeli vs. umrli, koji su trebali vs. koji nisu trebali mehaničku ventilaciju, sa komorbiditetima vs. bez komorbiditeta, dijalizirani vs. nedijalizirani, koji su trebali vazopresornu podršku vs. koji nisu trebali vazopresornu podršku). Ipak, iako je nađena određena dinamika rezultata unutar pojedinačnih istih grupa ispitanika (trend pada za VCAM-1 i trend porasta za ICAM-1), značajnih razlika između različitih grupa nije bilo. Sigurno da su na rezultate istraživanja imali uticaj uniformnost studijske grupe i skoro identičan dijagnostičko-terapijski pristup, mada se generalno kod pacijenata oboljelih od kovida prijavljaju povišene vrijednosti adhezionih molekula.

### VCAM-1

Kod ispitanika nije uočena asocijacija između cirkulišućih bazalnih vrijednosti VCAM-1 i njegove kinetike sa ishodom liječenja, potrebom za invazivnom mehaničkom ventilacijom, komorbiditetima, hemodializom i potrebom za vazopresornom terapijom. Iako nema statistički značajne razlike, ipak je uočljiva dinamika rezultata: veće inicialne vrijednosti VCAM-1 su imali ispitanici iz grupe preživjelih, koji nisu trebali invazivnu mehaničku ventilaciju i vazopresornu potporu, dok su sedmog dana liječenja rezultati bili sasvim suprotni - veće vrijednosti su zabilježene kod „težih“ pacijenata (koji su umrli, bili intubirani i hemodinamski nestabilni). Potencijalno objašnjenje za ovakav nalaz je da su „teži“ pacijenti

imali izraženiju endotelnu disfunkciju i da se stanje endotela nije popravljalo tokom vremena. Iako prisustvo/odsustvo komorbiditeta inicijalno nije uticalo na dobijene vrijednosti VCAM-1, nakon 7 dana vrijednosti su bile veće kod ispitanika sa komorbiditetima, što se takođe može objasniti izraženijom endotelnom disfunkcijom od ranije „izmjenjenog“ endotela. Što se tiče hemodijalize, pacijenti koji su dijализirani su imali veće i inicijalne i vrijednosti nakon 7 dana u odnosu na ispitanike koji nisu dijализirani. U radu grupe italijanskih autora koji su proučavali asocijaciju markera endotelne disfunkcije i mortaliteta kovid pacijenata, multivarijantnom analizom se VCAM-1 pokazao kao jedini nezavisni biomarker koji je povezan sa mortalitetom[180]. Smatra se da povećanje VCAM-1 promoviše regrutaciju leukocita čime se povećava vaskularna permeabilnost, oštećenje tkiva i dalje oslobođanje proinflamatornih citokina, što sve zajedno doprinosi mortalitetu. Ovo se slaže sa rezultatima našeg istraživanja, gdje su sedmog dana liječenja veće vrijednosti imali „teži“ pacijenti. Sistematski pregled i metaanaliza grupe grčkih autora je istraživala povezanost cirkulišućih endotelnih biomarkera i težine kovida, te između ostalog, utvrdila veće vrijednosti VCAM-1 kod kritično oboljelih u odnosu na blaže forme kovida, što govori o snažnoj povezanosti između VCAM-1 i težine bolesti. [181]. Ono što je u našem istraživanju interesantno je činjenica da se generalno bilježi statistički značajan trend pada VCAM-1 između pojedinačnih grupa ispitanika za sve posmatrane varijable (preživljavanje, mehanička ventilacija, komorbiditeti, hemodijaliza, potreba za vazopresornom podrškom). Moguće je da je navedeni nalaz povezan sa upotrebotom kortikosteroida kojima su ispitanici liječeni u skladu sa nacionalnim preporukama za liječenje kovida, na način da se pod djelovanjem kortikosteroida smanjuje ekspresija adhezionih molekula.

## **ICAM-1**

Kod ispitanika nije uočena asocijacija između cirkulišućih bazalnih vrijednosti ICAM-1 i njegove kinetike sa ishodom liječenja, potrebom za invazivnom mehaničkom ventilacijom, komorbiditetima, hemodijalizom i potrebom za vazopresornom terapijom. Ni za jedan ispitivani biomarker endotelne disfunkcije nije nađena veća sličnost između bazalnih i vrijednosti mjerentih 7 dana kasnije za posmatrane različite kategorije od ICAM-1 (npr. preživjeli vs. umrli, koji su trebali mehaničku ventilaciju vs. koji nisu trebali mehaničku ventilaciju, itd.). Prema ovim rezultatima, generalni utisak je da su vrijednosti ICAM-1 povištene kod svih kritično oboljelih kovid pacijenata, te da dinamika nalaza ne može imati prognostički značaj. U naprijed spomenutoj metaanalizi grčkih autora zapaženo je da su

vrijednosti ICAM-1 bile povišene kod kritično oboljelih kovid pacijenta u odnosu na kovid pacijente koji nisu kritično oboljeli, mada ova razlika nije bila statistički značajna. Međutim, u radu grupe kineskih autora, nađene su povišene vrijednosti ICAM-1 (kao i VCAM-1) kod kovid pacijenta, kao i korelacija težine kovida sa ICAM-1 (kao i VCAM-1), uz redukciju vrijednosti obe adheziona molekula sa oporavkom od kovida [182]. Ono što je interesantno je zapažanje da za razliku od vrijednosti VCAM-1 gdje se unutar pojedinačnih grupa bilježi tendencija pada vrijednosti, za ICAM-1 se tokom vremena bilježi statistički značajan porast unutar pojedinačnih grupa ispitanika (npr. samo preživjeli, samo umrli, itd.), osim za kategorije pacijenti bez komorbiditeta i koji su dijalizirani. Objasnjenje za ovakav nalaz je povećana ekspresija nastala pod uticajem inflamatornih citokina i reaktivnih kiseoničnih radikala, što je zapaženo u ranijim istraživanjima [183].

## 6.6 LEPTIN I ADIPONEKTIN

Adipokini, leptin i adiponektin, u kontekstu ovog istraživanja su posmatrani kroz okvir inflamacije koja je jako važan faktor za tok i ishod bolesti kritično oboljelih kovid pacijenta. Ove citokine (hormone) najvećim dijelom sekretuje bijelo masno tkivo i uključenu su u regulaciju različitih metaboličkih procesa u tijelu. Za leptin se smatra da ima više uloga: regulacija sitosti i apetita (više masnog tkiva znači veće količine leptina što posljedično smanjuje osjećaj gladi), ulogu u inflamaciji (ponaša se kao proinflamatorna molekula i povišene vrijednosti imaju značaja u proinflamatornim stanjima, kao što su gojaznost, metabolički sindrom, sepsa i dr.), djeluje na imuni odgovor (aktivira urođeni i stečeni imunitet), dok se u svjetlu kovida hiperleptinemija smatra karakteristikom teško oboljelih kovid pacijenata. Što se tiče adiponektina, on je uključen u metabolizam glukoze (povećava osjetljivost na insulin, redukuje glukoneogenezu, podstiče glikolizu, preuzimanje glukoze od strane mišića), masti (smanjuje lipogenezu, podstiče oksidaciju masnih kiselina), inflamaciju (za razliku od leptina, adiponektin posjeduje antiinflamatorna svojstva), dok su njegove smanjene vrijednosti nađene kod teških kovid pacijenata.

Posmatrajući rezultate našeg istraživanja, u kontekstu prognoze bolesti, adiponektin ima daleko veći značaj od leptina i njegova dinamika se može iskoristiti u kliničkoj praksi za predikciju ishoda i komplikacija bolesti. Ipak, na rezultate istraživanja su potencijalno uticaj mogli imati prisutni komorbiditeti, terapija (npr. insulin, kortikosteroidi) i uzorak ispitanika (veličina uzorka, kao i činjenica da su analizirani svi pacijenti, a ne samo gojazni). Treba se napomenuti da nema publikacija koji su proučavali dinamiku adipokina kod kovida.

## **Leptin**

Kod ispitanika nije uočena značajna korelacija između cirkulišućih bazalnih vrijednosti leptina i njegove dinamike sa ishodom liječenja, potrebom za invazivnom mehaničkom ventilacijom, komorbiditetima, hemodijalizom i potrebom za vazopresornom terapijom. U istraživanju grupe italijanskih autora koji su poredili vrijednosti leptina (i adiponektina) između zdravih i kritično oboljelih kovid pacijenata su nađene statistički značajno veće vrijednosti leptina kod kritično oboljelih kovid pacijenata [184]. U radu holandskih istraživača nije nađena statistički značajna razlika za vrijednosti leptina između kritično oboljelih kovid i nekovid pacijenata, kao ni razlika između vrijednosti leptina i težine kovida ili povezanost cirkulišućih vrijednosti leptina sa mortalitetom, što se slaže sa našim istraživanjem [185]. Veće bazalne vrijednosti su imali ispitanici koji su preživjeli, nisu trebali invazivnu mehaničku ventilaciju, nisu trebali hemodijalizu, niti vazopresoru podršku i koji su imali neki od komorbiditeta, dok su 7. dana veće vrijedosti leptina imali umrli ispitanici, koji nisu trebali invazivnu mehaničku ventilaciju, hemodijalizu, vazopresoru podršku i koji nisu imali komorbiditet. Statistički značajna razlika se bilježi samo za kategoriju hemodijalize u smislu statistički značajnog pada vrijednosti leptina sedmog dana za pacijente koji su dijalizirani, što se tumači uklanjanjem leptina pomoću kontinuirane veno-venske hemodijafiltracije sa visoko-protočnim filterima. Kada se posmatraju vrijednosti leptina unutar pojedinačnih kategorija (npr. samo preživjeli, samo umrli, itd) postoji tendencija pada tokom vremena, što se može tumačiti pojačanim katabolizmom i malnutricijom (zbog respiratorne mehanike, hipoksemije i bolesti ovi pacijenti su često imali slab apetit i manji unos hranjivih materija u odnosu na veliku potrošnju ili kao rezultat primjenjenih protokola liječenja (npr. terapija kortikosteroidima).

## **Adiponektin**

Kod ispitanika nije uočena korelacija između bazalnih vrijednosti adiponektina sa ishodom liječenja, potrebom za mehaničkom ventilacijom, komorbiditetima, hemodijalizom ili vazopresornom terapijom. Slično zapažanje je imala prethodno spomenuta grupa holandskih autora, koja takođe nije uočila povezanost sa adiponektina sa mortalitetom. Ipak, vrlo važno zapažanje u našem istraživanju je korelacija trenda vrijednosti adiponektina i ishoda liječenja. Dobijeni rezultati pokazuju da je trend pada adiponektina tokom vremena kod kritično oboljelih kovid pacijenata u korelaciji sa lošim ishodom bolesti ( $p= 0,000$ ), potrebom za invazivnom mehičkom ventilacijom ( $p= 0,000$ ) i potrebom za vazopresornom terapijom ( $p= 0,000$ ). Na osnovu navedenog, dinamika adiponektina se može koristiti u svakodnevnom

kliničkom radu za praćenje progresije bolesti i predikciju ishoda liječenja. Slične rezultate je imala grupa njemačkih istraživača, koja je predložila adiponektin dodatnim biomarkerom koji se može koristiti za praćenje težine bolesti (zapaženo je smanjenje serumskih vrijednosti adiponektina kod kritično oboljelih kovid pacijenata) [186].

## **7. ZAKLJUČCI**

Ispitanici sa teškim formama kovid pneumonije imaju istovremeno prisutna brojna odstupanja u biohemiskim analizama krvi, markerima endotelne funkcije i oksidativnog stresa. Inicijalno određivanje, periodično ponavljanje i analiza trenda dobijenih nalaza može poslužiti za predikciju toka bolesti i krajnjeg ishoda.

Na osnovu prikazanih rezultata opservacione studije kod kritično oboljelih pacijenta od SARS-CoV-2 pneumonije, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- 1.** Umrli pacijenti su dominantno imali nekontrolisanu inflamaciju i koagulopatiju, uz generalno veća odstupanja nalaza u odnosu na preživjele pacijente. Praćenje trenda ispitivanih parametara ima veći prognostički značaj od pojedinačnih vrijednosti. Adhezije molekule, peptidi RAAS sistema i markeri oksidativnog stresa su bili slični kod umrlih i preživjelih pacijenata i nisu imali prediktivnu vrijednost.
- 2.** Prisustvo komorbiditeta kod ispitanika ne utiče značajno na markere endotelne disfunkcije, oksidativnog stresa i peptide RAAS. Izuzetak je Ang II čija je ravnoteža narušena prisustvom komorbiditeta (u našoj grupi su bili dominantni hipertenzija i dijabetes).
- 3.** Intubacija i invazivna mehanička ventilacija su povezani sa nekontrolisanom inflamacijom i koagulopatijom, a nisu povezani sa ostalim markerima endotelne funkcije, oksidativnog stresa i peptidima RAAS. Trend pada adiponektina je povezan sa invazivnom mehaničkom ventilacijom.
- 4.** Akutne hemodialize su povezane sa nekontrolisanom inflamacijom i koagulopatijom, a nisu povezane sa ostalim markerima endotelne funkcije i oksidativnog stresa. Akutne dijalize dovode do smanjenja ACE i leptina.
- 5.** Vazopresorna terapija je povezana sa nekontrolisanom inflamacijom i koagulopatijom, a nije povezana sa ostalim markerima endotelne funkcije, oksidativnog stresa i peptidima RAAS. Trend pada adiponektina je povezan sa upotrebo vazopresorne terapije.

## 8 LITERATURA

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel Coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382(8):727–33.
2. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020; 395(10223): 507-513.
3. Lu R, et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 395, 565–574 (2020).
4. Covid-19. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications>
5. Coronavirus cases. 2020. <https://www.worldometers.info/coronavirus/>
6. Korona virus COVID-19. <https://www.phi.rs.ba/>
7. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2019 Mar;17(3):181-192. doi: 10.1038/s41579-018-0118-9.
8. Peng XL, Cheng JS, Gong HL, Yuan MD, Zhao XH, Li Z, Wei DX. Advances in the design and development of SARS-CoV-2 vaccines. *Mil Med Res.* 2021 Dec 16;8(1):67. doi: 10.1186/s40779-021-00360-1.
9. Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, Lely AT, Navis G, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol.* 2004 Jun;203(2):631-7. doi: 10.1002/path.1570.
10. Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med.* 2020 Apr;14(2):185-192. doi: 10.1007/s11684-020-0754-0.
11. Li MY, Li L, Zhang Y, Wang XS. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infect Dis Poverty.* 2020 Apr 28;9(1):45. doi: 10.1186/s40249-020-00662-x.
12. Shang J, Wan Y, Luo C, Ye G, Geng Q, Auerbach A, Li F. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020 May 26;117(21):11727-11734. doi: 10.1073/pnas.2003138117.
13. Bohn MK, Hall A, Sepiashvili L, Jung B, Steele S, Adeli K. Pathophysiology of COVID-19: Mechanisms Underlying Disease Severity and Progression. *Physiology (Bethesda).* 2020 Sep 1;35(5):288-301. doi: 10.1152/physiol.00019.2020.
14. Gong J, Dong H, Xia QS, Huang ZY, Wang DK, Zhao Y, Liu WH, Tu SH, Zhang MM, Wang Q, Lu FE. Correlation analysis between disease severity and inflammation-related

parameters in patients with COVID-19: a retrospective study. *BMC Infect Dis.* 2020 Dec 21;20(1):963. doi: 10.1186/s12879-020-05681-5.

15. Wang C, Fei D, Li X, Zhao M, Yu K. IL-6 may be a good biomarker for earlier detection of COVID-19 progression. *Intensive Care Med.* 2020 Jul;46(7):1475-1476. doi: 10.1007/s00134-020-06065-8.
16. Parimoo A, Biswas A, Baitha U, Gupta G, Pandey S, Ranjan P, Gupta V, Barman Roy D, Prakash B, Wig N. Dynamics of Inflammatory Markers in Predicting Mortality in COVID-19. *Cureus.* 2021 Oct 27;13(10):e19080. doi: 10.7759/cureus.19080.
17. Henry BM, de Oliveira MHS, Benoit S, Plebani M, Lippi G. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2020 Jun 25;58(7):1021-1028. doi: 10.1515/cclm-2020-0369.
18. Mazzoni A, Salvati L, Maggi L, Capone M, Vanni A, Spinicci M, Mencarini J, Caporale R, Peruzzi B, Antonelli A, Trotta M, Zammarchi L, Ciani L, Gori L, Lazzeri C, Matucci A, Vultaggio A, Rossi O, Almerigogna F, Parronchi P, Fontanari P, Lavorini F, Peris A, Rossolini GM, Bartoloni A, Romagnani S, Liotta F, Annunziato F, Cosmi L. Impaired immune cell cytotoxicity in severe COVID-19 is IL-6 dependent. *J Clin Invest.* 2020 Sep 1;130(9):4694-4703. doi: 10.1172/JCI138554.
19. Musuuza JS, Watson L, Parmasad V, Putman-Buehler N, Christensen L, Safdar N. Prevalence and outcomes of co-infection and superinfection with SARS-CoV-2 and other pathogens: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2021 May 6;16(5):e0251170. doi: 10.1371/journal.pone.0251170.
20. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, Mehra M R, Schuepbach RA, Ruschitzka F & Moch H (2020). Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet,* 395(10234), 1417–1418. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5).
21. Pons S, Fodil S, Azoulay E & Zafrani L (2020). The vascular endothelium: the cornerstone of organ dysfunction in severe SARS-CoV-2 infection. *Critical Care (London, England)*, 24(1), 353. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03062-7>.
22. Loo J, Spittle DA, Newham M. COVID-19, immunothrombosis and venous thromboembolism: biological mechanisms. *Thorax* 2021;76:412-420.
23. Miesbach W. Pathological Role of Angiotensin II in Severe COVID-19. *TH Open.* 2020 Jun 26;4(2):e138-e144. doi: 10.1055/s-0040-1713678.

24. Osuchowski MF, Winkler MS, Skirecki T, Cajander S, Shankar-Hari M, Lachmann G, Monneret G, Venet F, Bauer M, Brunkhorst FM, Weis S, Garcia-Salido A, Kox M, Cavaillon JM, Uhle F, Weigand MA, Flohé SB, Wiersinga WJ, Almansa R, de la Fuente A, Martin-Lloches I, Meisel C, Spinetti T, Schefold JC, Cilloniz C, Torres A, Giamarellos-Bourboulis EJ, Ferrer R, Girardis M, Cossarizza A, Netea MG, van der Poll T, Bermejo-Martín JF, Rubio I. The COVID-19 puzzle: deciphering pathophysiology and phenotypes of a new disease entity. *Lancet Respir Med.* 2021 Jun;9(6):622-642. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00218-6.
25. Loo J, Spittle DA, Newnham M. COVID-19, immunothrombosis and venous thromboembolism: biological mechanisms. *Thorax* 2021;76:412-420.
26. Meizoso JP, Moore HB, Moore EE. Fibrinolysis Shutdown in COVID-19: Clinical Manifestations, Molecular Mechanisms, and Therapeutic Implications. *J Am Coll Surg.* 2021 Jun;232(6):995-1003. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2021.02.019.
27. Ochs M, Timm S, Elezkurtaj S, Horst D, Meinhardt J, Heppner FL, Weber-Carstens S, Hocke AC, Witzenrath M. Collapse induration of alveoli is an ultrastructural finding in a COVID-19 patient. *Eur Respir J.* 2021 May 6;57(5):2004165. doi: 10.1183/13993003.04165-2020.
28. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, Vanstapel A, Werlein C, Stark H, Tzankov A, Li WW, Li VW, Mentzer SJ, Jonigk D. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med.* 2020 Jul 9;383(2):120-128. doi: 10.1056/NEJMoa2015432.
29. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Mariette X. Systemic and organ-specific immune-related manifestations of COVID-19. *Nat Rev Rheumatol.* 2021 Jun;17(6):315-332. doi: 10.1038/s41584-021-00608-z.
30. Salzberger B, Buder F, Lampl B, Ehrenstein B, Hitzenbichler F, Holzmann T, Schmidt B, Hanses F. Epidemiology of SARS-CoV-2. *Infection.* 2021 Apr;49(2):233-239.
31. Wu Y, Kang L, Guo Z, Liu J, Liu M, Liang W. Incubation Period of COVID-19 Caused by Unique SARS-CoV-2 Strains: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open.* 2022;5(8):e2228008. doi:10.1001/jamanetworkopen.2022.28008.
32. Johnson H, Garg M, Shantikumar S, Thachil J, Rai B, Aboumarzouk OM, et al. COVID-19 (SARS-CoV-2) in Non-Airborne body fluids: A systematic review & Meta-analysis. *Turk J Urol [En ligne].* 2021;47(2):87–97.
33. Sinaci S, Ocal DF, Seven B, Anuk AT, Besimoglu B, Keven MC, Goncu Ayhan S, Akin MS, Tayman C, Keskin HL, Yapar Eyi EG, Dinc B, Moraloglu Tekin O, Sahin D. Vertical

- transmission of SARS-CoV-2: A prospective cross-sectional study from a tertiary center. *J Med Virol.* 2021 Oct;93(10):5864-5872.
34. Viana Martins CP, Xavier CSF, Cobrando L. Disinfection methods against SARS-CoV-2: a systematic review. *J Hosp Infect.* 2022 Jan;119:84-117. doi: 10.1016/j.jhin.2021.07.014.
35. Aboubakr HA, Sharafeldin TA, Goyal SM. Stability of SARS-CoV-2 and other coronaviruses in the environment and on common touch surfaces and the influence of climatic conditions: A review. *Transbound Emerg Dis.* 2021 Mar;68(2):296-312. doi: 10.1111/tbed.13707.
36. Marzoli F, Bortolami A, Pezzuto A, Mazzetto E, Piro R, Terregino C, Bonfante F, Belluco S. A systematic review of human coronaviruses survival on environmental surfaces. *Sci Total Environ.* 2021 Jul 15;778:146191. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.146191.
37. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA.* 2020; 323(13):1239–1242.
38. Ranzani OT, Bastos LSL, Gelli JGM, Marchesi JF, Baião F, Hamacher S, Bozza FA. Characterisation of the first 250,000 hospital admissions for COVID-19 in Brazil: a retrospective analysis of nationwide data. *Lancet Respir Med.* 2021 Apr;9(4):407-418.
39. Yang J, Zheng Y, Gou X, Pu K, Chen Z, Guo Q, Ji R, Wang H, Wang Y, Zhou Y. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2020 May;94:91-95.
40. Mehta OP, Bhandari P, Raut A, Kacimi SEO, Huy NT. Coronavirus Disease (COVID-19): Comprehensive Review of Clinical Presentation. *Front Public Health.* 2021 Jan 15;8:582932.
41. UpToDate: COVID-19: Epidemiology, clinical features, and prognosis of the critically ill adult.
42. Gattinoni L, Chiumello D, Caironi P, Busana M, Romitti F, Brazzi L, et al. COVID-19 pneumonia: different respiratory treatment for different phenotypes? *Intensive Care Med*[online ahead of print] 14 Apr 2020.
43. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020 Feb 15;395(10223):497-506.
44. Milenković M, Hadzibegovic A, Kovac M, Jovanovic B, Stanisavljević J, Djikic M, Sijan Dj, Ladjevic N, Palibrk I, Djukanovic M, Velickovic J, Ratkovic S, Brajkovic M, Popadic V, Klasnja S, Toskovic B, Zdravkovic D, Crnokrak B, Markovic O, Zdravkovic M. D-dimer, CRP,

- PCT, and IL-6 Levels at Admission to ICU Can Predict In-Hospital Mortality in Patients with COVID-19 Pneumonia. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022; 1-9. doi: 10.1155/2022/8997709.
45. COVID-ICU Group on behalf of the REVA Network and the COVID-ICU Investigators. Clinical characteristics and day-90 outcomes of 4244 critically ill adults with COVID-19: a prospective cohort study. *Intensive Care Med*. 2021 Jan;47(1):60-73.
46. Li J, He X, Yuan Yuan, Zhang W, Li X, Zhang Y, Li S, Guan C, Gao Z, Dong G. Meta-analysis investigating the relationship between clinical features, outcomes, and severity of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) pneumonia. *Am J Infect Control*. 2021 Jan;49(1):82-89.
47. Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, Huang H, Zhang L, Zhou X, Du C, Zhang Y, Song J, Wang S, Chao Y, Yang Z, Xu J, Zhou X, Chen D, Xiong W, Xu L, Zhou F, Jiang J, Bai C, Zheng J, Song Y. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*. 2020 Jul 1;180(7):934-943.
48. Melo AKG, Milby KM, Caparroz ALMA, Pinto ACPN, Santos RRP, Rocha AP, Ferreira GA, Souza VA, Valadares LDA, Vieira RMRA, Pileggi GS, Trevisani VFM. Biomarkers of cytokine storm as red flags for severe and fatal COVID-19 cases: A living systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2021 Jun 29;16(6):e0253894.
49. Mudatsir M, Fajar JK, Wulandari L, Soegiarto G, Ilmawan M, Purnamasari Y, Mahdi BA, Jayanto GD, Suhendra S, Setianingsih YA, Hamdani R, Suseno DA, Agustina K, Naim HY, Muchlas M, Alluza HHD, Rosida NA, Mayasari M, Mustofa M, Hartono A, Aditya R, Prastiwi F, Meku FX, Sitio M, Azmy A, Santoso AS, Nugroho RA, Gersom C, Rabaan AA, Masyeni S, Nainu F, Wagner AL, Dhama K, Harapan H. Predictors of COVID-19 severity: a systematic review and meta-analysis. *F1000Res*. 2020 Sep 9;9:1107. doi: 10.12688/f1000research.26186.2.
50. <https://radiopaedia.org/articles/covid-19-4>
51. WHO-2019-nCoV-lab-testing-2021.1-eng.pdf.
52. Rodriguez-Guerra M, Jadhav P, Vittorio TJ. Current treatment in COVID-19 disease: a rapid review. *Drugs Context*. 2021 Jan 29;10:2020-10-3. doi: 10.7573/dic.2020-10-3.
53. RECOVERY Collaborative Group. Dexamethasone in hospitalized patients with COVID-19. *N Engl J Med*. 2021;384(8):693-704.
54. Cronin JN, Camporota L, Formenti F. Mechanical ventilation in COVID-19: A physiological perspective. *Exp Physiol*. 2022 Jul;107(7):683-693. doi: 10.1113/EP089400.

55. Ramanathan K, Shekar K, Ling RR, Barbaro RP, Wong SN, Tan CS, Rochwerg B, Fernando SM, Takeda S, MacLaren G, Fan E. Extracorporeal membrane oxygenation for COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Critical care*. 2021 Dec;25(1):1-1.
56. Longobardo A, Montanari C, Shulman R, Benhalim S, Singer M, Arulkumaran N. Inhaled nitric oxide minimally improves oxygenation in COVID-19 related acute respiratory distress syndrome. *British Journal of Anaesthesia*. 2021 Jan 1;126(1):e44-6.
57. <https://ourworldindata.org/covid-vaccinations?country=BIH>
58. Zanella A, Florio G, Antonelli M, Bellani G, Berselli A, Bove T, et al. Time course of risk factors associated with mortality of 1260 critically ill patients with COVID-19 admitted to 24 Italian intensive care units. *Intensive Care Med [En ligne]*. 2021;47(9):995–1008.
59. COVID-ICU Group on behalf of the REVA Network and the COVID-ICU Investigators. Clinical characteristics and day-90 outcomes of 4244 critically ill adults with COVID-19: a prospective cohort study. *Intensive Care Med*. 2021 Jan;47(1):60-73.
60. Larsson E, Brattström O, Agvald-Öhman C, Grip J, Campoccia Jalde F, Strålin K, Nauclér P, Oldner A, Konrad D, Persson BP, Eriksson LI, Mårtensson J; Karolinska Intensive Care COVID-19 Study Group. Characteristics and outcomes of patients with COVID-19 admitted to ICU in a tertiary hospital in Stockholm, Sweden. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2021 Jan;65(1):76-81.
61. McCauley P, Mohammed A, Casey M, Ramadan E, Galvin S, O'Neill JP, Curley G, Sulaiman I, O'Brien ME, O'Rourke J. Tracheostomy insertion in COVID-19: insertion practice and factors leading to unplanned tube exchange. *J Thorac Dis*. 2023 Feb 28;15(2):410-422. doi: 10.21037/jtd-22-896.
62. Eriksson KE, Campoccia-Jalde F, Rysz S, Rimes-Stigare C. Continuous renal replacement therapy in intensive care patients with COVID-19; survival and renal recovery. *J Crit Care*. 2021 Aug;64:125-130. doi: 10.1016/j.jcrc.2021.04.002.
63. Chan L, Chaudhary K, Saha A, Chauhan K, Vaid A, Zhao S, Paranjpe I, Soman S, Richter F, Miotto R, Lala A, Kia A, Timsina P, Li L, Freeman R, Chen R, Narula J, Just AC, Horowitz C, Fayad Z, Cordon-Cardo C, Schadt E, Levin MA, Reich DL, Fuster V, Murphy B, He JC, Charney AW, Böttlinger EP, Glicksberg BS, Coca SG, Nadkarni GN; on behalf of the Mount Sinai COVID Informatics Center (MSCIC). AKI in Hospitalized Patients with COVID-19. *J Am Soc Nephrol*. 2021 Jan;32(1):151-160. doi: 10.1681/ASN.2020050615.
64. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers DAMPJ, Kant KM, Kaptein FHJ, van Paassen J, Stals MAM, Huisman MV, Endeman H. Incidence of thrombotic

- complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res.* 2020 Jul;191:145-147. doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.013.
65. Bertini P, Guerracino F, Falcone M, Nardelli P, Landoni G, Nocci M, Paternoster G. ECMO in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2022 Aug;36(8 Pt A):2700-2706. doi: 10.1053/j.jvca.2021.11.006.
66. Armstrong RA, Kane AD, and Cook TM (2020). Outcomes from intensive care in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Anaesthesia*, 75: 1340-1349. <https://doi.org/10.1111/anae.15201>.
67. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, Xie C, Ma K, Shang K, Wang W, Tian DS. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 2020 Jul 28;71(15):762-768. doi: 10.1093/cid/ciaa248.
68. Smjernice za liječenje pacijenata sa COVID-19. Četvrto izdanje. Medicinski fakultet Univerziteta u Banja Luci. Banja Luka, 02/2021.
69. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, Squadrato F, Altavilla D, Bitto A. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:8416763. doi: 10.1155/2017/8416763.
70. Khomich OA, Kochetkov SN, Bartosch B, Ivanov AV. Redox Biology of Respiratory Viral Infections. *Viruses.* 2018 Jul 26;10(8):392. doi: 10.3390/v10080392.
71. Sies H. Biochemistry of oxidative stress. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 25: 1058–1071, 1986.
72. Chaudhary P, Janmeda P, Docea AO, Yeskaliyeva B, Abdull Razis AF, Modu B, Calina D, Sharifi-Rad J. Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Front Chem.* 2023 May 10;11:1158198. doi: 10.3389/fchem.2023.1158198.
73. Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India.* 2004 Oct;52:794-804.
74. Lü JM, Lin PH, Yao Q, Chen C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *J Cell Mol Med.* 2010 Apr;14(4):840-60. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x.
75. Yung LM, Leung FP, Yao X, Chen ZY, Huang Y. Reactive oxygen species in vascular wall. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2006 Mar;6(1):1-19. doi: 10.2174/187152906776092659.

76. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, Dhama K. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed Res Int.* 2014;2014:761264. doi: 10.1155/2014/761264.
77. Palozza P. Prooxidant Actions of Carotenoids in Biologic Systems, *Nutrition Reviews*, Volume 56, Issue 9, September 1998, Pages 257–265.
78. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett.* 2000 Dec 1;486(1):10-3. doi: 10.1016/s0014-5793(00)02197-9.
79. Pravda J. Hydrogen peroxide and disease: towards a unified system of pathogenesis and therapeutics. *Mol Med.* 2020 May 7;26(1):41. doi: 10.1186/s10020-020-00165-3.
80. Lismont C, Revenco I, Fransen M. Peroxisomal Hydrogen Peroxide Metabolism and Signaling in Health and Disease. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019; 20(15):3673. <https://doi.org/10.3390/ijms20153673>.
81. Hayyan M, Hashim MA, AlNashef IM. Superoxide Ion: Generation and Chemical Implications. *Chem Rev.* 2016 Mar 9;116(5):3029-85.
82. Kiran T, Otlu O, Karabulut A. Oxidative stress and antioxidants in health and disease. *Journal of Laboratory Medicine.* 2023;47(1): 1-11.
83. Azat Aziz M, Shehab Diab A, Abdulrazak Mohammed A. Antioxidant Categories and Mode of Action [Internet]. *Antioxidants.* IntechOpen; 2019. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.83544>.
84. Noor R, Mittal S, Iqbal J. Superoxide dismutase--applications and relevance to human diseases. *Med Sci Monit.* 2002 Sep;8(9):RA210-5.
85. Younus H. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *Int J Health Sci (Qassim).* 2018 May-Jun;12(3):88-93.
86. Rosa AC, Corsi D, Cavi N, Bruni N, Dosio F. Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses. *Molecules.* 2021; 26(7):1844.
87. Nandi A, Yan LJ, Jana CK, Das N. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxid Med Cell Longev.* 2019 Nov 11;2019:9613090. doi: 10.1155/2019/9613090.
88. Margaritelis NV, Paschalis V, Theodorou AA, Vassiliou V, Kyparos A, Nikolaidis MG. Rapid decreases of key antioxidant molecules in critically ill patients: A personalized approach. *Clin Nutr.* 2020 Apr;39(4):1146-1154. doi: 10.1016/j.clnu.2019.04.029.
89. Biasi F, Chiarpotto E, Lanfranco G, Capra A, Zummo U, Chiappino I, Scavazza A, Albano E, Poli G. Oxidative stress in the development of human ischemic hepatitis during circulatory shock. *Free Radic Biol Med.* 1994 Sep;17(3):225-33. doi: 10.1016/0891-5849(94)90078-7.

90. Dony CA, Illipparambil LC, Maeda T, Mroczek SK, Rovitelli A, Wexler O, Malnoske M, Bice T, Fe AZ, Storms CR, Zhang J, Schultz RD, Pietropaoli AP. Plasma Nitric Oxide Consumption Is Elevated and Associated With Adverse Outcomes in Critically Ill Patients. *Crit Care Med.* 2023 Dec 1;51(12):1706-1715. doi: 10.1097/CCM.0000000000006006.
91. Mihaljevic O, Zivancevic-Simonovic S, Jovanovic D, Drakulic SM, Vukajlovic JT, Markovic A, Pirkovic MS, Srejovic I, Jakovljevic V, Milosevic-Djordjevic O. Oxidative stress and DNA damage in critically ill patients with sepsis. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2023 Jul;889:503655. doi: 10.1016/j.mrgentox.2023.503655.
92. Piko N, Bevc S, Hojs R, Ekart R. The Role of Oxidative Stress in Kidney Injury. *Antioxidants.* 2023; 12(9):1772. <https://doi.org/10.3390/antiox12091772>.
93. Asfar P, Schortgen F, Boisramé-Helms J, Charpentier J, Guérot E, Megarbane B, Grimaldi D, Grelon F, Anguel N, Lasocki S, Henry-Lagarrigue M, Gonzalez F, Legay F, Guitton C, Schenck M, Doise JM, Devaquet J, Van Der Linden T, Chatellier D, Rigaud JP, Dellamonica J, Tamion F, Meziani F, Mercat A, Dreyfuss D, Seegers V, Radermacher P; HYPER2S Investigators; REVA research network. Hyperoxia and hypertonic saline in patients with septic shock (HYPERS2S): a two-by-two factorial, multicentre, randomised, clinical trial. *Lancet Respir Med.* 2017 Mar;5(3):180-190. doi: 10.1016/S2213-2600(17)30046-2. Epub 2017 Feb 15. Erratum in: *Lancet Respir Med.* 2017 Aug;5(8):e28.
94. Georgieva E, Ananiev J, Yovchev Y, Arabadzhiev G, Abrashev H, Abrasheva D, Atanasov V, Kostandieva R, Mitev M, Petkova-Parlapanska K, Karamalakova Y, Koleva-Korkelia I, Tsoneva V, Nikolova G. COVID-19 Complications: Oxidative Stress, Inflammation, and Mitochondrial and Endothelial Dysfunction. *Int J Mol Sci.* 2023 Oct 4;24(19):14876. doi: 10.3390/ijms241914876.
95. Laforge M, Elbim C, Frère C, Hémadi M, Massaad C, Nuss P, Benoliel JJ, Becker C. Tissue damage from neutrophil-induced oxidative stress in COVID-19. *Nat Rev Immunol.* 2020 Sep;20(9):515-516. doi: 10.1038/s41577-020-0407-1. Erratum in: *Nat Rev Immunol.* 2020 Aug 10.
96. Daskaya H, Yilmaz S, Uysal H, Calim M, Sümbül B, Yurtsever I, Karaaslan K. Usefulness of oxidative stress marker evaluation at admission to the intensive care unit in patients with COVID-19. *J Int Med Res.* 2021 Jul;49(7):3000605211027733. doi: 10.1177/03000605211027733.
97. Mehri F, Rahbar AH, Ghane ET, Souri B, Esfahani M. Changes in oxidative markers in COVID-19 patients. *Arch Med Res.* 2021 Nov;52(8):843-849. doi: 10.1016/j.arcmed.2021.06.004.

98. Karkhanei B, Talebi Ghane E, Mehri F. Evaluation of oxidative stress level: total antioxidant capacity, total oxidant status and glutathione activity in patients with COVID-19. *New Microbes New Infect.* 2021 Jul;42:100897. doi: 10.1016/j.nmni.2021.100897.
99. Ostojić M, Kanjuh V, Beleslin B. Kardiologija, Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2011.
100. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, Ganz P. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med.* 1986 Oct 23;315(17):1046-51. doi: 10.1056/NEJM198610233151702.
101. Wang L, Cheng CK, Yi M, Lui KO, Huang Y. Targeting endothelial dysfunction and inflammation. *J Mol Cell Cardiol.* 2022 Jul;168:58-67. doi: 10.1016/j.yjmcc.2022.04.011.
102. Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, Creager MA, Deanfield J, Ganz P, Hamburg NM, Lüscher TF, Shechter M, Taddei S, Vita JA, Lerman A. The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation.* 2012 Aug 7;126(6):753-67. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.093245.
103. Hadi HA, Carr CS, Al Suwaidi J. Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. *Vasc Health Risk Manag.* 2005;1(3):183-98.
104. Theofilis P, Sagris M, Oikonomou E, Antonopoulos AS, Siasos G, Tsiofis C, Tousoulis D. Inflammatory Mechanisms Contributing to Endothelial Dysfunction. *Biomedicines.* 2021 Jul 6;9(7):781. doi: 10.3390/biomedicines9070781.
105. Otifi HM, Adiga BK. Endothelial Dysfunction in Covid-19 Infection. *Am J Med Sci.* 2022 Apr;363(4):281-287. doi: 10.1016/j.amjms.2021.12.010.
106. Blair P, Rex S, Vitseva O, Beaulieu L, Tanriverdi K, Chakrabarti S, Hayashi C, Genco CA, Iafrati M, Freedman JE. Stimulation of Toll-like receptor 2 in human platelets induces a thromboinflammatory response through activation of phosphoinositide 3-kinase. *Circ Res.* 2009 Feb 13;104(3):346-54. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.185785.
107. Esmon CT. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol.* 2005 Nov;131(4):417-30. doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05753.x.
108. Zhang R, Ni L, Di X, Wang X, Ma B, Niu S, Liu C. Systematic review and meta-analysis of the prevalence of venous thromboembolic events in novel coronavirus disease-2019 patients. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord.* 2021 Mar;9(2):289-298.e5. doi: 10.1016/j.jvsv.2020.11.023.
109. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers D, Kant KM, Kaptein FJH, van Paassen J, Stals MAM, Huisman MV, Endeman H. Confirmation of the high cumulative incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-

- 19: An updated analysis. *Thromb Res.* 2020 Jul;191:148-150. doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.041.
110. Iba T, Levy JH, Levi M, Connors JM, Thachil J. Coagulopathy of Coronavirus Disease 2019. *Crit Care Med.* 2020 Sep;48(9):1358-1364. doi: 10.1097/CCM.0000000000004458.
111. Fan BE, Ng J, Chan SSW, Christopher D, Tso ACY, Ling LM, Young BE, Wong L JL, Sum CLL, Tan HT, Ang MK, Lim GH, Ong KH, Kuperan P, Chia YW. COVID-19 associated coagulopathy in critically ill patients: A hypercoagulable state demonstrated by parameters of haemostasis and clot waveform analysis. *J Thromb Thrombolysis.* 2021 Apr;51(3):663-674. doi: 10.1007/s11239-020-02318-x.
112. Short SAP, Gupta S, Brenner SK, Hayek SS, Srivastava A, Shaefi S, Singh H, Wu B, Bagchi A, Al-Samkari H, Dy R, Wilkinson K, Zakai NA, Leaf DE; STOP-COVID Investigators. d-dimer and Death in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019. *Crit Care Med.* 2021 May 1;49(5):e500-e511. doi: 10.1097/CCM.0000000000004917.
113. Zlojutro B, Jandric M, Momcicevic D, Dragic S, Kovacevic T, Djajic V, Stojiljkovic MP, Skrbic R, Djuric DM, Kovacevic P. Dynamic changes in coagulation, hematological and biochemical parameters as predictors of mortality in critically ill COVID-19 patients: A prospective observational study. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2023;83(2):137-148. doi: 10.3233/CH-221583.
114. Chia PY, Teo A, Yeo TW. Overview of the Assessment of Endothelial Function in Humans. *Front Med (Lausanne).* 2020 Oct 7;7:542567. doi: 10.3389/fmed.2020.542567.
115. Wu X, Xiang M, Jing H, Wang C, Novakovic VA, Shi J. Damage to endothelial barriers and its contribution to long COVID. *Angiogenesis.* 2024 Feb;27(1):5-22. doi: 10.1007/s10456-023-09878-5.
116. Lampsas S, Tsaplaris P, Pantelidis P, Oikonomou E, Marinos G, Charalambous G, Souvaliotis N, Mystakidi VC, Golliopoulou A, Katsianos E, Siasos G, Vavuranakis MA, Tsiofis C, Vavuranakis M, Tousoulis D. The Role of Endothelial Related Circulating Biomarkers in COVID-19. A Systematic Review and Meta-analysis. *Curr Med Chem.* 2022;29(21):3790-3805. doi: 10.2174/0929867328666211026124033.
117. Xu SW, Ilyas I, Weng JP. Endothelial dysfunction in COVID-19: an overview of evidence, biomarkers, mechanisms and potential therapies. *Acta Pharmacol Sin.* 2023 Apr;44(4):695-709. doi: 10.1038/s41401-022-00998-0.
118. Prasad M, Leon M, Lerman L, Lerman A. Viral Endothelial Dysfunction: A Unifying Mechanism for COVID-19. *Mayo Clin Proc.* December 2021;96(12):3099-3108.

119. Al Maqbali M, Al Badi K, Al Sinani M, Madkhali N, Dickens GL. Clinical Features of COVID-19 Patients in the First Year of Pandemic: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biol Res Nurs.* 2022 Apr;24(2):172-185. doi: 10.1177/10998004211055866.
120. Al-Otaiby M, Almutairi KM, Vinluan JM, Al Seraihi A, Alonazi WB, Qahtani MH, Aljeri T, Alhumud MA, Alobaidi N, Alhurishi SA. Demographic Characteristics, Comorbidities, and Length of Stay of COVID-19 Patients Admitted Into Intensive Care Units in Saudi Arabia: A Nationwide Retrospective Study. *Front Med (Lausanne).* 2022 Jul 13;9:893954. doi: 10.3389/fmed.2022.893954.
121. Qadar SMZ, Naz H, Shamim S, Hashim F, Ahmed S, Kumar Mehraj S. Prevalence of Obesity and its Effects in Patients With COVID-19: A Systematic Review and Meta-analysis. *Hospital Pharmacy.* 2024;59(3):341-348. doi:10.1177/00185787231220318.
122. Tsigaris P, Teixeira da Silva JA. Smoking Prevalence and COVID-19 in Europe. *Nicotine Tob Res.* 2020 Aug 24;22(9):1646-1649. doi: 10.1093/ntr/ntaa121.
123. Patanavanich R, Glantz SA. Smoking is associated with worse outcomes of COVID-19 particularly among younger adults: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health.* 2021 Aug 16;21(1):1554. doi: 10.1186/s12889-021-11579-x.
124. Ng WH, Tipih T, Makoa NA, Vermeulen JG, Goedhals D, Sempa JB, Burt FJ, Taylor A, Mahalingam S. Comorbidities in SARS-CoV-2 Patients: a Systematic Review and Meta-Analysis. *mBio.* 2021 Feb 9;12(1):e03647-20. doi: 10.1128/mBio.03647-20.
125. Honardoost M, Janani L, Aghili R, Emami Z, Khamseh ME. The Association between Presence of Comorbidities and COVID-19 Severity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cerebrovasc Dis.* 2021;50(2):132-140. doi: 10.1159/000513288.
126. Dananché C, Elias C, Hénaff L, Amour S, Kuczewski E, Gustin MP, Escuret V, Saadatian-Elahi M, Vanhems P. Baseline clinical features of COVID-19 patients, delay of hospital admission and clinical outcome: A complex relationship. *PLoS One.* 2022 Jan 7;17(1):e0261428. doi: 10.1371/journal.pone.0261428.
127. Murthy S, Archambault PM, Atique A, Carrier FM, Cheng MP, Codan C, Daneman N, Dechert W, Douglas S, Fiest KM, Fowler R, Goco G, Gu Y, Guerguerian AM, Hall R, Hsu JM, Joffe A, Jouvet P, Kelly L, Kho ME, Kruisselbrink RJ, Kumar D, Kutsogiannis DJ, Lamontagne F, Lee TC, Menon K, O'Grady H, O'Hearn K, Ovakim DH, Pharand SG, Pitre T, Reel R, Reeve B, Rewa O, Richardson D, Rishu A, Sandhu G, Sarfo-Mensah S, Shadowitz E, Sligl W, Solomon J, Stelfox HT, Swanson A, Tessier-Grenier H, Tsang JLY, Wood G; SPRINT-SARI Canada Investigators and the Canadian Critical Care Trials Group. Characteristics and outcomes of patients with COVID-19 admitted to hospital and intensive

care in the first phase of the pandemic in Canada: a national cohort study. *CMAJ Open*. 2021 Mar 8;9(1):E181-E188. doi: 10.9778/cmajo.20200250.

128. Beigmohammadi MT, Amoozadeh L, Rezaei Motlagh F, Rahimi M, Maghsoudloo M, Jafarnejad B, Eslami B, Salehi MR, Zendehdel K. Mortality Predictive Value of APACHE II and SOFA Scores in COVID-19 Patients in the Intensive Care Unit. *Can Respir J*. 2022 Mar 28;2022:5129314. doi: 10.1155/2022/5129314.

129. Ñamendys-Silva SA, Alvarado-Ávila PE, Domínguez-Cherit G, Rivero-Sigarroa E, Sánchez-Hurtado LA, Gutiérrez-Villaseñor A, Romero-González JP, Rodríguez-Bautista H, García-Briones A, Garnica-Camacho CE, Cruz-Ruiz NG, González-Herrera MO, García-Guillén FJ, Guerrero-Gutiérrez MA, Salmerón-González JD, Romero-Gutiérrez L, Canto-Castro JL, Cervantes VH; Mexico COVID-19 Critical Care Collaborative Group. Outcomes of patients with COVID-19 in the intensive care unit in Mexico: A multicenter observational study. *Heart Lung*. 2021 Jan-Feb;50(1):28-32. doi: 10.1016/j.hrlng.2020.10.013.

130. Xu J, Yang X, Yang L, Zou X, Wang Y, Wu Y, Zhou T, Yuan Y, Qi H, Fu S, Liu H, Xia J, Xu Z, Yu Y, Li R, Ouyang Y, Wang R, Ren L, Hu Y, Xu D, Zhao X, Yuan S, Zhang D, Shang Y. Clinical course and predictors of 60-day mortality in 239 critically ill patients with COVID-19: a multicenter retrospective study from Wuhan, China. *Crit Care*. 2020 Jul 6;24(1):394. doi: 10.1186/s13054-020-03098-9.

131. Dongelmans DA, Termorshuizen F, Brinkman S, Bakhshi-Raiez F, Arbous MS, de Lange DW, van Bussel BCT, de Keizer NF; Dutch COVID-19 Research Consortium. Characteristics and outcome of COVID-19 patients admitted to the ICU: a nationwide cohort study on the comparison between the first and the consecutive upsurges of the second wave of the COVID-19 pandemic in the Netherlands. *Ann Intensive Care*. 2022 Jan 13;12(1):5. doi: 10.1186/s13613-021-00978-3.

132. Serafim RB, Póvoa P, Souza-Dantas V, Kalil AC, Salluh JIF. Clinical course and outcomes of critically ill patients with COVID-19 infection: a systematic review. *Clin Microbiol Infect*. 2021 Jan;27(1):47-54. doi: 10.1016/j.cmi.2020.10.017.

133. Mehta AB, Syeda SN, Bajpayee L, Cooke CR, Walkey AJ, Wiener RS. Trends in Tracheostomy for Mechanically Ventilated Patients in the United States, 1993-2012. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015 Aug 15;192(4):446-54. doi: 10.1164/rccm.201502-0239OC.

134. Williams T, McGrath BA. Tracheostomy for COVID-19: evolving best practice. *Crit Care*. 2021 Aug 31;25(1):316. doi: 10.1186/s13054-021-03674-7. Erratum in: *Crit Care*. 2024 Apr 5;28(1):110. doi: 10.1186/s13054-024-04857-8.

135. Shaefi S, Brenner SK, Gupta S, O'Gara BP, Krajewski ML, Charytan DM, Chaudhry S, Mirza SH, Peev V, Anderson M, Bansal A, Hayek SS, Srivastava A, Mathews KS, Johns TS, Leonberg-Yoo A, Green A, Arunthamakun J, Wille KM, Shaukat T, Singh H, Admon AJ, Semler MW, Hernán MA, Mueller AL, Wang W, Leaf DE; STOP-COVID Investigators. Extracorporeal membrane oxygenation in patients with severe respiratory failure from COVID-19. *Intensive Care Med.* 2021 Feb;47(2):208-221. doi: 10.1007/s00134-020-06331-9.
136. Henry BM, Lippi G. Poor survival with extracorporeal membrane oxygenation in acute respiratory distress syndrome (ARDS) due to coronavirus disease 2019 (COVID-19): Pooled analysis of early reports. *J Crit Care.* 2020 Aug;58:27-28. doi: 10.1016/j.jcrc.2020.03.011.
137. Michard F, Malbrain ML, Martin GS, Fumeaux T, Lobo S, Gonzalez F, Pinho-Oliveira V, Constantin JM. Haemodynamic monitoring and management in COVID-19 intensive care patients: an International survey. *Anaesth Crit Care Pain Med.* 2020 Oct;39(5):563-569. doi: 10.1016/j.accpm.2020.08.001.
138. Passoni R, Lordani TVA, Peres LAB, Carvalho ARDS. Occurrence of acute kidney injury in adult patients hospitalized with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Nefrologia (Engl Ed).* 2022 Jul-Aug;42(4):404-414. doi: 10.1016/j.nefroe.2022.11.005.
139. Burke E, Haber E, Pike CW, Sonti R. Outcomes of renal replacement therapy in the critically ill with COVID-19. *Med Intensiva (Engl Ed).* 2021 Aug-Sep;45(6):325-331. doi: 10.1016/j.medine.2021.02.006.
140. Evlice O, Bektaş M, Arık Ö, Acet A, Marim F, Kaya İ, Şener A, Erarslan S, Mistanoğlu D, Ak Ö. Antibiotic Use among Patients Hospitalized with COVID-19 and Treated in Three Different Clinics. *Infect Dis Clin Microbiol.* 2022 Sep 26;4(3):199-205. doi: 10.36519/idcm.2022.170.
141. Kyriakopoulos C, Ntritsos G, Gogali A, Milionis H, Evangelou E, Kostikas K. Tocilizumab administration for the treatment of hospitalized patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Respirology.* 2021 Nov;26(11):1027-1040. doi: 10.1111/resp.14152.
142. Chaudhuri D, Sasaki K, Karkar A, Sharif S, Lewis K, Mammen MJ, Alexander P, Ye Z, Lozano LEC, Munch MW, Perner A, Du B, Mbuagbaw L, Alhazzani W, Pastores SM, Marshall J, Lamontagne F, Annane D, Meduri GU, Rochwerg B. Corticosteroids in COVID-19 and non-COVID-19 ARDS: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2021 May;47(5):521-537. doi: 10.1007/s00134-021-06394-2.

143. De Bruyn A, Verellen S, Bruckers L, Geebelen L, Callebaut I, De Pauw I, Stessel B, Dubois J. Secondary infection in COVID-19 critically ill patients: a retrospective single-center evaluation. *BMC Infect Dis.* 2022 Mar 2;22(1):207. doi: 10.1186/s12879-022-07192-x.
144. Arturi F, Melegari G, Giansante A, Giuliani E, Bertellini E, Barbieri A. COVID-19 Biomarkers for Critically Ill Patients: A Compendium for the Physician. *Neurol Int.* 2023 Jul 23;15(3):881-895. doi: 10.3390/neurolint15030056. PMID: 37489362; PMCID: PMC10366869.
145. Kalaiselvan P, Yingchoncharoen P, Thongpiya J, Motes A, Nugent K. COVID-19 Infections and Inflammatory Markers in Patients Hospitalized During the First Year of the Pandemic. *J Prim Care Community Health.* 2023 Jan-Dec;14:21501319231206911. doi: 10.1177/21501319231206911. PMID: 37864436; PMCID: PMC10590050.
146. Shrestha MR, Basnet A, Tamang B, Khadka S, Maharjan R, Maharjan R, Chand AB, Thapa S, Rai SK. Analysis of altered level of blood-based biomarkers in prognosis of COVID-19 patients. *PLoS One.* 2023 Aug 4;18(8):e0287117. doi: 10.1371/journal.pone.0287117. PMID: 37540679; PMCID: PMC10403103.
147. Elkhalifa AME. D-dimer as a predictive and prognostic marker among COVID-19 patients. *Saudi Med J.* 2022 Jul;43(7):723-729. doi: 10.15537/smj.2022.43.7.20220213.
148. Villavicencio C, Daniel X, Ferré C, Cartanyá M, Pobo Á, Oliva I, Roure M, Leache J, Bodí M. Myocardial injury as a prognostic factor in critically ill patients with severe SARS-CoV-2 pneumonia. *Med Intensiva.* 2023 Jan;47(1):48-51. doi: 10.1016/j.medint.2022.05.003.
149. Martha JW, Wibowo A, Pranata R. Prognostic value of elevated lactate dehydrogenase in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Postgrad Med J.* 2022 Jun;98(1160):422-427. doi: 10.1136/postgradmedj-2020-139542.
150. Soetedjo NNM, Iryaningrum MR, Damara FA, Permadhi I, Sutanto LB, Hartono H, Rasyid H. Prognostic properties of hypoalbuminemia in COVID-19 patients: A systematic review and diagnostic meta-analysis. *Clin Nutr ESPEN.* 2021 Oct;45:120-126. doi: 10.1016/j.clnesp.2021.07.003. Epub 2021 Jul 19.
151. Russo A, Pisaturo M, Monari C, Ciminelli F, Maggi P, Allegorico E, Gentile I, Sangiovanni V, Esposito V, Gentile V, Calabria G, Pisapia R, Carriero C, Masullo A, Manzillo E, Russo G, Parrella R, Dell'Aquila G, Gambardella M, Ponticiello A, Onorato L, Coppola N; CoviCamp Group. Prognostic Value of Creatinine Levels at Admission on Disease Progression and Mortality in Patients with COVID-19-An Observational Retrospective Study. *Pathogens.* 2023 Jul 25;12(8):973. doi: 10.3390/pathogens12080973.

152. Suriawinata E, Mehta KJ. Iron and iron-related proteins in COVID-19. *Clin Exp Med.* 2023 Aug;23(4):969-991. doi: 10.1007/s10238-022-00851-y.
153. Yadav D, Pvsn KK, Tomo S, Sankanagoudar S, Charan J, Purohit A, Nag V, Bhatia P, Singh K, Dutt N, Garg MK, Sharma P, Misra S, Purohit P. Association of iron-related biomarkers with severity and mortality in COVID-19 patients. *J Trace Elem Med Biol.* 2022 Dec;74:127075. doi: 10.1016/j.jtemb.2022.127075. Epub 2022 Sep 13. PMID: 36174458; PMCID: PMC9472468.
154. Kalan Sari I, Keskin O, Seremet Keskin A, Elli Dağ HY, Harmandar O. Is Homocysteine Associated with the Prognosis of Covid-19 Pneumonia. *Int J Clin Pract.* 2023 Mar 2;2023:9697871. doi: 10.1155/2023/9697871.
155. O'Donovan J, Cheong J, Chambler D. Vitamin D Levels in COVID-19 Patients Admitted to Intensive Care. *Health,* 15(08):845-860. doi: 10.4236/health.2023.158055.
156. Golabi S, Ghasemi S, Adelipour M, Bagheri R, Suzuki K, Wong A, Seyedtabib M, Naghashpour M. Oxidative Stress and Inflammatory Status in COVID-19 Outpatients: A Health Center-Based Analytical Cross-Sectional Study. *Antioxidants (Basel).* 2022 Mar 22;11(4):606. doi: 10.3390/antiox11040606.
157. Bastin A, Abbasi F, Roustaei N, Abdesheikhi J, Karami H, Gholamnezhad M, Eftekhari M, Doustimotlagh A. Severity of oxidative stress as a hallmark in COVID-19 patients. *Eur J Med Res.* 2023 Dec 4;28(1):558. doi: 10.1186/s40001-023-01401-2.
158. Mazullo Filho JB, Bona S, Rosa DP, Silva FG, Forgiarini Junior LA, Dias AS, Marroni NP. The effects of mechanical ventilation on oxidative stress. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2012 Mar;24(1):23-9.
159. Nossaman VE, Nossaman BD, Kadowitz PJ. Nitrates and nitrites in the treatment of ischemic cardiac disease. *Cardiol Rev.* 2010 Jul-Aug;18(4):190-7. doi: 10.1097/CRD.0b013e3181c8e14a.
160. Glassman I, Le N, Mirhosseini M, Alcantara CA, Asif A, Goulding A, Munneer S, Singh M, Robison J, Guilford F, Venketaraman V. The Role of Glutathione in Prevention of COVID-19 Immunothrombosis: A Review. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2023 Mar 20;28(3):59. doi: 10.31083/j.fbl2803059.
161. Bryan NS, Torregrossa AC, Mian AI, Berkson DL, Westby CM, Moncrief JW. Acute effects of hemodialysis on nitrite and nitrate: potential cardiovascular implications in dialysis patients. *Free Radic Biol Med.* 2013;58:46-51. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2013.01.020.
162. Zortcheva R, Ikonomov V, Galunska B et al. On-line hemodiafiltration and oxidative stress in continuous renal replacement therapy patients . *F1000Posters* 2011, 2:1075 (poster)

163. Kleinbongard P, Dejam A, Lauer T, Jax T, Kerber S, Gharini P, Balzer J, Zott RB, Scharf RE, Willers R, Schechter AN, Feelisch M, Kelm M. Plasma nitrite concentrations reflect the degree of endothelial dysfunction in humans. *Free Radic Biol Med.* 2006 Jan 15;40(2):295-302. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.08.025.
164. Lauer T, Heiss C, Balzer J, Kehmeier E, Mangold S, Leyendecker T, Rottler J, Meyer C, Merx MW, Kelm M, Rassaf T. Age-dependent endothelial dysfunction is associated with failure to increase plasma nitrite in response to exercise. *Basic Res Cardiol.* 2008 May;103(3):291-7. doi: 10.1007/s00395-008-0714-3.
165. Tagan D, Eckret P, Markert M, Feihl F, et Schaller MD. Blood nitrate levels in septic and cardiogenic shock. *Clinical Intensive Care*, 9(2), 71–76. doi.org/10.3109/tcic.9.2.71.76.
166. Avanoglu Guler A, Tombul N, Aysert Yıldız P, Özger HS, Hızel K, Gulbahar O, Tufan A, Erbaş G, Aygencel G, Guzel Tunçcan O, Dizbay M, Öztürk MA. The assessment of serum ACE activity in COVID-19 and its association with clinical features and severity of the disease. *Scand J Clin Lab Invest.* 2021 Apr;81(2):160-165. doi: 10.1080/00365513.2021.1871641.
167. Jerng JS, Yu CJ, Wang HC, Chen KY, Cheng SL, Yang PC. Polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene affects the outcome of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2006 Apr;34(4):1001-6. doi: 10.1097/01.CCM.0000206107.92476.39.
168. Chen Y, Huang D, Yuan W, Chang J, Yuan Z, Wu D, Han M, Luo X, Ning Q, Yan W. Lower Serum Angiotensin-Converting Enzyme Level in Relation to Hyperinflammation and Impaired Antiviral Immune Response Contributes to Progression of COVID-19 Infection. *Infect Dis Ther.* 2021 Dec;10(4):2431-2446. doi: 10.1007/s40121-021-00513-8. Epub 2021 Aug 13.
169. Shevchuk O, Pak A, Palii S, Ivankiv Y, Kozak K, Korda M, Vari SG. Blood ACE2 Protein Level Correlates with COVID-19 Severity. *Int J Mol Sci.* 2023 Sep 11;24(18):13957. doi: 10.3390/ijms241813957.
170. Bani Hani A, Abu Tarboush N, Bani Ali M, Alabhoul F, Alansari F, Abuhani A, Al-Kawak M, Shamoun B, Albdour S, Abu Abeeleh M, Ahram M. Serum ACE2 Level is Associated With Severe SARS-CoV-2 Infection: A Cross-Sectional Observational Study. *Biomark Insights.* 2022 Sep 21;17:11772719221125123. doi: 10.1177/11772719221125123.
171. Naderi N, Rahimzadeh M. The Role of Soluble ACE2 as a Prognostic Marker in Severe COVID-19: A Brief Meta-Analysis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2023;23(1):70-76. doi: 10.2174/1871530322666220623121922.

172. Miesbach W. Pathological Role of Angiotensin II in Severe COVID-19. *TH Open*. 2020 Jun 26;4(2):e138-e144. doi: 10.1055/s-0040-1713678.
173. Camargo RL, Bombassaro B, Monfort-Pires M, Mansour E, Palma AC, Ribeiro LC, Ulaf RG, Bernardes AF, Nunes TA, Agrela MV, Dertkigil RP, Dertkigil SS, Araujo EP, Nadruz W, Moretti ML, Velloso LA, Sposito AC. Plasma Angiotensin II Is Increased in Critical Coronavirus Disease 2019. *Front Cardiovasc Med*. 2022 Jun 24;9:847809. doi: 10.3389/fcvm.2022.847809.
174. Kaur G, Yogeswaran S, Muthumalage T, Rahman I. Persistently Increased Systemic ACE2 Activity Is Associated With an Increased Inflammatory Response in Smokers With COVID-19. *Front Physiol*. 2021 May 28;12:653045. doi: 10.3389/fphys.2021.653045.
175. Valle Martins AL, da Silva FA, Bolais-Ramos L, de Oliveira GC, Ribeiro RC, Pereira DAA, Annoni F, Diniz MML, Silva TGF, Ziviani B, Cardoso AC, Martins JC, Motta-Santos D, Campagnole-Santos MJ, Taccone FS, Verano-Braga T, Santos RAS. Increased circulating levels of angiotensin-(1-7) in severely ill COVID-19 patients. *ERJ Open Res*. 2021 Aug 2;7(3):00114-2021. doi: 10.1183/23120541.00114-2021.
176. Seyedmehdi SM, Imanparast F, Mohaghegh P, Mahmoudian S, Dehlaqi MK, Mehvari F, Abdullah MP. Patients with severe COVID-19 have reduced circulating levels of angiotensin-(1-7): A cohort study. *Health Sci Rep*. 2022 Mar 14;5(2):e564. doi: 10.1002/hsr2.564.
177. Pucci F, Annoni F, Dos Santos RAS, Taccone FS, Rooman M. Quantifying Renin-Angiotensin-System Alterations in COVID-19. *Cells*. 2021 Oct 14;10(10):2755. doi: 10.3390/cells10102755.
178. Ocaranza MP, Moya J, Barrientos V, Alzamora R, Hevia D, Morales C, Pinto M, Escudero N, García L, Novoa U, Ayala P, Díaz-Araya G, Godoy I, Chiong M, Lavandero S, Jalil JE, Michea L. Angiotensin-(1-9) reverses experimental hypertension and cardiovascular damage by inhibition of the angiotensin converting enzyme/Ang II axis. *J Hypertens*. 2014 Apr;32(4):771-83. doi: 10.1097/HJH.0000000000000094.
179. Flores-Muñoz M, Smith NJ, Haggerty C, Milligan G, Nicklin SA. Angiotensin1-9 antagonises pro-hypertrophic signalling in cardiomyocytes via the angiotensin type 2 receptor. *J Physiol*. 2011 Feb 15;589(Pt 4):939-51. doi: 10.1113/jphysiol.2010.203075.
180. Vieceli Dalla Sega F, Fortini F, Spadaro S, Ronzoni L, Zucchetti O, Manfrini M, Mikus E, Fogagnolo A, Torsani F, Pavasini R, Marracino L, Verri M, Morandi L, D'Aniello E, Volta CA, Campo G, Ferrari R, Rizzo P, Contoli M. Time course of endothelial dysfunction markers and mortality in COVID-19 patients: A pilot study. *Clin Transl Med*. 2021 Mar;11(3):e283. doi: 10.1002/ctm2.283.

181. Lampsas S, Tsaplaris P, Pantelidis P, Oikonomou E, Marinos G, Charalambous G, Souvaliotis N, Mystakidi VC, Goliopoulou A, Katsianos E, Siasos G, Vavuranakis MA, Tsiofis C, Vavuranakis M, Tousoulis D. The Role of Endothelial Related Circulating Biomarkers in COVID-19. A Systematic Review and Meta-analysis. *Curr Med Chem.* 2022;29(21):3790-3805. doi: 10.2174/0929867328666211026124033.
182. Tong M, Jiang Y, Xia D, Xiong Y, Zheng Q, Chen F, Zou L, Xiao W, Zhu Y. Elevated Expression of Serum Endothelial Cell Adhesion Molecules in COVID-19 Patients. *J Infect Dis.* 2020 Aug 17;222(6):894-898. doi: 10.1093/infdis/jiaa349.
183. Hubbard AK, Rothlein R. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression and cell signaling cascades. *Free Radic Biol Med.* 2000 May 1;28(9):1379-86. doi: 10.1016/s0891-5849(00)00223-9.
184. Perrotta F, Scialò F, Mallardo M, Signoriello G, D'Agnano V, Bianco A, Daniele A, Nigro E. Adiponectin, Leptin, and Resistin Are Dysregulated in Patients Infected by SARS-CoV-2. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 6;24(2):1131. doi: 10.3390/ijms24021131.
185. Flikweert AW, Kobold ACM, van der Sar-van der Brugge S, Heeringa P, Rodenhuis-Zybert IA, Bijzet J, Tami A, van der Gun BTF, Wold KI, Huckriede A, Franke H, Emmen JMA, Emous M, Grootenboers MJH, van Meurs M, van der Voort PHJ, Moser J. Circulating adipokine levels and COVID-19 severity in hospitalized patients. *Int J Obes (Lond).* 2023 Feb;47(2):126-137. doi: 10.1038/s41366-022-01246-5.
186. Pavel V, Räth U, Schmid S, Krautbauer S, Keller D, Amend P, Müller M, Mester P, Buechler C. Serum Adiponectin Predicts COVID-19 Severity. *Biomedicines.* 2024; 12(5):1043. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12051043>

## **BIOGRAFIJA**

Milka Jandrić je rođena 23. 03. 1984. u Jajcu. Osnovnu školu je završila u Gradišci, dok je srednju Medicinsku školu završila u Banjoj Luci. Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci je upisala 2003. godine, a završila 2009. godine kao student generacije sa prosječnom ocjenom 8.30.

Od 2009. godine je zaposlena u Univerzitetском kliničkom centru Republike Srpske u organizacionoj jedinici koja se bavi liječenjem kritično oboljelih nehirurških pacijenata. Specijalizaciju iz Interne medicine je završila na Medicinskom fakultetu u Banjoj Luci 2015. godine, kao i supspecijalizaciju iz Intenzivne terapije 2017. godine. Doktorske akademske studije je upisala 2018. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Banja Luci.

Član je doktorske komore Republike Srpske, Udruženja intenzivista za nehirurške grane i Evropskog udruženja za intenzivnu medicinu. Autor je i koautor više članaka u domaćim i stranim časopisima.

## IZJAVE

### Изјава 1

### ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем  
да је докторска дисертација

Наслов рада: „Значај оксидативног стреса и ендотелне дисфункције код критично оболелих пацијената са COVID-19 пнеумонијом“

Наслов рада на енглеском језику: „The Importance of Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction in Critically Ill Patients with COVID-19 Pneumonia“

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да докторска дисертација, у цјелини или у дијеловима, није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршила ауторска права и користила интелектуалну својину других лица.

У Бањој Луци

18.11.2024. године

Потпис докторанта

Милка Јандрић

Jandrić M.

## Изјава 2

Изјава којом се овлашћује Универзитет у Бањој Луци

да докторску дисертацију учини јавно доступном

Овлашћујем Универзитет у Бањој Луци да моју докторску дисертацију под насловом

„Значај оксидативног стреса и ендотелне дисфункције код критично оболјелих пацијената са COVID-19 пнеумонијом“

Која је моје ауторско дјело, учини јавно доступном.

Докторску дисертацију са свим прилозима предала сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у дигитални репозиторијум Универзитета у Бањој Луци могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучила.

1. Ауторство
2. Ауторство – некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – дијелити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – дијелити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

У Бањој Луци

18.11.2024. године

Потпис докторанта

Милка Јандрић

*Jandrić M.*

### Изјава 3

#### Изјава о идентичности штампане и електронске верзије докторске дисертације

Име и презиме аутора: Милка Јандрић

Наслов рада: „Значај оксидативног стреса и ендотелне дисфункције код критично оболелих пацијената са COVID-19 пнеумонијом“

Ментор: Проф. др Пеђа Ковачевић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације идентична електронској верзији коју сам предала за дигитални репозиторијум Универзитета у Бањој Луци.

У Бањој Луци

18.11.2024. године

Потпис докторанта

Милка Јандрић

Jandrić M.

# Do dynamic changes in haematological and biochemical parameters predict mortality in critically ill COVID-19 patients?

Milka Jandric<sup>a,\*</sup>, Biljana Zlojutro<sup>a,b</sup>, Danica Momcicevic<sup>a,b</sup>, Sasa Dragic<sup>a,b</sup>,  
Tijana Kovacevic<sup>a,b</sup>, Vlado Djajic<sup>a,b</sup>, Milos P. Stojiljkovic<sup>c</sup>, Dragana Loncar-Stojiljkovic<sup>b</sup>,  
Ranko Skrbic<sup>c</sup>, Dragan M. Djuric<sup>d</sup> and Pedja Kovacevic<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>*University Clinical Centre of the Republic of Srpska, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina*

<sup>b</sup>*Faculty of Medicine, University of Banja Luka, Banja Luka, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina*

<sup>c</sup>*Centre for Biomedical Research, Faculty of Medicine, University of Banja Luka, Banja Luka, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina*

<sup>d</sup>*Institute of Medical Physiology “Richard Burian”, Faculty of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia*

Received 3 May 2024

Accepted 13 August 2024

## Abstract.

**BACKGROUND:** Critically ill COVID-19 patients are usually subjected to clinical, laboratory, and radiological diagnostic procedures resulting in numerous findings. Utilizing these findings as indicators for disease progression or outcome prediction is particularly intriguing.

**OBJECTIVES:** Exploring the significance of dynamic changes in haematological and biochemical parameters in predicting the mortality of critically ill COVID-19 patients.

**METHODS:** The present study was a prospective and observational study involving mechanically ventilated 75 critically ill adult COVID-19 patients with hypoxic respiratory failure. The collected data included baseline patient characteristics, treatment options, outcome, and laboratory findings at admission and 7 days after. The dynamics of the obtained findings were compared between survivors and non-survivors.

**RESULTS:** The 28-day survival rate was 61.3%. In the group of non-survivors significant dynamic changes were found for C-reactive protein ( $p = 0.001$ ), interleukin-6 ( $p < 0.001$ ), lymphocyte ( $p = 0.003$ ), neutrophil-lymphocyte ratio ( $p = 0.003$ ), platelets ( $p < 0.001$ ), haemoglobin ( $p < 0.001$ ), iron ( $p = 0.012$ ), and total iron-binding capacity ( $p < 0.001$ ). Statistically significant changes over time were found for ferritin ( $p = 0.010$ ), D-dimer ( $p < 0.001$ ), hs-troponin T ( $p < 0.002$ ), lactate dehydrogenase ( $p = 0.001$ ), glucose ( $p = 0.023$ ), unsaturated iron-binding capacity ( $p = 0.008$ ), and vitamin D ( $p < 0.001$ ).

**CONCLUSION:** The dynamic changes in inflammatory, haematological and biochemical parameters can predict disease severity, and outcome.

Keywords: COVID-19, intensive care, outcome, prediction, laboratory parameters

\*Corresponding author: Milka Jandric, Medical Intensive Care Unit, University Clinical Centre of the Republic of Srpska, Dvanaest beba bb, Banja Luka 78000, Bosnia and Herzegovina. Tel.: +387 381 51 342 510; E-mail: milka.jandric@kc-bl.com. ORCID: 0000-0003-3814-4635.

## 1. Introduction

The coronavirus disease (COVID-19), caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), has imposed a significant burden on intensive care units. Challenges include issues with organizational structure, the imperative for modern and standardized equipment, and a shortage of officially trained healthcare workers. It is estimated that 15–20% of patients who were positive for SARS-CoV-2 require hospitalization and 5% of them need treatment in intensive care units [1]. Some patients rapidly progress to acute respiratory distress syndrome (ARDS) and septic shock, ultimately leading to multiple organ failure [2,3]. In these patients, the presence of a cytokine storm, diffuse endothelial inflammation, activation of coagulation, and multiorgan impairment is commonly observed [4, 5,6]. Risk factors associated with severe COVID-19 include male sex, advanced age, obesity, and underlying comorbidities such as hypertension, diabetes mellitus, cardiovascular disease, chronic respiratory disease, and malignancy [7,8,9,10,11]. Risk factors for a severe prognosis in COVID-19 include elevated inflammatory markers (interleukin-6, C-reactive protein, ferritin), increased lactate dehydrogenase, dysregulation of immune cells (lymphocytes, monocytes, neutrophils), and coagulopathy (elevated D-dimer, decreased platelets) [12,13]. The initial published case series for critically ill COVID-19 patients indicated a mortality rate of around 60% [13,14], with notable variations observed among countries, particularly in low-resource settings, and within groups of patients at a high risk for critical illness. The objective of this study was to identify biomarkers associated with predicting mortality in critically ill COVID-19 patients and to assess the significance of monitoring the dynamic changes in these biomarkers.

## 2. Materials and methods

This prospective observational study was conducted at the Medical Intensive Care Unit (MICU) of the University Clinical Centre of the Republic of Srpska in Banja Luka, Bosnia and Herzegovina, during the second wave of the COVID-19 pandemic (from January to August 2021) on severe or critically ill COVID-19 patients with respiratory failure requiring mechanical ventilation. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Institutional Ethics Committee No 01-19-570-2/20, of 19.11.2020. The study population included 75 severely ill adult patients ( $\geq 18$  years) with COVID-19, admitted to MICU due to COVID-19-associated pneumonia. These patients required mechanical ventilation, had moderate to severe ARDS, according to the Berlin definition of ARDS, and had confirmed SARS-CoV-2 by real time polymerase chain reaction (RT-PCR) method in nasopharyngeal or bronchoalveolar lavage samples. Patients were excluded from the study if they had non-COVID respiratory failure, mild ARDS, no need for mechanical ventilation, a MICU stay of less than 7 days, or a malignancy. The data were extracted from electronic medical records and patients' privacy was protected. At admission, baseline information recorded included age, sex, body mass index (BMI), smoking status, Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE II) score, comorbidities, and the time from illness onset to hospital and MICU admission. The SOFA and APACHE II scores were calculated using the MDCalc app based on data acquired from the first 24 hours of admission. During the treatment, we collected the following information: type and duration of mechanical ventilation, the need for and duration of administration of vasoactive medications, MICU length of stay, and other treatment options such as tracheostomy, the need for continuous renal replacement therapy (CRRT), use of tocilizumab, antibiotics, and corticosteroids, and complications. The venous blood samples were obtained at admission (day 1) and 7 days after (day 7) and laboratory test results were analysed and compared between survivors and non-survivors.

The following biomarkers were analyzed: C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6), ferritin, white blood cell count (WBC), absolute neutrophil count (Neut), absolute lymphocyte count (Lymph), neutrophil-lymphocyte ratio (NLR), platelets (PLT), D-dimer, hemoglobin (Hgb), albumin (Alb), troponin T (hs-TnT), lactate dehydrogenase (LDH), creatinine (Cr), glucose (Glu), iron (Fe), total and unsaturated iron-binding capacity (TIBC, UIBC), homocysteine (Hcy), and vitamin D. These biomarkers were analyzed to assess and compare their levels between survivors and non-survivors. To monitor dynamic changes in biomarkers, the delta ( $\Delta$ ) value was calculated and defined as the difference between biomarker values recorded on day 7 and day 1. The primary outcome of this study was the 28-day hospital mortality in severe COVID-19 patients, and additionally, the goal was to assess the predictive value of dynamic changes in measured biomarkers.

### *2.1. Statistical analysis*

All analyses were performed with Statistical Package for the Social Sciences (IBM Corp. Released 2019. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.0. Armonk, NY: IBM Corp). The sample size was determined using the software G power (available on internet site <https://www.psychologie.hhu.de/arbeitsgruppen/allgemeine-psychologie-und-arbeitspsychologie/gpower.html>), based on statistical tests which we used in data analysis. Kormogorov-Smirnov test of normality was performed on the continuous variables in the two groups of patients (survivors and non-survivors). Mean, median and box plots were used to present continuous data. The Mann-Whitney U test was used to compare the non-normally distributed variables, while normally distributed variables were analysed using the independent *t*-test and ANOVA test. The categorical variables were presented as proportions and tested using chi-square as a test of significance between groups. The receiver operating characteristic curve (ROC curve) was used to analyse the ability of parameters to predict mortality. Logistic regression analysis was used to identify independent predictors of mortality. A value of  $p < 0.05$  was considered statistically significant.

## **3. Results**

Among the 75 critically ill patients studied with COVID-19-associated pneumonia, the 28-day survival rate was 61.3%. The mortality rate in the current study was 38.7%, with a majority of non-survivors being middle-aged males with some comorbidities, particularly hypertension (51.72%), obesity (41.7%), and diabetes (20.69%) as the most common. The prevalence of active smokers was 10.2%, with a higher incidence observed among non-survivors (17.2%). No significant differences were observed between survivors and non-survivors in terms of demographic characteristics (Table 1).

Half of the all patients admitted to the MICU were transferred from the regular COVID-19 ward (57.3%). The average pre-MICU hospital stay was 3 days, while the average time from illness onset to MICU admission was 9.6 days. The median MICU length of stay was longer for non-survivors (13 vs 9.5 days;  $p = 0.006$ ). Half of the patients received invasive mechanical ventilation (50.7%). The median duration of ventilation was 12.4 days for invasive, and 6 days for non-invasive ventilation. All patients in the non-survivor group required invasive mechanical ventilation (100%), and vasopressor therapy (100%). Tracheostomy was performed in 18.7% and CRRT in 10.7%, of patients, with a higher incidence observed among non-survivors. All patients were treated with antibiotics empirically or according to the antibiogram, and with corticosteroids (methylprednisolone at 1–2 mg/kg as a single or divided doses, or dexamethasone in equivalent doses). Tocilizumab was administered to 21.3% of the studied patients, with a higher incidence observed among survivors. Complications during MICU stay include sepsis (22.6%),

**Table 1**  
Baseline demographic characteristics of the critically ill patients with COVID-19 pneumonia

Demographic characteristics	All (n = 75)	Survivors (n = 46)	Non-survivors (n = 29)	p
Age, years	56.13 ± 9.45	54.89 ± 9.6	58.1 ± 9.03	0.153
Sex, n (%)				
Male	54 (72%)	34 (73.9%)	20 (69.0%)	0.642
Smokers, n (%)	8 (10.7%)	3 (6.5%)	5 (17.2%)	0.259
Body mass index (BMI), kg/m <sup>2</sup>	30.36 ± 3.84	30.8 ± 4.21	29.54 ± 2.92	0.149
BMI ≥ 30 kg/m <sup>2</sup>	34 (45.3%)	24 (53.3%)	10 (41.7%)	0.356
Comorbidity, n (%)	54 (72%)	30 (65.22%)	24 (82.76%)	0.099
Hypertension, n (%)	36 (48%)	22 (47.83%)	15 (51.72%)	0.742
Diabetes, n (%)	12 (16%)	6 (13.04%)	6 (20.69%)	0.519
Cardiomyopathy, n (%)	5 (6.7%)	3 (6.5%)	2 (6.9%)	0.949
COPD, n (%)	5 (6.7%)	4 (8.7%)	1 (3.45%)	0.643
Arrhythmia, n (%)	4 (5.3%)	1 (2.17%)	3 (10.34%)	0.292
Rheumatic disease, n (%)	5 (6.7%)	2 (4.35%)	3 (10.34%)	0.369
Other, n (%)	5 (6.7%)	3 (6.5%)	2 (6.9%)	0.499

**Table 2**  
Clinical characteristics, treatment options, and outcomes of critically ill patients with COVID-19 pneumonia

Clinical characteristics	All (n = 75)	Survivors (n = 46)	Non-survivors (n = 29)	p
Score				
SOFA	4 (2)	4 (1)	5 (4)	0.197
APACHE II	10 (7)	9.5 (6)	12 (5)	0.098
Time from illness onset to MICU admission, days	9.65 ± 4.13	9.57 ± 3.28	9.79 ± 3.76	0.818
Admission to MICU				
Emergency department	26 (34.7%)	16 (34.8%)	27 (34.5%)	0.834
Ward	43 (57.3)	27 (58.7%)	16 (55.2%)	
Regional hospital	6 (8%)	3 (6.5%)	3 (10.3%)	
MICU length of stay, days	12 (9)	9.50 (8.25)	13 (7.5)	0.006*
Mechanical ventilation				
Invasive	38 (50.7%)	9 (19.6%)	29 (100%)	0.000*
Non-invasive	37 (49.3%)	37 (80.4%)	0	
Duration of mechanical ventilation				
Invasive, days	12.43 ± 5.97	14.56 ± 5.48	11.75 ± 6.06	0.225
Non-invasive, days	6 (4.50)	7.50 (5.75)	4 (4)	0.002*
Day of intubation in MICU				
Vasoactive medications				
Vasopressors use	37 (49.3%)	8 (17.4%)	29 (100%)	0.000*
Vasopressors, days	5 (3)	4.5 (3)	5 (3.75)	0.288
CRRT	8 (10.7%)	2 (4.3%)	6 (20.7%)	0.026*
Tracheostomy	14 (18.7%)	7 (15.2%)	7 (24.1%)	0.334
Tocilizumab	16 (21.3%)	12 (26.1%)	4 (13.8%)	0.256

\* statistically significant ( $p < 0.05$ ); SOFA, Sequential Organ Failure Assessment; APACHE II, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II; CRRT, Continuous Renal Replacement Therapy.

acute kidney injury (20%), ARDS (14.6%), and pneumothorax/pneumomediastinum (5.3%). Detailed clinical characteristics, treatment modalities, and outcomes of the patients are shown in Table 2.

The initial values of CRP, IL-6, ferritin, WBC, Neut, Lymph, and NLR showed no statistically significant differences between survivors and non-survivors ( $p > 0.05$ ). However, there were an increase over time in the values of some biomarkers in non-survivors (except for lymphocytes), with statistically significant dynamic changes compared to survivors for ( $\Delta$  CRP = 0.001,  $\Delta$  IL-6 < 0.001,  $\Delta$  Lymph = 0.003,  $\Delta$

Table 3

Laboratory test results of patients on the day of admission and on day 7 of stay in the MICU of critically ill patients with COVID-19 pneumonia

Lab. test	R.V.	Day	All (n = 75)	Survivors (n = 46)	Non-survivors (n = 29)	p
CRP, mL/L	0–5	1.	82.90 (124.5)	81.95 (113.4)	92.7 (125.6)	0.757
		7.	29.20 (109.4)	5.8 (32.1)	116.5 (108.7)	< 0.001*
		Δ	27.20 (109.4)	-65.35 (116.6)	18.8 (199.9)	0.001*
IL-6, pg/mL	0–7	1.	37 (51.15)	26.39 (52.32)	39.2 (43.4)	0.592
		7.	41.35 (186.96)	20.1 (83.81)	172.95 (511.9)	< 0.001*
		Δ	17.95 (169.83)	-2.55 (109.37)	118.15 (503.15)	< 0.001*
Ferritin, ng/mL	22–322	1.	1370 (882)	1362.5 (686)	1433 (1236)	0.632
		7.	982 (796)	825.5 (681.5)	1299 (705)	0.010*
		Δ	-182 (720)	-265.5 (528.5)	-35 (1464)	0.068
WBC, (1e9)/L	3.4–9.7	1.	10.83 ± 4.19	10.81 ± 3.66	10.88 ± 4.98	0.945
		7.	12.89 ± 6.48	12.04 ± 4.27	14.25 ± 8.86	0.218
		Δ	2.06 ± 6.53	1.23 ± 4.36	3.37 ± 8.91	0.236
Neutr, (1e9)/L	2.06–6.49	1.	9.86 ± 4.41	9.59 ± 3.63	10.29 ± 5.47	0.546
		7.	15.86 ± 39.12	10.06 ± 3.88	12.41 ± 8.59	0.199
		Δ	6.11 ± 39.68	0.64 ± 3.94	2.16 ± 8.83	0.416
Lymph, (1e9)/L	1.19–3.35	1.	0.66 (0.41)	0.68 (0.38)	0.64 (0.4)	0.732
		7.	0.85 (0.79)	1.04 (0.74)	0.57 (0.37)	< 0.001*
		Δ	0.16 (0.69)	0.26 (0.79)	0.03 (0.48)	0.003*
NLR	1–3	1.	13.46 (12.72)	12.99 (12.7)	14.77 (11.84)	0.695
		7.	10.67 (14.5)	9.26 (7.25)	16.61 (20.96)	< 0.001*
		Δ	-1.73 (13.53)	-3.82 (11.14)	4.58 (20.54)	0.003*
PLT, (1e9)/L	158–424	1.	232 (111)	245 (118)	214 (108)	0.309
		7.	206 (216)	282.5 (164)	88 (153)	< 0.001*
		Δ	-30 (205)	26 (180)	-103 (145)	< 0.001*
D-dimer, mg/L	0–0.50	1.	1.66 (4.51)	1.53 (2.47)	2.1 (9.36)	0.026*
		7.	2.89 (5.59)	1.6 (3.5)	5.73 (7.22)	< 0.001*
		Δ	0.13 (6.37)	0.13 (2.74)	0.22 (14.08)	0.946
Hgb, g/L	138–175	1.	131.75 ± 16.64	133.48 ± 18.12	129 ± 13.84	0.259
		7.	119.49 ± 21.98	127.54 ± 22.62	106.72 ± 13.39	< 0.001*
		Δ	-12.25 ± 15.80	-5.93 ± 13.39	-22.28 ± 14.22	< 0.001*
Albumin, g/L	35–52	1.	34.24 ± 3.56	34.41 ± 3.82	33.97 ± 3.16	0.600
		7.	32.57 ± 4.43	33.96 ± 3.11	30.29 ± 5.33	0.002*
		Δ	-1.7 ± 4.96	-0.46 ± 3.28	-3.75 ± 6.44	0.017*
hs-TnT, pg/mL	0–14	1.	12.5 (14)	10 (9.1)	16.7 (24.2)	0.026*
		7.	10 (20.1)	9.45 (6.25)	18.6 (35.8)	0.002*
		Δ	-0.60 (6.3)	-0.95 (4.8)	0 (17.3)	0.189
LDH, U/L	0–248	1.	513 (206.75)	492.5 (193)	555 (243)	0.014*
		7.	357 (168)	296.5 (130)	397 (241)	0.001*
		Δ	-177.5 (228.5)	-185.5 (187.5)	-138.5 (414)	0.804
Creatinine, μmol/L	45–84	1.	78 (24)	78.5 (24)	77 (34)	0.405
		7.	68 (27)	68 (13)	72 (65)	0.269
		Δ	-10 (27)	-11.5 (25)	-8 (52)	0.269
Glucose, mmol/L	4.1–5.9	1.	8.50 (4.8)	7.85 (5.3)	10 (4.1)	0.140
		7.	7.0 (3.2)	6.25 (2.7)	7.6 (2.7)	0.023*
		Δ	-1.5 (4.4)	-1.4 (4.9)	-1.8 (3.8)	0.560
Fe, μmol/L	12.5–32.2	1.	8 (6.9)	7.5 (7.7)	8.35 (4.85)	0.925
		7.	11.10 (11.53)	13.9 (12.2)	7.6 (9.25)	0.005*
		Δ	2.70 (12.65)	6.5 (12.7)	-1.8 (13.2)	0.012*
TIBC, μmol/L	45–73	1.	30.57 ± 5.96	30.8 ± 6.52	30.19 ± 5.01	0.674
		7.	30.50 ± 8.57	34.27 ± 7.68	24.63 ± 6.35	< 0.001*
		Δ	0.31 ± 8.31	3.84 ± 7.18	-5.39 ± 6.79	< 0.001*

Table 3, continued

Lab. test	R.V.	Day	All (n = 75)	Survivors (n = 46)	Non-survivors (n = 29)	p
UIBC, $\mu\text{mol/L}$	27.8–63.6	1.	21.31 $\pm$ 7.86	21.65 $\pm$ 8.17	20.75 $\pm$ 7.43	0.635
		7.	17.20 $\pm$ 6.52	18.84 $\pm$ 6.18	14.66 $\pm$ 6.33	0.008*
		$\Delta$	-4.38 $\pm$ 9.03	-2.88 $\pm$ 9.17	-6.79 $\pm$ 8.42	0.083
Hcy, $\mu\text{mol/L}$	5.08–15.39	1.	6.63 $\pm$ 2.44	6.41 $\pm$ 2.23	6.99 $\pm$ 2.76	0.323
		7.	6.67 $\pm$ 2.71	6.8 $\pm$ 1.97	6.47 $\pm$ 3.59	0.625
		$\Delta$	0.25 $\pm$ 2.54	0.6 $\pm$ 1.84	-0.3 $\pm$ 3.33	0.210
Vitamin D, ng/mL	6.8–49.9	1.	15.90 (9.2)	16.25 (10.4)	15.25 (6.55)	0.316
		7.	11.90 (9.1)	13.6 (9.4)	8.75 (6.15)	< 0.001*
		$\Delta$	-4 (5.6)	-2.65 (5.6)	-5.3 (4.6)	0.946

\* statistically significant ( $p < 0.05$ );  $\Delta$ , the difference between the biomarker values recorded on day 7 and day 1; CRP, C-reactive protein; IL-6, interleukin-6; WBC, white blood cell count; Neut, absolute neutrophil count; Lymph, absolute lymphocyte count; NLR, neutrophil-lymphocyte ratio; PLT, platelets; Hgb, hemoglobin; hs-TnT, high sensitivity Troponin T; LDH, lactate dehydrogenase; Fe, iron; TIBC, total iron-binding capacity; UIBC, unsaturated iron-binding capacity; Hcy, homocysteine.

Table 4  
Dynamic changes in haematological and biochemical parameters of critically ill patients with COVID-19 pneumonia

Variable	Cut-off value	Area under curve	CI 95%	p
$\Delta$ CRP	1.35	0.895	0.809–0.981	0.000*
$\Delta$ IL-6	-63.68	0.766	0.638–0.894	0.001*
$\Delta$ NLR	-18.69	0.678	0.528–0.827	0.028*
$\Delta$ Albumin	6.50	0.655	0.522–0.788	0.026*
$\Delta$ Platelets	97.50	0.782	0.678–0.886	0.000*
$\Delta$ Hemoglobin	9.50	0.799	0.688–0.910	0.000*
$\Delta$ TIBC	12.15	0.832	0.730–0.934	0.000*
$\Delta$ Fe	16.75	0.667	0.534–0.801	0.021*

\*, statistically significant ( $p < 0.05$ ).  $\Delta$ , the difference between the biomarker values recorded on day 7 and day 1; NLR, neutrophil-lymphocyte ratio; TIBC, total iron-binding capacity; Fe, iron.

Table 5  
Multivariate logistic regression analysis of specific biomarkers' delta values independent predictivity of mortality in critically ill patients with COVID-19 pneumonia

Variable	OR	p	95% CI
$\Delta$ PLT	1.008	0.006*	1.002–1.014
$\Delta$ NLR	0.929	0.043*	0.866–0.998
$\Delta$ ferritin	1.000	0.785	0.999–1.001
$\Delta$ Albumin	1.111	0.180	0.953–1.295

\*, statistically significant ( $p < 0.05$ ).  $\Delta$ , the difference between the biomarker values recorded on day 7 and day 1; PLT, platelets; NLR, neutrophil-lymphocyte ratio.

NLR 0.003). The initial haematological and iron metabolism biomarkers (PLT, Hgb, Fe, TIBC, UIBC) showed no significant differences between two groups of patients ( $p > 0.05$ ). There was a decrease in the values of these biomarkers over time in non-survivors ( $\Delta$  PLT  $< 0.001$ ,  $\Delta$  Hgb  $< 0.001$ ,  $\Delta$  Fe = 0.012,  $\Delta$  TIBC  $< 0.001$ ). Among biochemical parameters, D-dimer and hs-TnT, were initially statistically

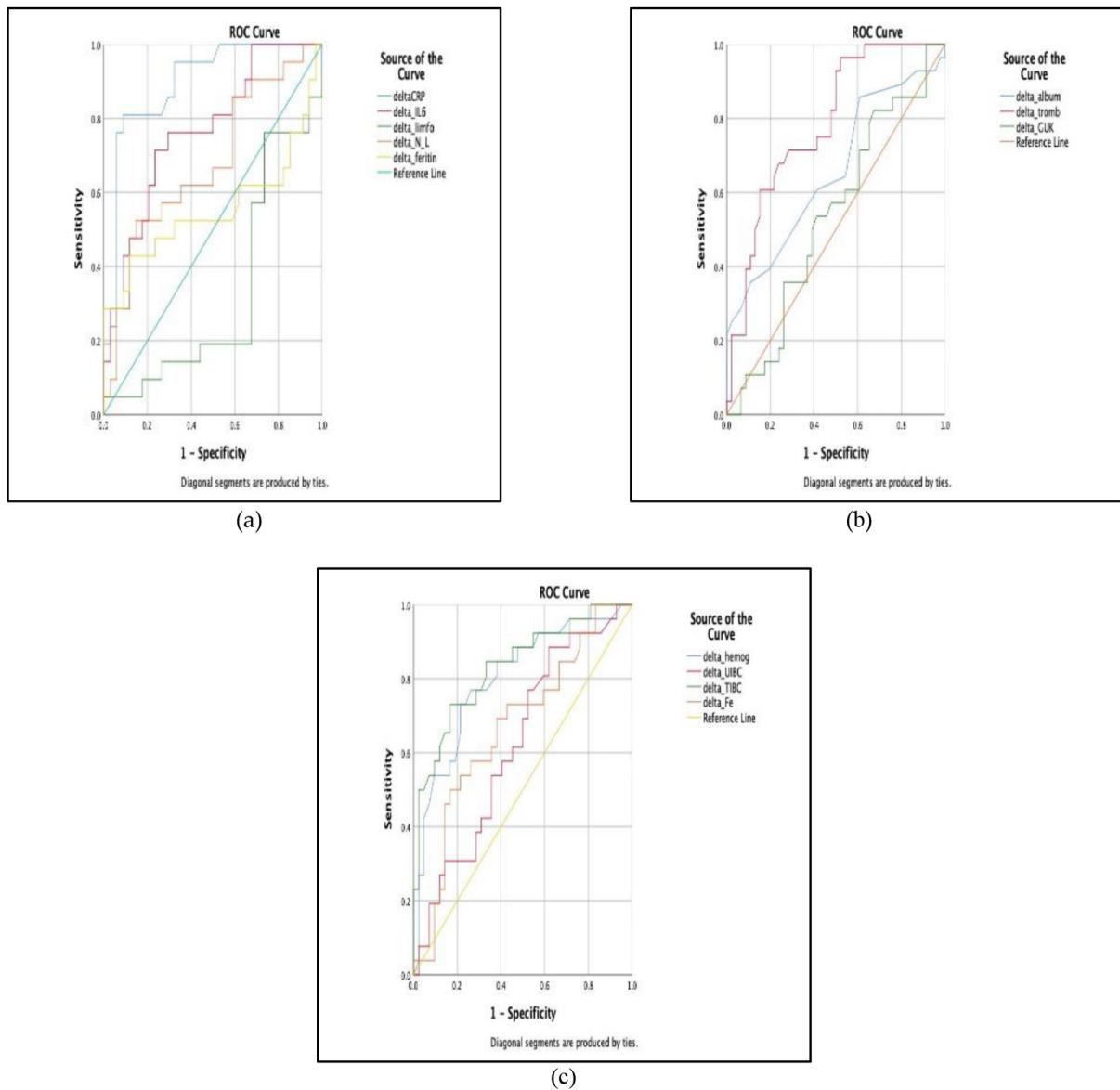


Fig. 1. The ROC curves for dynamic changes of inflammatory parameters (a), biochemical parameters (b), and haematological and iron parameters (c) of critically ill patients with COVID-19 pneumonia.

significant different between survivors and non-survivors, with a higher values observed in non-survivors. There was a further increase over time, but without statistically significant dynamic changes ( $\Delta$ ). Albumin and glucose showed no statistically significant differences at admission, but there was an increase in their values over time in non-survivors. However, statistically significant dynamic changes were observed for albumin ( $\Delta$  Alb = 0.017). LDH initial values were higher in non-surviving group ( $p$  = 0.014), with negative trend over time ( $p$  = 0.001), and without statistically significant dynamic changes ( $\Delta$ ). Values for creatinine and homocysteine were without statistically significant initially values or dynamic changes ( $\Delta$ ). Vitamin D values were generally lower than recommended, decreasing over time, particularly in the

non-survivor group. Laboratory test results of patients on the day of admission to MICU and on day 7 of treatment are shown in Table 3.

Dynamic changes in haematological and biochemical parameters during the MICU stay, represented by delta ( $\Delta$ ) values, were also assessed for their predictive value in mortality prediction of mortality using the Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve analysis.

Among inflammatory parameters, the most significant prognostic values were found for  $\Delta$  CRP,  $\Delta$  IL-6,  $\Delta$  Lymph, and  $\Delta$  NLR ratio. Meanwhile, among biochemical parameters, the most significant prognostic values were found for  $\Delta$  Alb,  $\Delta$  PLT,  $\Delta$  Hgb,  $\Delta$  Fe, and  $\Delta$  TIBC (Fig. 1, Table 4).

Multivariate logistic regression analyses were conducted to assess the association between dynamic changes in specific biomarkers and the outcome. A strong and statistically significant association was determined for  $\Delta$  PLT (OR = 1.008, 95% CI 1.002–1.014,  $p$  = 0.006) and  $\Delta$  NLR (OR = 0.929, 95% CI 0.866–0.998,  $p$  = 0.043) (Table 5).

#### 4. Discussion

In the current study, although the initial values of CRP, IL-6, and ferritin did not differ between the two groups of patients, they increased over time in the non-surviving group, and decreased over time in the surviving group. This finding could be attributed to the development of systemic inflammatory response, cytokine storm, which is consistent with other reports [15,16,17,18]. The ROC analysis indicates that  $\Delta$  CRP and  $\Delta$  IL-6 can be used as predictors of mortality in severe COVID-19 patients. Despite a positive trend during time in non-survivors,  $\Delta$  ferritin could not be used for the prediction of mortality, but it should be mentioned that the use of tocilizumab (21.3% of cases) could affect IL-6 and ferritin values, potentially impacting their results. A common haematological alterations reported in critically ill COVID-19 patients are lymphopenia, thrombocytopenia, elevated NLR and decreased haemoglobin, with lymphopenia being the most frequently reported [18,19,20]. In the present study, non-survivors exhibited prominent lymphopenia, thrombocytopenia, anemia, and an increased NLR, with  $\Delta$  PLT and  $\Delta$  NLR as variables independently associated with mortality in the final multivariate analysis. Additionally, the ROC analysis indicates that  $\Delta$  NLR,  $\Delta$  PLT, and  $\Delta$  Hgb can be used as predictors of mortality in severe COVID-19 patients. Furthermore, it is interesting to note that lymphopenia showed further deterioration in non-survivors, while an increase in lymphocytes was observed in survivors ( $\Delta p$  = 0.003). Therefore, lymphocyte recovery served as a predictor of a positive outcome. In COVID-19, inflammation is related not only to ferritin but also to other iron metabolism biomarkers [21,22]. It is known that iron is a trace element with immunomodulatory function, influencing the susceptibility and outcome of various viral infections [23]. In the present study, all patients admitted to the MICU had hypoferremia and decreased TIBC and UIBC, but positive trends over time were observed only in survivors. The current ROC analysis indicates that  $\Delta$  Fe and  $\Delta$  TIBC could be also used as predictors of mortality in severe COVID-19 patients. In addition to inflammation, the hypercoagulable status assessed through the measurement of D-dimer, plays a crucial role in determining the outcome. A marked increase in D-dimer can occur in severe COVID-19 pneumonia and has been independently associated with mortality [24]. In the present study, all patients had increased values of D-dimer at admission, but non-survivors showed a statistically significant increase over time, and this could be used as a predictor for disease progression. All patients received a therapeutic dose of low-weight molecular heparin, in accordance with national guidelines for COVID-19 treatment, potentially influencing the D-dimer results. The same trend was observed for troponin T, LDH and Glu, with all patients having increased values at admission, but non-survivors showed a statistically significant increase over time, what can be sign of disease progression. The elevation

of LDH in severe COVID-19 pneumonia may suggest possible subclinical tissue damage, as its increase is often associated with critical illness [25]. As an indicator of myocardial injury, troponin levels can increase in conditions such as severe hypoxemia, hypotension, sepsis, viral myocarditis, and underlying cardiovascular comorbidity. Cardiac injury serve as an independent risk factor that significantly multiplies the death rate compared to infected COVID-19 patients without myocardial injury [26,27]. The insulin therapy used during treatment of hyperglycaemia could potentially influence the study results; however, the study revealed that survivors demonstrated better glycemic control, in line with findings from other studies [28]. Hypoalbuminemia was commonly observed in COVID-19 patients with severe disease, and might serve as a predictor of disease severity and mortality [29,30]. This data are consistent with study, where all patients admitted to the MICU had hypoalbuminaemia, non-survivors had negative trend during time, and ROC analysis indicated that  $\Delta$  Alb could be used as predictor of mortality in severe COVID-19 patients. Despite being recognized as an important prognostic marker in various studies [31], creatinine could not serve as a predictor of fatal outcomes in our study. However, 20.7% of non-survivors required CRRT, which could had an impact on the creatinine results. Homocysteine values were within the normal range, contrary to other reports where hyperhomocysteinemia was identified as a predictive marker for imaging progression in hospitalized COVID-19 patients [32,33]. All patients had vitamin D levels lower than recommended at each point in their MICU stay, with this deficiency being more significant during time in the non-survivors. These data were consistent to similar studies, where vitamin D insufficiency and deficiency correlated with the disease severity and outcome [34,35].

While it is generally established that male sex and older age contribute to a higher risk of complications and in-hospital death, a possible explanation could be the greater mobility and high prevalence of comorbidities among the middle-aged group of patients. The findings of comorbidities are consistent with data from meta-analyses among critically ill patients [9,10,11]. The prevalence of obesity and active smoking status was high in comparison with other studies, which can be explained by low socioeconomic status [9]. A higher proportion of smokers in the non-survivors group could indicate a link between smoking and illness severity. Despite the lack of statistical significance between the two groups of patients, the APACHE II score appears to be more valuable than the SOFA score for predicting the outcome of critically ill COVID-19 patients. The duration of hospitalization in MICU was longer for non-survivors ( $p = 0.006$ ), which could be attributed to poor treatment efficacy during hospitalization and the development of various complications, such as acute respiratory distress syndrome (ARDS), AKI, thrombosis, or multiple organ failure. A similar report can be found in the literature [36,37]. All treated patients required non-invasive or invasive mechanical ventilation, with invasive ventilation being less frequent compared to other studies, in contrast to non-invasive ventilation [36,37,38]. In the present study, critically ill patients with COVID-19 requiring vasopressors were associated with an unfavorable outcome. The use of vasopressor medication was lower compared to other studies, which could be explained by the lower proportion of invasive mechanical ventilation and sedation [39,40]. CRRT was initiated in 10.7% of cases not only for elevated creatinine levels but also for regulating volume status or acid-base balance, more often in the non-survivors group of patients ( $p = 0.026$ ). The reported rate of CRRT varied from 5% to 28%, which could be explained by different approaches and treatment protocols [41,42]. In one study, an ICU mortality of 39% were demonstrated for a population of critically ill COVID-19 patients that required CRRT [42]. The present study has some limitations, including a small sample size, a single-center design, and the fact that the content is not timely. Further multicenter large studies are needed to provide more information on critically ill COVID-19 patients.

## 5. Conclusion

Among inflammatory, haematological and biochemical markers  $\Delta$  CRP ( $p = 0.001$ ),  $\Delta$  IL-6 ( $p < 0.001$ ),  $\Delta$  NRL ( $p = 0.003$ ),  $\Delta$  Lymph ( $p = 0.003$ ),  $\Delta$  PLT ( $p < 0.001$ ),  $\Delta$  Hgb ( $p < 0.001$ ),  $\Delta$  Alb ( $p = 0.017$ ),  $\Delta$  Fe ( $p = 0.012$ ) and  $\Delta$  TIBC ( $p < 0.001$ ) could predict inhospital mortality in severe COVID-19 patients. Their monitoring could be useful in clinical practice.

## Acknowledgments

The authors have no acknowledgments.

## Funding

The authors report no funding.

## Author contributions

All authors agree to publish this article. The authors read and approved the final manuscript.

## Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

## Data availability

The data are available within the article or its supplementary materials.

## References

- [1] Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020; 323(13): 1239-1242. doi: 10.1001/jama.2020.2648.
- [2] Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study. *Lancet*. 2020; 395(10223): 507-513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
- [3] Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395(10223): 497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- [4] Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020; 395(10234): 1417-1418. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5.
- [5] Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*. 2020; 191: 145-147. doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.013.
- [6] Bhatraju PK, Ghassemieh BJ, Nichols M, et al. Covid-19 in critically ill patients in the seattle region-case series. *N Engl J Med*. 2020; 382(21): 2012-2022. doi: 10.1056/NEJMoa2004500.
- [7] Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A, et al. Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA*. 2020; 323(16): 1574-1581. doi: 10.1001/jama.2020.5394. Erratum in: *JAMA*. 2021; 325(20): 2120.

- [8] Guan W, Ni Z, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020; 382(18): 1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
- [9] Li J, He X, Yuan Yuan, et al. Meta-analysis investigating the relationship between clinical features, outcomes, and severity of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) pneumonia. *Am J Infect Control.* 2021; 49(1): 82-89. doi: 10.1016/j.ajic.2020.06.008.
- [10] Gallo Marin B, Aghagoli G, Lavine K, et al. Predictors of COVID-19 severity: A literature review. *Rev Med Virol.* 2021; 31(1): 1-10. doi: 10.1002/rmv.2146.
- [11] Yang J, Zheng Y, Gou X, et al. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: A systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2020; 94: 91-95. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.017.
- [12] Tom J, Bao M, Tsai L, et al. Prognostic and predictive biomarkers in patients with coronavirus disease 2019 treated with tocilizumab in a randomized controlled trial. *Crit Care Med.* 2022; 50(3): 398-409. doi: 10.1097/CCM.0000000000005229.
- [13] Wu C, Chen X, Cai Y, et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med.* 2020; 180(7): 934-943. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.0994. Erratum in: *JAMA Intern Med.* 2020; 180(7): 1031.
- [14] RECOVERY Collaborative Group, Horby P, Lim WS, Emberson JR, et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med.* 2021; 384(8): 693-704. doi: 10.1056/NEJMoa2021436.
- [15] Parimoo A, Biswas A, Baitha U, et al. Dynamics of Inflammatory Markers in Predicting Mortality in COVID-19. *Cureus.* 2021; 13(10): e19080. doi: 10.7759/cureus.19080.
- [16] Milenković M, Hadzibegovic A, Kovac M, et al. D-dimer, CRP, PCT, and IL-6 Levels at Admission to ICU Can Predict In-Hospital Mortality in Patients with COVID-19 Pneumonia. *Oxid Med Cell Longev.* 2022; 2022: 1-9. Available from: doi: 10.1155/2022/8997709.
- [17] Melo AKG, Milby KM, Caparroz ALMA, et al. Biomarkers of cytokine storm as red flags for severe and fatal COVID-19 cases: A living systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2021; 16(6): e0253894. doi: 10.1371/journal.pone.0253894.
- [18] Gong J, Dong H, Xia QS, et al. Correlation analysis between disease severity and inflammation-related parameters in patients with COVID-19: A retrospective study. *BMC Infect Dis.* 2020; 20(1): 963. doi: 10.1186/s12879-020-05681-5.
- [19] Mehta AA, Haridas N, Belgundi P, et al. A systematic review of clinical and laboratory parameters associated with increased severity among COVID-19 patients. *Diabetes Metab Syndr.* 2021; 15(2): 535-541. doi: 10.1016/j.dsx.2021.02.020.
- [20] Xu J, Yang X, Yang L, et al. Clinical course and predictors of 60-day mortality in 239 critically ill patients with COVID-19: A multicenter retrospective study from Wuhan, China. *Crit Care.* 2020; 24(1): 394. doi: 10.1186/s13054-020-03098-9.
- [21] Zhao K, Huang J, Dai D, et al. Serum Iron Level as a Potential Predictor of Coronavirus Disease 2019 Severity and Mortality: A Retrospective Study. *Open Forum Infect Dis.* 2020; 7(7). doi: 10.1093/ofid/ofaa250.
- [22] Shah A, Frost JN, Aaron L, et al. Systemic hypoferremia and severity of hypoxic respiratory failure in COVID-19. *Crit Care.* 2020; 24(1): 320. doi: 10.1186/s13054-020-03051-w.
- [23] Yadav D, Pvsn KK, Tomo S, et al. Association of iron-related biomarkers with severity and mortality in COVID-19 patients. *J Trace Elem Med Biol.* 2022; 74(127075): 127075. doi: 10.1016/j.jtemb.2022.127075.
- [24] Short SAP, Gupta S, Brenner SK, et al. D-dimer and death in critically ill patients with Coronavirus disease 2019. *Crit Care Med [Internet].* 2021; 49(5): e500-11. Available from: doi: 10.1097/ccm.0000000000004917.
- [25] Hariyanto TI, Japar KV, Kwenandar F, et al. Inflammatory and hematologic markers as predictors of severe outcomes in COVID-19 infection: A systematic review and meta-analysis. *Am J Emerg Med.* 2021; 41: 110-119. doi: 10.1016/j.ajem.2020.12.076.
- [26] Inciardi RM, Adamo M, Lupi L, et al. Characteristics and outcomes of patients hospitalized for COVID-19 and cardiac disease in Northern Italy. *Eur Heart J.* 2020; 41(19): 1821-1829. doi: 10.1093/euroheartj/ehaa388. Erratum in: *Eur Heart J.* 2020; 41(48): 4591.
- [27] Koźlik M, Błahuszewska A, Kaźmierski M. Cardiovascular System during SARS-CoV-2 Infection. *Int J Environ Res Public Health.* 2022; 19(3): 1184. doi: 10.3390/ijerph19031184.
- [28] Sardu C, D'Onofrio N, Balestrieri ML, et al. Outcomes in Patients With Hyperglycemia Affected by COVID-19: Can We Do More on Glycemic Control? *Diabetes Care.* 2020; 43(7): 1408-1415. doi: 10.2337/dc20-0723.
- [29] Aziz M, Fatima R, Lee-Smith W, et al. The association of low serum albumin level with severe COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2020; 24(1). doi: 10.1186/s13054-020-02995-3.
- [30] Zerbato V, Sanson G, De Luca M, et al. The Impact of Serum Albumin Levels on COVID-19 Mortality. *Infect Dis Rep.* 2022; 14(3): 278-286. doi: 10.3390/idr14030034.
- [31] Mudatsir M, Fajar JK, Wulandari L, et al. Predictors of COVID-19 severity: A systematic review and meta-analysis. *F1000Res.* 2020; 9: 1107. doi: 10.12688/f1000research.26186.2.
- [32] Yang Z, Shi J, He Z, et al. Predictors for imaging progression on chest CT from coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients. *Aging (Albany NY).* 2020; 12(7): 6037-6048. doi: 10.18632/aging.102999.
- [33] Ponti G, Maccaferri M, Ruini C, et al. Biomarkers associated with COVID-19 disease progression. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2020; 57(6): 389-399. doi: 10.1080/10408363.2020.1770685.

- [34] Vassiliou AG, Jahaj E, Pratikaki M, et al. Low 25-Hydroxyvitamin D Levels on Admission to the Intensive Care Unit May Predispose COVID-19 Pneumonia Patients to a Higher 28-Day Mortality Risk: A Pilot Study on a Greek ICU Cohort. *Nutrients.* 2020; 12(12): 3773. doi: 10.3390/nu12123773.
- [35] Cereda E, Bogliolo L, Klerys C, et al. Vitamin D 25OH deficiency in COVID-19 patients admitted to a tertiary referral hospital. *Clin Nutr.* 2021; 40(4): 2469-2472. doi: 10.1016/j.clnu.2020.10.055.
- [36] Larsson E, Brattström O, Agvald-Öhman C, et al. Characteristics and outcomes of patients with COVID-19 admitted to ICU in a tertiary hospital in Stockholm, Sweden. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2021; 65(1): 76-81. doi: 10.1111/aas.13694.
- [37] Namendys-Silva SA, Alvarado-Ávila PE, Domínguez-Cherit G, et al. Outcomes of patients with COVID-19 in the intensive care unit in Mexico: A multicenter observational study. *Heart Lung.* 2021; 50(1): 28-32. doi: 10.1016/j.hrtlng.2020.10.013.
- [38] COVID-ICU Group on behalf of the REVA Network and the COVID-ICU Investigators. Clinical characteristics and day-90 outcomes of 4244 critically ill adults with COVID-19: A prospective cohort study. *Intensive Care Med.* 2021; 47(1): 60-73. doi: 10.1007/s00134-020-06294-x.
- [39] Chang R, Elhusseiny KM, Yeh YC, et al. COVID-19 ICU and mechanical ventilation patient characteristics and outcomes—A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2021; 16(2): e0246318. doi: 10.1371/journal.pone.0246318.
- [40] Tan E, Song J, Deane AM, et al. Global Impact of Coronavirus Disease 2019 Infection Requiring Admission to the ICU: A Systematic Review and Meta-analysis. *Chest.* 2021; 159(2): 524-536. doi: 10.1016/j.chest.2020.10.014.
- [41] Leazer S, Collen J, Alcover K, et al. Outcomes Associated With Intensive Care and Organ Support Among Patients With COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Mil Med.* 2023; 188(3-4): 541-6. doi: 10.1093/milmed/usac143.
- [42] Eriksson KE, Campoccia-Jalde F, Rysz S, et al. Continuous renal replacement therapy in intensive care patients with COVID-19; survival and renal recovery. *J Crit Care.* 2021; 64: 125-130. doi: 10.1016/j.jcrc.2021.04.002.