



UNIVERZITET U BANJOJ LUCI

MEDICINSKI FAKULTET

Milana Stanić

**ZNAČAJ PARAMETARA OKSIDATIVNOG STRESA,
INFLAMACIJE I ENDOTELNE DISFUNKCIJE U SEPSI I
NJIHOVA ULOGA U DIFERENTOVANJU GRAM
NEGATIVNE I GRAM POZITIVNE SEPSE**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Banja Luka, 2025. godine



UNIVERSITY OF BANJA LUKA
FACULTY OF MEDICINE

Milana Stanic

**SIGNIFICANCE OF PARAMETERS OF OXIDATIVE STRESS,
INFLAMMATION AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN
SEPSIS AND THEIR ROLE IN DIFFERENTIATION GRAM
NEGATIVE AND GRAM POSITIVE SEPSIS**

DOCTORAL DISSERTATION

Banja Luka, 2025

ZAHVALNICA

Izražavam duboku zahvalnost mom mentoru, prof. dr Peđi Kovačeviću, na izuzetnom stručnom vođenju, nesebičnoj podršci i motivaciji tokom cjelokupnog istraživačkog rada.

Zahvalnost dugujem i mom komentoru, prof. dr Maji Travar, čija su dragocjena savjetovanja, sugestije i podrška značajno doprinijeli kvalitetu mog rada.

Takođe, izražavam zahvalnost dr Saši Dragiću na korisnim savjetima, stručnim sugestijama i podršci tokom realizacije ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem kolektivu Klinike za anesteziju i intenzivno liječenje i Klinike intenzivne medicine za nehirurške grane UKC RS na podršci i tehničkoj pomoći u prikupljanju podataka za izradu rada, kolektivu Zavoda za laboratorijsku dijagnostiku i Zavoda za mikrobiologiju UKC RS, kao i kolektivu Centra za biomedicinska istraživanja Medicinskog fakulteta u Banjoj Luci, na nesebičnoj podršci i pomoći prilikom sprovođenja eksperimentalnog dijela doktorske disertacije.

Najiskreniju zahvalnost upućujem mom suprugu za bezrezervnu podršku, razumijevanje i beskrajno strpljenje, koji su mi bili oslonac na ovom putu.

Zahvaljujem se mojim dragim roditeljima na безусловnoj podršci i bezgraničnoj ljubavi.

I na kraju, svoju doktorsku disertaciju posvećujem onima koji su u moj život unijeli neizmjernu radost, stvorili najjače emocije i koji me svakim danom čine srećnom – mojoj djeci, Milici i Mariji.

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

Komentor: Prof. dr Maja Travar, vanredni profesor, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci

Naslov doktorske disertacije: Značaj parametara oksidativnog stresa, inflamacije i endotelne disfunkcije i njihova uloga u diferentovanju Gram negativne i Gram pozitivne sepe

Rezime: Na Trećem internacionalnom konsenzusu za sepsu i septični šok (Sepsis 3) usaglašena je nova definicija sepe. Prema toj definiciji, sepsa je organska disfunkcija opasna po život usljed neadekvatnog odgovora domaćina na infekciju. Sepsa je jedan od najčešćih razloga prijema u jedinicu intenzivnog liječenja (JIL) i jedan od vodećih uzroka smrti u svijetu. To je složen klinički sindrom u kome je poremećen odgovor domaćina na infekciju, sa pojavom dvije suprotne reakcije - proinflamatorne i antiinflamatorne. Ovaj disregulisani imuni odgovor na infekciju povezan je sa neuspjehom u obnavljanju homeostaze, postaje štetan po domaćina, oštećuje ćelije i tkivo i rezultira stanjem opasnim po život. Iako znanje o patogenezi sepe brzo raste, ovaj složeni sindrom još uvijek nije u potpunosti razjašnjen i shvaćen. Liječenje sepe i septičkog šoka značajno je napredovalo u posljednjih nekoliko godina. Poboljšanje znanja o glavnim terapijskim osnovama ovog izazovnog stanja je ključno za postizanje boljih ishoda za pacijente. Cilj ovog istraživanja su da se utvrdi značaj praćenja klirensa laktata i scoring sistemima (qSOFA i SOFA skor) u smislu prognostičkog značaja na krajnji ishod liječenja. Takođe, cilj ovog istraživanja je da se utvrdi da li se na osnovu profila PCT, IL-6, TNF- α , parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite (TBARS, NO $_2^-$, H $_2$ O $_2$, O $_2^-$, SOD, CAT i GSH), von Willebrandov faktor (vWF), homocistein (Hcy) i vitamin B $_{12}$, mogu razlikovati GP i GN sepe te da procijenimo njegov uticaj na krajnji ishod liječenja. U ovo prospektivno, opservaciono-kohortno istraživanje uključeno je 87 pacijenata kojima je prema Sepsis 3 kriterijumima postavljena dijagnoza sepe. Istraživanje je urađeno u Klinici za anesteziju i intenzivno liječenje i Klinici intenzivnog liječenja za nehirurške grane UKC RS u periodu od jula 2021. godine do februara 2023. godine. Ispitanicima po postavljanju dijagnoze sepsa uzorkovana je krv za hemokulturu i urin za urinokulturu. Kod sumnji na infekciju uzimani su brisevi rana, mekih tkiva, kao i punktati sa lokacija koji su upućivali na razvoj infekcije i mikrobiološki su analizirani. Na osnovu prispjelih mikrobioloških rezultata analizirali smo četiri grupe infekcija kod septičnih pacijenata: I grupa - Gram-pozitivni (GP) septični pacijenti kojima je mikrobiološkom analizom izolovana jedna ili više GP bakterija, II grupa - Gram-

negativni (GN) septični pacijenti kojima je mikrobiološkom analizom izolovana jedna ili više GN bakterija, III grupa - polimikrobna grupa su pacijenti kojima su mikrobiološkom analizom izolovane i GP i GN bakterije (GP/GN) i IV grupa - negativna kultura (NC) uzorci u kojima mikrobiološkom analizom nisu nađeni patogeni. Na osnovu prispjelih mikrobioloških analiza ustanovljen je izvor infekcije i ispitanici su na osnovu izvora infekcije klasifikovani u šest grupa: I grupa - ispitanici kojima je izvor infekcije krv (HK), II grupa - ispitanici kojima je izvor infekcije urinarni sistem (UK), III grupa - ispitanici kojima je izvor infekcije respiratorni sistem (BAL), IV grupa - ispitanici kojima je izvor infekcije koža, meka tkiva i punktati (grupa - bris rane/apscesa), V grupa - ispitanici koji imaju više izvora infekcije i VI grupa - ispitanici kojima je dijagnostikovana sepsa, ali izvor infekcije mikrobiološki nije potvrđen (grupa - sterilno). Ispitanici su na osnovu nalaza hemokulture klasifikovani su u tri grupe: GP grupa - ispitanici kod kojih je hemokultura pokazala prisustvo Gram-pozitivnih bakterija (GP grupa), GN grupa - ispitanici kod kojih je hemokultura pokazala prisustvo Gram-negativnih bakterija (GN grupa) i grupa NC - ispitanici kojima je hemokultura bila sterilna tj. nije bilo mikrobiološkog rasta. Prvo uzorkovanje ispitivanih parametara obavljeno je odmah nakon postavljanja dijagnoze sepse (T_1), dok je drugo uzorkovanje izvršeno 24 sata kasnije (T_2). Svi ispitivani parametri analizirani su u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja i poređeni su sa grupama sepsa i septički šok. Ispitivani parametri poređeni su i sa grupama u koje su pacijenti klasifikovani na osnovu: tipa infekcije, izvora infekcije i nalaza hemokulture. Na osnovu qSOFA i SOFA skor, laktata mjernih u pet vremenskih tačaka i klirensa laktata izračunatih u četiri vremenska intervala, ispitivali smo njihov prognostički značaj na krajnji ishod liječenja. Na osnovu rezultata sprovedenog istraživanja izvedeni se zaključci da interleukin 6 (IL-6) može biti koristan biomarker u diferentovanju Gram-pozitivne (GP) i Gram-negativne (GN) sepse dok prokalcitonin (PCT), faktor nekroze tumora alfa ($TNF-\alpha$), parametri oksidativnog stresa, homocistein i vitamin B₁₂ nemaju prognostički značaj u diferentovanju GP i GN sepse. Takođe, navedeni biomarkeri nemaju prognostički značaj na krajnji ishod liječenja. Starosna dob i serijsko praćenje laktata, pri čemu je posebno važan nivo laktata 6 sati nakon dijagnostikovanja sepse, klinički su relevantni i statistički značajani pokazatelji lošeg ishoda liječenja septičnih pacijenata.

Ključne riječi: sepsa, Gram pozitivne bakterije, Gram negativne bakterije, oksidativni stres, endotelna disfunkcija, intenzivna njega

Naučna oblast: Hirurgija, Anesteziologija

Naučno polje: Medicina

Uža naučna oblast: Intenzivna medicina

Klasifikacija oznaka za naučnu oblast prema CERIF šifrarniku: B 590

Tip odabira licence Kreativne zajednice (Creative Commons) na način korišćenja sadržaja doktorske disertacije: Autorstvo-nekomercijalne-dijeliti pod istim uslovima

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

Commentator: Prof. Dr. Maja Travar, Associate Professor, Faculty of Medicine, University of Banja Luka

Title of the doctoral dissertation: Significance of Parameters of Oxidative Stress, Inflammation, and Endothelial Dysfunction in Sepsis and Their Role in Differentiating Gram-Negative and Gram-Positive Sepsis

Summary: At the Third International Consensus on Sepsis and Septic Shock (Sepsis 3), a new definition of sepsis was established. According to this definition, sepsis is a life-threatening organ dysfunction resulting from an inadequate host response to infection. Sepsis is one of the most common causes of admission to the intensive care unit (ICU) and remains one of the leading causes of mortality worldwide. It is a complex clinical syndrome in which the host's immune response to infection becomes dysregulated, leading to two opposing reactions: pro-inflammatory and anti-inflammatory responses. This dysregulated immune response is associated with the failure to restore homeostasis, which becomes harmful to the host, causing cellular and tissue damage, and ultimately resulting in a life-threatening condition. While our understanding of the pathogenesis of sepsis is rapidly advancing, this complex syndrome is still not fully elucidated. Over recent years, the treatment of sepsis and septic shock has significantly progressed. Enhancing knowledge of the core therapeutic principles of this challenging condition is crucial for improving patient outcomes. The aim of this study is to determine the significance of monitoring lactate clearance and scoring systems (qSOFA and SOFA scores) in terms of their prognostic value for the final treatment outcome of septic patients. Additionally, this study aims to assess whether Gram-positive (GP) and Gram-negative (GN) sepsis can be differentiated based on PCT, IL-6, TNF- α , oxidative stress parameters, and antioxidant defense markers (TBARS, NO $_2^-$, H $_2$ O $_2$, O $_2^-$, SOD, CAT and GSH), von Willebrand factor (vWF), homocysteine (Hcy), and vitamin B $_{12}$, and to evaluate their impact on the final treatment outcome. This prospective, observational cohort study included 87 patients diagnosed with sepsis according to Sepsis 3 criteria. The research was conducted at the Clinic for Anesthesia and Intensive Care and the Clinic for Intensive Care for Non-Surgical Specialties at the University Clinical Center of Republic of Srpska (UKC RS) between July 2021 and February 2023. Upon establishing the diagnosis of sepsis, blood samples for blood culture and urine samples for urine culture were collected from the patients. In cases of

suspected infection, wound and soft tissue swabs, as well as aspirates from suspected infection sites, were collected and analyzed microbiologically. Based on the obtained microbiological results, we analyzed four groups of infections in septic patients: group I - Gram-positive (GP) septic patients in whom one or more GP bacteria were isolated through microbiological analysis, group II - Gram-negative (GN) septic patients in whom one or more GN bacteria were isolated through microbiological analysis, group III - polymicrobial group (GP/GN): patients in whom both Gram-positive and Gram-negative bacteria were isolated, and group IV - negative culture (NC): samples in which no pathogens were detected through microbiological analysis. Based on microbiological analyses, the source of infection was determined, and patients were classified into six groups accordingly: group I - patients whose source of infection was the bloodstream (HK), group II - patients whose source of infection was the urinary system (UK). Group III - patients whose source of infection was the respiratory system (BAL), Group IV - patients whose source of infection was the skin, soft tissues, and aspirates (wound/abscess swab group), Group V - patients with multiple sources of infection, and group VI - patients diagnosed with sepsis, but without a microbiologically confirmed source of infection (sterile group). Based on blood culture findings, patients were classified into three groups: GP group - patients with Gram-positive bacteria in blood cultures, GN group - patients with Gram-negative bacteria in blood cultures, and NC group - patients with sterile blood cultures, indicating no microbial growth. The first sampling of the examined parameters was performed immediately after the diagnosis of sepsis was established (T_1), while the second sampling was conducted 24 hours later (T_2). All parameters examined were analyzed in relation to the 28-day treatment outcome and were compared between the sepsis and septic shock groups. The examined parameters were also compared across groups in which patients were classified based on the type of infection, the source of infection, and blood culture results. The prognostic significance of qSOFA and SOFA scores, lactate levels (measured at five time points), and lactate clearance (calculated over four intervals) was evaluated in relation to final treatment outcomes. The results show that interleukin-6 (IL-6) may serve as a useful biomarker for differentiating Gram-positive and Gram-negative sepsis. However, procalcitonin (PCT), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), oxidative stress markers, homocysteine (Hcy), and vitamin B₁₂ did not show prognostic significance in differentiating GP from GN sepsis or in predicting overall treatment outcomes. Age and serial lactate monitoring, especially lactate levels measured six hours after the diagnosis of sepsis, have been shown to be clinically relevant and statistically significant indicators of poor prognosis in septic patients.

Keywords: sepsis, septic shock, Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria, oxidative stress, endothelial dysfunction, intensive care

Scientific area: Surgery, Anesthesiology

Narrow scientific area: Critical care

Classification according to CERIF classification system: B 590

Type of the selected licence of the Creative Commons how to use the content of the doctoral dissertation: Attribution-NonCommercial-ShareAlike

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. SEPSA.....	1
1.1.1 Istorijat sepe	1
1.1.2 Definicije sepe.....	4
1.1.3 Epidemiologija.....	8
1.1.4 Faktori rizika za nastanak sepe.....	10
1.1.5 Etiologija sepe.....	10
1.1.6 Patofiziologija sepe i septičkog šoka	11
1.1.6.1 Septički šok	16
1.1.6.2 Razvoj diseminovane intravaskularne koagulacije	17
1.1.6.3 Multiorganska disfunkcija	17
1.1.6.4 Laktat u sepsi	18
1.1.7 Dijagnoza sepe	22
1.1.7.1 Kontrola infekcije	23
1.2 BIOMARKERI INFLAMACIJE	24
1.2.1 C-reaktivni protein (CRP)	25
1.2.2 Prokalcitonin (PCT)	25
1.2.3 Interleukin-6 (IL-6).....	26
1.2.4 Leukociti (WBC)	26
1.2.5 Faktor nekroze tumora alfa (TNF- α).....	27
1.3 OKSIDATIVNI STRES.....	27
1.3.1 Slobodni radikali	27
1.3.2 Antioksidansi	31
1.3.3 Mehanizam djelovanja antioksidanasa.....	32
1.3.4 Uloga oksidativnog stresa u sepsi	34
1.4 ENDOTELNA DISFUNKCIJA.....	36
1.4.1 Posljedice endotelne disfunkcije u sepsi.....	36
1.4.2 Von Willebrandov faktor (vWF)	39
1.4.3 Vitamin B ₁₂ (kobalamin).....	40
1.4.4 Homocistein (Hcy)	41
2. RADNE HIPOTEZE	42

3.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA	43
4.	ISPITANICI I METODE RADA.....	44
4.1.	DIZAJN STUDIJE.....	44
4.1.1	Koncepcija studije.....	44
4.1.2	Kriterijumi za uključenje	45
4.1.3	Kriterijumi za neuključenje	45
4.1.4	Kriterijumi za isključenje.....	45
4.2	PRIKUPLJANJE PODATAKA ZA ISTRAŽIVANJE	46
4.3	UZORKOVANJE, PRIPREMA, SKLADIŠTENJE I ANALIZA UZORAKA	47
4.4	ISPITIVANJE PARAMETARA INFLAMACIJE, OKSIDATIVNOG STRESA I ENDOTELNE DISFUNKCIJE	50
4.4.1	Izvođenje testa Human TNF- α	52
4.4.2	Izvođenje testa IL-6 (interleukin 6) ELISA.....	53
4.5	MIKROBIOLOŠKA ANALIZA BIOLOŠKIH UZORAKA KOD ISPITANIKA SA DOKAZANOM SEPSOM.....	55
4.6	STATISTIČKA OBRADA PODATAKA.....	56
5.	REZULTATI	57
5.1	Prosječne vrijednosti ispitivanih parametara u odnosu na ukupan broj ispitanika	57
5.2	Rezultati ispitivanih parametara u odnosu na tip infekcije (GP; GN; GP/GN; NC).....	61
5.3	Rezultati ispitivanih parametara u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja	66
5.4	Rezultati laktata i klirensa laktata u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja	70
5.5	Rezultati ispitivanih parametara u odnosu na grupe sepsa/septički šok.....	72
5.6	Rezultati ispitivanih parametara u odnosu na izvore infekcije	77
5.7	Rezultati ispitivanih parametara u odnosu na hemokulturu	82
6.	DISKUSIJA.....	90
6.1	Analiza demografskih i kliničkih karakteristika u odnosu na septične ispitanike	90
6.2.	Ispitivani parametri u odnosu na tip infekcije	92
6.4	Uticaj laktata i klirensa laktata na preživljavanje.....	100
6.5	Ispitivani parametri u odnosu na sepsu i septički šok	102
6.6	Ispitivani parametri u odnosu na izvore sepse	105
6.7	Ispitivani parametri u odnosu na hemokulturu.....	109
6.8	Multivarijantna logistička regresiona analiza za prognozu preživljavanja septičnih ispitanika	113
7.	ZAKLJUČAK.....	116
8.	LITERATURA	117

9.	BIOGRAFIJA.....	139
----	-----------------	-----

1. UVOD

1.1 SEPSA

1.1.1 Istorijat sepse

Na Trećem internacionalnom konsenzusu za sepsu i septički šok (*Sepsis 3*) usaglašena je nova definicija sepse. Prema toj definiciji, sepsa je organska disfunkcija opasna po život usljed neadekvatnog odgovora domaćina na infekciju (Slika 1.) [1,2]. Sepsa je jedan od najčešćih razloga prijema u jedinicu intenzivnog liječenja (JIL) i jedan od vodećih uzroka smrti u svijetu [3,4]. Milioni ljudi u svijetu svake godine obole od sepse, pri čemu je stopa smrtnosti i dalje visoka, te se kreće oko 25% za sepsu i oko 50% za septički šok [5,6]. Od vitalnog značaja je rano prepoznavanje sepse u prvim satima njenog nastanka kao i preduzimanje adekvatnih terapijskih mjera (reanimacionih mjera). U liječenju sepse u novije vrijeme postignut je izuzetan napredak. Stopa mortaliteta postepeno je opala kao rezultat pravovremenog davanja antibiotika, reanimacije tečnostima i primjene različitih terapija koje imaju za cilj istovremenu podršku više organa i organskih sistema. Međutim, još uvijek postoji značajan mortalitet i prostor za poboljšanje. Ovo se posebno odnosi na zemlje sa niskim resursima. Poboljšanje znanja o osnovnim terapijskim principima ovog izazovnog stanja od suštinskog je značaja za postizanje boljih ishoda za pacijente [7,8,9]. Sama riječ sepsa potiče od grčke riječi „σηψις” koja označava „raspadanje životinjskih ili biljnih organskih materija”. U medicinskom kontekstu ova riječ se prvi put pojavljuje u Homerovim poemama i izvedena je iz grčke reči sepo „σηπω” koja znači „trulim”. U medicinskoj literaturi, riječ je prvi koristio Hipokrat u njegovom djelu Corpus Hippocraticum [10]. Za Hipokrata je sepsa predstavljala opasno, smrdljivo, biološko truljenje koje se može pojaviti u tijelu. Takođe, grčkim ljekarima je bila poznata opasnost sistemske reakcije što se veoma jasno vidi iz ovog opisa: „*Lokalna lezija, zagrijana prilivom tečnosti, može da izazove groznicu cijelog tijela. Zbog toga neko može umrijeti, pogotovo na neparne dane*” [11]. Ovaj opis prikazuje identifikaciju kliničkog fenomena koji je danas poznat pod imenom sepsa. S obzirom da su biološki principi ovog procesa bili nepoznati, vjerovalo se da je porijeklo truljenja u sepsi poticalo iz debelog crijeva gdje su se oslobađale „opasne čestice” koje su prouzrokovale „autointoksikaciju”. Hipokrat je pokušavao da nađe lijek za ovo oboljenje izučavajući antiseptična svojstva alkohola iz vina i sirćeta. Sljedeće značajnije pojavljivanje riječi sepsa u medicinskom kontekstu bilo je djelo Galena, rimskog filozofa i ljekara grčkog porijekla. Galenova medicinska doktrina je

dominirala zapadnim i arapskim svijetom skoro 1500 godina. Iako su živjeli vijekovima razdvojeni, Galen je bio Hipokratov sljedbenik i prihvatio je mnoge njegove medicinske postulate i praktično, nastavio istraživanje sepse. Na principima Galenovih teorija, Rimljani su vjerovali da je taj sindrom posljedica nevidljivih bića koja ispuštaju smrdljivi dim koji su zvali „*miasma*” ili „*miasmata*” [12]. Zahvaljujući ovim “stvorenjima” zasnovan je čitav sistem javnog zdravlja tog vremena koji naglašava sprovođenje higijene. To je i bilo djelimično tačno jer se sepsa razvija kao posljedica infekcije koja može nastati kao rezultat loše higijene. Nažalost Rimljani tad nisu shvatali put prenošenja kontaktom, te je nastanak teorije zaraznih bolesti ipak morao da sačeka, kao i mnoge preventivne mjere. Iako je Galen pretpostavio da postoji „nešto u vazduhu” što prenosi kugu, ipak je bilo potrebno nekoliko vijekova da prođe do nastanka Teorije klica u XIX vijeku. Preteča ove teorije, jedne od najzačajnijih u čitavoj medicinskoj nauci, bila je ideja italijanskog ljekara, pjesnika, astronoma i geologa, Điolama Frakastora. On je u svom djelu „*De contagione et contagiosis morbis*” (1546. godine) pisao o „*contagium virum*” i opisao je tri vrste prenosa zaraze: direktnim kontaktom, indirektno preko zaraženih predmeta ili iz daljine tj. vazduhom [13]. Pretpostavio je čak i da se infekcija prenosi „malim tijelima” koja mogu sama da se umnožavaju. Antoni van Levenhuk ih je prvi vidio svojim očima. Holandski trgovac bez ikakvog formalnog obrazovanja, koga mnogi smatraju ocem mikrobiologije, tokom svog života pravio je optičke aparate i konstruisao je oko 400 mikroskopa. Upravo preko svojih mikroskopa, posmatrajući različite uzorke, od krvi do vode iz bunara, crtao je i opisivao male organizme koje je nazvao „*animalcules*”. Crteži koje je tad napravio, prvi put 1674. godine, na kojima je nacrtao te organizme kao sfere, štapiće i spirale, predstavljaju prve slike koka, bacila i spiroheta [12,13]. Devetnaesti vijek definitivno predstavlja prekretnicu saznanja o infekciji, o njenom porijeklu i prenošenju. Eksponencijalni rast znanja iz ove oblasti doveo je i do nastanka Teorije klica koja je preteča svih modernih definicija sepse. Životna priča Ignaca Semelvajza je zasigurno jedna od najtragičnijih i najpoučnijih priča u istoriji medicine. Doktor Semelvajz, mađarski ljekar, radio je 1841. godine u Bečkoj opštoj bolnici. Akušersko odjeljenje bilo je podjeljeno na Prvu i Drugu kliniku. Na obe klinike su se žene porađale, ali na Prvoj klinici porodilje su znatno češće umirale od puerperalne groznice nego na Drugoj klinici. Doktora Semelvajza je uznemiravala činjenica, da na klinici gdje je on radio i učio, mortalitet bio 16%, naspram 2% u Drugoj klinici. Ova činjenica ga je navela da traga za uzrokom tako velike razlike [14]. Ništa se praktično nije razlikovalo između ove dvije klinike osim činjenice da su na porođajima u Prvoj klinici asistirali studenti medicine, s obzirom da je to bila i nastavna baza, a na Drugoj klinici medicinske sestre - babice. Nakon smrti jednog kolege i dobrog prijatelja, 1847. godine, dr Semelvajz je povezao

te dvije stvari vidjevši sličnosti obdukcionog nalaza kolege koji se posjekao na skalpel prilikom autopsije i porodilja koje su umrle od porodijske groznice. Naime, studentska praksa je podrazumjevala i obavljanje autopsija pokojnica koje su preminule prethodnog dana, a potom preglede zdravih trudnica i asistiranje na porođaju. Doktor Semelvajz je tada izjavio da doktori i studenti na svojim prstima prenose smrtonosne otrove sa leša na trudnice, te je na svojoj klinici uveo praksu pranja ruku kalcijum hloridom prije kontakta sa pacijentom. Ovim postupkom je smanjena stopa smrtnosti na ispod 3% [12]. Nažalost, činjenica da su „prljave” ruke ljekara uzrok smrti nije naišla na prihvatanje, Semelvajz je dobio otkaz, a na kraju je preminuo u psihijatrijskoj ustanovi. Srećom ideje koje je Ignac Semelvajz imao, nisu umrle sa njim. Veliki korak ka nastanku i razvoju mikrobiologije, asepse i antiseptice napravio je Francuz Luj Paster koji je, 1865. godine objavio rezultate svojih istraživanja kojima je na nepobitan način dokazao nastajanje mikroorganizama i njihovu ulogu u fermentaciji. Takođe je dokazao da u vazduhu ima mikroorganizama i da se mogu sterilisati zagrijavanjem. Konačno, Paster je 1878. godine prezentovao Francuskoj medicinskoj akademiji svoju Teoriju klica [12,15]. Kasnije je utvrdio i objavio da su streptokoke uzročnici porodijske groznice. Pasterov savremenik, engleski hirur Džozef Lister je primjenio Pasterove zaključke u sopstvenim istraživanjima o infekciji rane. Naime, on je potvrdio svoju hipotezu da je fermentacija koju pokazuje Paster isti proces koji se odvija kod njegovih pacijenata koji imaju infekciju rane. Ova istraživanja su dovela do nastanka teorije i principa antiseptice, a prvi rad na tu temu u kom je opisao antiseptično liječenje otvorenih preloma karbolnom kiselinom (fenol), Lister je objavio u Lancetu 1867. godine. Međutim, pravi odjek svojih otkrića doživio je 1877. godine kad je uveo praksu antiseptice na svoje odjeljenje hirurgije i time postigao, za to vrijeme nevjerovatne rezultate u smanjenu incidencije infekcije rane [15,16]. Robert Koh, njemački ljekar i mikrobiolog, dao je takođe neprocjenjiv doprinos da ovo postane zlatno doba mikrobiologije. Robert Koh se zajedno sa Pasterom i Listerom smatrao ocem mikrobiologije. Njegovo najpoznatije otkriće je bacil tuberkuloze, a polje njegovog istraživanja je toliko široko da je praktično uticao na skoro svaki korak u razvoju mikrobiologije, od stvaranja vještačke kulture do dezinfekcije i sterilizacije. Kako se Teorija klica potpuno prihvatila u medicinskoj zajednici, pažnja se tada okrenula ka ciljanom iskorjenjivanju bakterija. Razvoj antibiotika se najčešće pripisuje engleskom ljekaru Aleksandru Flemingu koji je 1929. godine svijetu otkrio penicilin. Prije Fleminga, Pol Erlih je zvanično prvi došao na ideju da postoje supstance koje mogu da ubiju te novootkrivene mikroorganizme koji izazivaju infekciju. Poslije brojnih pokušaja da napravi supstancu koja bi ubijala bakterije, uspio je da napravi Salvarsan koji je sadržao arsen, a uskoro je postao standardni lijek za sifilis [15]. Dok je za Hipokrata sepsa predstavljala proces smrdljivog

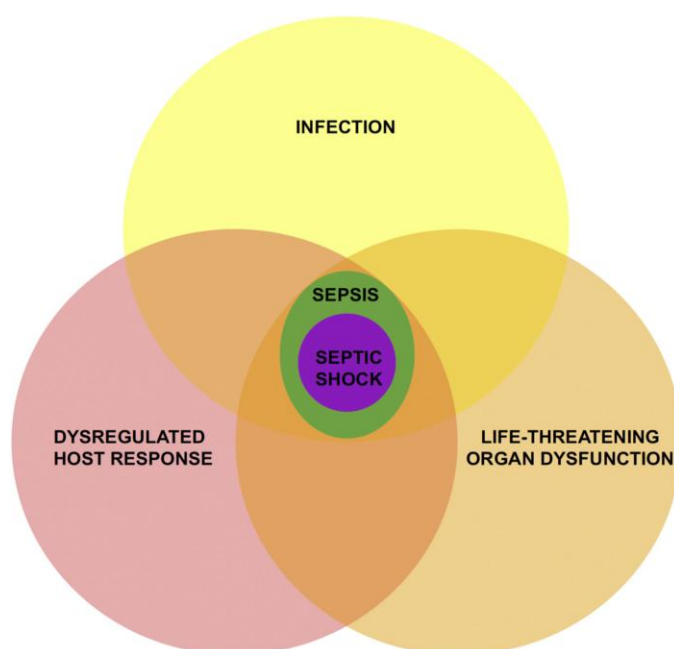
truljenja, za Galena je bila ključan proces zarastanja rana, što je u skladu sa Teorijom klica. Sepsa se smatra sistemskom infekcijom i od tada sepsa je definisana kao trovanje krvi. Pojavom antibiotika Teorija klica nije u potpunosti objasnila patogenezu sepse, s obzirom da su mnogi pacijenti sa sepsom umrli uprkos uspešnoj eliminaciji patogena. Pretpostavka da glavni faktor u patogenezi sepse nije klica, nego domaćin, inicirala je formiranje prve moderne definicije sepse 1991. godine i od tada se ovaj sindrom definiše kao odgovor organizma na infekciju. Napretkom nauke i boljim poznavanjem patogeneze, mikrobiologije, imunologije, promjene u cirkulaciji i organskoj funkciji, sama definicija je pretrpjela još dvije revizije. Danas su te tri definicije poznate kao Sepsa 1, Sepsa 2 i Sepsa 3.

1.1.2 Definicije sepse

Jedan od najvećih problema u vezi sa sepsom jeste njena definicija, budući da sepsa nije pojedinačna bolest, već sindrom koji predstavlja zajednički naziv za skup simptoma koji prate infekciju. Njena heterogenost predstavlja ozbiljnu poteškoću u njenom prepoznavanju, liječenju i proučavanju. Zbog toga je neophodna precizna i objektivna definicija, kako bi se omogućilo postavljanje dijagnoze, sprovođenje adekvatne terapije, kvantifikacija rezultata terapijskih intervencija, planiranje multicentričnih međunarodnih studija, kao i olakšana stručna komunikacija [17]. Iako postoji preko 2000 biomarkera, ne postoji standardni dijagnostički test za sepsu. Takođe, ne postoji ni zlatni standard ili patohistološki supstrat koji bi dao sigurnu dijagnozu. Definicija i dijagnoza se postavljaju kada se ispune određeni kriterijumi karakteristični za ovaj sindrom. Sve do pred kraj prošlog vijeka sepsa je uglavnom bila sinonim za bakterijemiju i šok, da bi prva moderna, objektivna definicija, poznata danas kao Sepsa 1, nastala u Čikagu 1991. godine na sastanku Američkog koledža grudnih ljekara - ACCP (*engl. American College of Chest Physicians*) i američkog Udruženja intenzivne medicine - SCCM (*engl. Society of Critical Care Medicine*), nazvanom Konsenzus konferencija. Zaključci konsenzusa objavljeni su 1992. godine i od tada su u opštoj upotrebi. Prema tom konsenzusu dijagnoza sepse se postavlja kada postoji sumnja na infekciju ili je ona verifikovana i sistemski odgovor organizma na infekciju. Sepsa je definisana kao identifikacija dva ili više SIRS kriterija, uz poznatu ili sumnjivu infekciju (Tabela 1.), dok je teška sepsa definisana kao klinička sepsa praćena disfunkcijom organa, hipoperfuzijom ili hipotenzijom. Prema ovoj definiciji, istovremeno zahvatanje više organa se primjećuje kod septičkog šoka, kao što je kardiovaskularni (hipotenzija ili hipoperfuzija), bubrežni (oligurija), respiratorni ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300 \text{ mmHg}$), jetreni (ukupni bilirubin u plazmi $> 4 \text{ mg dL}^{-1}$), hematološki (broj trombocita $< 100\,000/\mu\text{L}$), centralni nervni sistem (poremećaj mentalnog statusa), neobjašnjiva metabolička

acidoza, itd. Septički šok se definiše kao klinička slika u kojoj se primjećuje hipotenzija koja je otporna na nadoknadu tečnosti i primjenu vazopresora (prosječni arterijski krvni pritisak ≤ 70 mmHg) i hipoperfuzija [18,19]. Ova definicija omogućila je objedinjavanje kriterijuma i standardizaciju protokola u epidemiološkim i istraživačkim studijama, što je dovelo do procvata u izučavanju ovog sindroma, unapređenja dijagnostike i ranijeg započinjanja terapije. Najveći problem sa Sepsa 1 definicijom predstavlja njena niska specifičnost uz visoku senzitivnost. Praktično svaki pacijent koji je akutno i kritično bolestan ima pozitivne SIRS kriterijume. Međutim, neki pacijenti sa sepsom nemaju SIRS kriterijume. S obzirom da je bilo potrebno usaglašavanje, u Vašingtonu je 2001. godine održan je Drugi Konsenzus sastanak, od strane SCCM-a, Evropskog udruženje intenzivne medicine - ESCIM (*engl. European Society of Intensive Care Medicine*), ACCP-a, Američkog torakalnog udruženja - ATS (*engl. American Thoracic Society*) i Udruženja za hirurške infekcije - SIS (*engl. Surgical Infection Society*). Kriterijumi za sepsu su ažurirani i napravljena je nova definicija sepse poznata kao Sepsa 2, a zaključci su objavljeni 2003. godine. Sepsa je definisana kao infekcija plus neki od sledećih kriterijuma sa liste znakova i simptoma sepse: hipertermija ili hipotermija, tahikardija ili tahipneja, izmenjen mentalni status, edem ili pozitivan balans tečnosti, hiperglikemija (u odsustvu dijabetesa), leukocitoza ili leukopenija, povišen C-reaktivni protein (CRP) ili prokalcitonin (PCT), hipotenzija, niska saturacija kiseonikom miješane venske krvi (SvO₂) ili visok srčani indeks, hipoksija, oligurija ili povišen kreatinin, poremećaj koagulacije, ileus, trombocitopenija, povišen bilirubin, povišen laktat i sporo kapilarno punjenje. Definicije sepse, teške sepse i septičkog šoka koje su ozvaničene na konsenzusnom sastanku 10 godina prije, modifikovane su. Znaci i simptomi sepse bili su mnogo veći po broju i detaljima u poređenju sa kriterijumima identifikovanim na sastanku konsenzusa 1991. godine, a konferencija 2001. pokušala je da definiše ove znakove i simptome. Definicije ne mogu adekvatno definisati odgovor pacijenta na infekciju. Dokumentovani ili sumnjivi nalazi specifični za infekciju kategorizovani su kao opšti, inflamatorni, hemodinamski, poremećaji funkcije organa i varijacije perfuzije tkiva. U obzir se uzimaju i biohemijski indikatori, čija je uloga u ranoj dijagnozi posebno naglašena u najnovijim ažuriranjima [2]. Novi model za poboljšanje stratifikacije i individualizacije pristupa pacijentima sa sepsom je predložen 2001 godine. Koncept sepse, teške sepse i septičkog šoka je ostao nepromijenjen, a predložen je i novi model za gradaciju težine infekcije, po uzoru na TNM (*engl. Tumor, Node, Metastasis*) klasifikaciju kod tumora, nazvan PIRO sistem (*engl. Predisposition, Infection, Response, Organ dysfunction*). PIRO sistem je model dizajniran za određivanje stadijuma infekcije i praćenje reakcije domaćina na osnovu faktora za koje se pretpostavlja da utiču na ishod [20]. Problemi

sa novom definicijom (Sepsa 2) su bili ti da su kliničari i dalje postavljali dijagnozu sepse koristeći se SIRS kriterijumima. Nova definicija jeste imala veću senzitivnost, ali manju specifičnost. PIRO model nije zaživio, a još jasniji signal da je potrebna promjena bila je činjenica da je mali procenat ljekara, manji od 20%, precizno znao i koristio tačnu definiciju [21,22]. Godine 2014., ESICM i SCCM sazvali su Radnu grupu od 19 eksperata iz intenzivne medicine sa ciljem da se ažurira definicija i klinički kriterijumi za identifikaciju septičnih pacijenata. Februara 2016. godine u JAMA-i (*engl. Journal of the American Medical Association*) su objavljeni njihovi zaključci i prijedlog nove definicije sepse, nazvana Sepsa 3 [22]. Predložena definicija sepse je: „organska disfunkcija opasna po život usljed neadekvatnog odgovora domaćina na infekciju” (Slika 1.). Umjesto SIRS kriterijuma koristi se SOFA skor (*engl. Sequential Organ Failure Assessment*). Termin „teška sepsa” se više ne koristi, s obzirom da je organska disfunkcija neophodna za postavljanje dijagnoze [1].



Slika 1. Treći internacionalni konsenzus za sepsu i septički šok (Izvor: Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016;315(8):801–810. doi:10.1001/jama.2016.0287)

Objašnjenje za ove promjene leži u rezultatima istraživanja kojima je pokazano da 4 od 5 pacijenata u jedinicama intenzivnog liječenja (JIL) bez infekcije imaju pozitivne SIRS kriterijume, dok 1 od 8 pacijenata sa infekcijom i organskom disfunkcijom nema 2 ili više SIRS kriterijuma. Dodatno, prethodno korišteni kriterijumi ne ukazuju na težinu bolesti niti na rizik od smrtnog ishoda [23]. Za postavljanje dijagnoze sepsa koriste se specifični klinički kriterijumi: promjena vrijednosti SOFA skora ≥ 2 iznad početnih, a za postavljanje dijagnoze septičkog šoka: potreba za vazopresorima radi održavanja srednjeg arterijskog pritiska MAP (*engl. Mean Arterial Pressure*) ≥ 65 mmHg i koncentracija laktata u serumu > 2 mmol/L u odsustvu hipovolemije [16,22]. Sa ciljem ranog prepoznavanja pacijenata sa sumnjom na infekciju, za koje postoji vjerovatnoća da će imati loš ishod u vidu produženog liječenja u JIL-u i smrti, razvijena je nova, pojednostavljena metoda, nazvana brza SOFA tj. qSOFA (*engl. quick SOFA*) koji se sastoji samo od tri parametra: tahipneja - brzina disanja ≥ 22 /min., hipotenzija – sistolni pritisak < 100 mmHg i promjena mentalnog stanja - Glazgov koma skor (GCS) < 15 (*engl. Glasgow Coma Scale*). Prisustvo dva ili više kriterijuma treba da podstaknu kliničara da dodatno evaluiira pacijentovo stanje u smislu prisustva infekcije i/ili disfunkcije organa, da započne ili promijeni terapiju i razmotri eventualni premeštaj u JIL. Navedeni prijedlozi su naišli na široku i veoma aktivnu diskusiju eminentnih stručnjaka iz oblasti intenzivne medicine, a mnoga udruženja je nisu prihvatila, te je i dalje tema izrazito aktivne svjetske debate. Najveći razlog za kritiku stoji u bojazni da se upotrebom novih kriterijuma ne propusti rano prepoznavanje i time odloži adekvatno liječenje sve dok se ne razvije organska disfunkcija [24]. Sam SOFA skor je razvijen kao procjena akutne disfunkcije organa i ne uzima u obzir promjene kod pacijenata sa hroničnom, od ranije prisutnom disfunkcijom, a pri tome je i teško primjenjiv u zemljama u razvoju [25]. Moguće je da će upravo rezultati aktuelnih istraživanja doprinijeti donošenju nove definicije sepse, sa željom i nastojanjem da ona bude i konačna. U Tabeli 1. prikazano je kako su se mijenjali kriterijumi za definiciju sepse i septičkog šoka kroz vrijeme.

Tabela 1. Promjene kriterija za definiciju sepsa i septičkog šoka

Sepsis-1 (1991) (19)	Sepsis-2 (2001) (2)	Sepsis-3 (2016) (22)
<u>SIRS kriteriji:</u> • Temperatura > 38°C ili < 36°C • Otkucaji srca > 90 otk./min. • Brzina disanja > 20 udaha/min. ili pCO₂ < 32 mmHg • Leukociti > 12×10⁹/L ili < 4×10⁹/L <u>Kriterijumi za dijagnozu sepsa:</u> • pozitivna dva ili više SIRS kriterija. <u>Kriterijumi za dijagnozu teške sepsa:</u> • sepsa kod koje se javlja poremećaj funkcije organa, hipoperfuzija ili hipotenzija. Hipoperfuzija može uključivati (iako nije obavezan kriterijum) laktacidozu, oliguriju ili akutnu promjenu mentalnog stanja. <u>Kriterijumi dijagnoze za septički šok:</u> • teška sepsa sa hipotenzijom koja ne reaguje na nadoknadu tečnosti i vazoaktivnu terapiju.	<u>Dijagnoza sepsa:</u> Dokazana infekcija ili sumnja na infekciju te je zadovoljen neki od sledećih proširenih SIRS kriterijuma: <u>Klinički znaci:</u> • Temperatura > 38°C ili < 36°C • 90 otkucaja u minuti • > 2SD iznad normalne vrijednosti za dob • Brzina disanja > 30 udaha/min. • Promijenjeno mentalno stanje • Edemi <u>Upalni znaci:</u> • Leukociti > 12×10⁹/L ili < 4×10⁹/L • normalan broj leukocita s > 10% nezrelih ćelija • CRP > 2SD iznad normalne vrijednosti • PCT > 2SD iznad normalne vrijednosti <u>Hemodinamski znaci:</u> • Hipotenzija (sistolni pritisak < 90 mmHg, MAP < 70 mmHg ili pad sistolnog pritiska za > 40 mmHg) • Srčani indeks > 3,5 min⁻¹m⁻² • Arterijska hipoksija PaO₂/FiO₂ < 300 mmHg • Akutna oligurija < 0,5 mL/kg/h • Kreatinin ≥ 44 µmol/L • Poremećaj zgrušavanja krvi: PV-INR > 1,5 ili aPTV > 60 sec. • Ileus • Trombocitopenija < 100×10⁹/L • Hiperbilirubinemija > 70 µmol/L <u>Znaci perfuzije tkiva:</u> • Laktat > 3mmol/L • Smanjeno kapilarno punjenje	<u>Rano prepoznavanje sepsa:</u> Pozitivan qSOFA - rizik da pacijent kod kojeg je postavljena sumnja na infekciju ima veći rizik za razvoja sepsa i smrtnog ishoda <u>Kriterijumi za qSOFA:</u> • promijenjen mentalni status (GCS < 15) • sistolni krvni pritisak < 100 mmHg • broj udaha > 22/min. <u>Klinički kriterijumi za sepsu:</u> • sumnja ili dokaz infekcije • akutni porast SOFA sistema bodovanja ≥ 2 boda <u>Klinički kriterijumi za septični šok</u> • Sepsa s tvrdokornom hipotenzijom koja zahtijeva terapiju vazopresorima da bi MAP ≥ 65mmHg i laktat > 2 mmol/L uz odgovarajuću nadoknadu tečnostima.

Skraćenice: SIRS - sindrom sistemskog upalnog odgovora; pCO₂ - parcijalni pritisak ugljen monoksida u arterijskoj krvi; CRP - C reaktivni protein; PCT - prokalcitonin; 2SD – (engl. two standard deviations) iznad normalne vrijednosti; MAP - (engl. Mean Arterial Pressure) srednji arterijski pritisak; PaO₂/FiO₂ - odnos parcijalnog pritiska kiseonika i udjela kiseonika u udahutoj smjesi gasova kod potpomognutog disanja; PV-INR - protrombinsko vrijeme izraženo kao međunarodni normalizirani odnos; aPTV - aktivno parcijalno tromboplastinsko vrijeme, qSOFA (engl. quick Sequential Organ Failure Assessment); SOFA (engl. Sequential Organ Failure Assessment).

1.1.3 Epidemiologija

S obzirom na to da sepsu ne predstavlja jedno jedinstveno oboljenje nego sindrom koji je posljedica postojeće infekcije, sama definicija je doživjela nekoliko promjena u posljednjih 30 godina, koje pri tome u cijelom svijetu nisu potpuno zaživjele u praksi. Većina država u razvoju nema mogućnost adekvatne procjene njene učestalosti, tako da ne iznenađuje podatak da ne postoje potpuni i precizni podaci o globalnoj incidenci i smrtnosti od sepsa. Takođe, sepsa može

biti krajnji događaj u nekoj drugoj, terminalnoj bolesti, što takođe utiče na analizu njene učestalosti, mortaliteta i prevencije [26]. Stopa smrtnosti, u dostupnim studijama, kreće se od 15 do 56% [5]. Studija o globalnom opterećenju bolestima GBD (*engl. The Global Burden of Diseases Study*), opservaciona epidemiološka studija, sprovedena na svjetskom nivou, koja je uključivala 195 država u periodu od 1990 - 2017. godine, jedna je od najobuhvatnijih epidemioloških studija do danas. Međutim, zbog poteškoća, bila je potrebna dodatna analiza podataka da bi se sagledale razmjere ovog problema. Analiza ove studije, objavljena u Lancetu 2020. godine, dajući najpribližniji uvid u aktuelnu epidemiologiju sepse u skladu sa Sepsa 3 definicijom [27]. Procijenjeno je da je u 2017. godini širom svijeta bilo oko 48,9 miliona slučajeva sepse i oko 11 miliona smrtnih slučajeva povezanih sa sepsom, što predstavlja 19,7% umrlih te godine. Ovako veliki broj oboljelih od sepse se razlikuje od prethodnih procjena objavljenih 2016. godine. Flajšman i saradnici su na osnovu podataka iz razvijenih zemalja procijenili da je učestalost sepse 19,4 miliona godišnje, a 5,3 miliona smrtnih slučajeva je povezanih sa sepsom. Prilikom ove analize pretpostavljeno je da je učestalost sepse ista u zemljama u razvoju kao i u razvijenim zemljama [28]. Analizom opservacionih studija iz Evrope, Australije i Sjeverne Amerike procijenjeno je da je u navedenim dijelovima svijeta mortalitet od septičkog šoka izuzetno visok, 34,7 - 37,3% sa velikim varijacijama među različitim studijama, koje se doduše značajno smanjuju kad se mortalitet koriguje prema težini bolesti [5,29,30]. Prema GBD, učestalost sepse standardizovane za dob smanjena je za 37%, a smrtnost je opala za 52,8% od 1990 do 2017. godine. Učestalost sepse i smrtnost varira u odnosu na region, a ona predstavlja najveći problem u subsaharskoj Africi, Okeaniji, te u južnoj, istočnoj i jugoistočnoj Aziji, gdje smrtnost u određenim regionima iznosi i do 80% od svih oboljelih, dok je u razvijenim zemljama 20 - 40% [27,31]. Učestalost sepse je veća u siromašnim državama. Takođe učestalost je veća među ljudima sa niskim prihodima i sa niskim socioekonomskim statusom, uprkos činjenici da žive u veoma razvijenim državama [32]. U JIL-u, oko 30% pacijenta ima infekciju sa organskom disfunkcijom uz takođe velike varijacije u odnosu na region (13,6 - 39,3%) [33]. Prosječna stopa hospitalizacije zbog sepse, na godišnjem nivou, u razvijenim zemljama se procijenjuje sa na 270 slučajeva na 100 000 ljudi, uz važnu napomenu da se incidencija prilično razlikuje u studijama (od 90 do više od 1000 slučajeva na 100 000 ljudi). Ovo praktično znači da je češća hospitalizacija zbog sepse nego zbog infarkta miokarda i moždanog udara zajedno, a sa stopa smrtnosti od 25 - 30% čini trećinu do polovinu smrtnih slučajeva u bolnici [27,34]. Ovo predstavlja ne samo medicinski, nego i ozbiljan ekonomski problem. U američkim bolnicama cijena liječenja septičnog pacijenta u prosjeku iznosi oko 25 000 dolara, a oko 39 000 dolara za liječenje septičkog šoka. Što se tiče

Srbije, prema podacima iz GBD, od sepse godišnje oboli oko 24 000 stanovnika, dok je oko 8 000 smrtnih slučajeva godišnje povezano sa sepsom [27]. Podataka nema kada je riječ o Bosni i Hercegovini (BiH). To ukazuje na potrebu za poboljšanjem evidencije i praćenja slučajeva sepse u BiH kako bi se omogućilo efikasnije planiranje i sprovođenje preventivnih i terapijskih mjera. Iako je preciznu učestalost sepse teško kvantifikovati, nesumnjivo je da je to vodeći uzrok smrti i onesposobljenosti u svijetu. U maju 2017. godine Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) je usvojila rezoluciju o poboljšanju prevencije, prepoznavanja i liječenja sepse. Rezolucija prepoznaje sepsu kao globalni zdravstveni prioritet i poziva države članice da razviju nacionalne protokole i postupke za suzbijanje sepse [35].

1.1.4 Faktori rizika za nastanak sepse

Rizik od nastanka sepse zavisi od više faktora, uključujući dob, zdravstveno stanje, genetsku predispoziciju i komorbiditete [36]. Uočene su različite incidencije zbog rasnih razlika, međutim, ostaje pitanje da li razlika postoji zbog bioloških ili drugih razloga. Rizik od septikemije kod ne bijele populacije gotovo je dvostruko veći od bijele populacije, pri čemu se najveći rizik pojavljuje kod crnaca. Postoje studije sa različitim rezultatima, koje su podložne dodatnim analizama [32,37]. Takođe, od sepse češće oboljevaju muškarci, kao i hronični alkoholičari [38]. Genetska predispozicija igra važnu ulogu u razvoju zaraznih bolesti [39]. Sorensen i njegove kolege analizirajući 960 porodica, pokazali su da je rizik od umiranja odraslog pojedinca od infekcije 5,81 puta veći ako je jedan od bioloških roditelja umro od infekcije prije 50. godine života. Ovaj rizik je premašio relativni rizik umiranja od karcinoma ili kardiovaskularnih bolesti [40]. Kompromitovani imunitet važan je faktor rizika, bilo zbog imunosupresivnih lijekova, maligniteta, neuhranjenosti ili stresa kao što su operacija, trauma ili opekotine [36]. Osjetljiva grupa su i mladi i stariji ljudi jer njihov imunološki sistem djeluje slabije [41]. Mnogi komorbiditeti povećavaju rizik za razvoj sepse, mada ne povećavaju i rizik od smrtnog ishoda [42]. Zanimljiva su otkrića određenih studija da umjerena gojaznost može biti faktor protekcije od kritičnih bolesti usljed povećane rezerve energije i/ili endokrinih i parakrinih osobina masnog tkiva. Ovo je nazvano „paradoks gojaznosti”, međutim to i dalje spada u oblast aktivnih istraživanja [43,44].

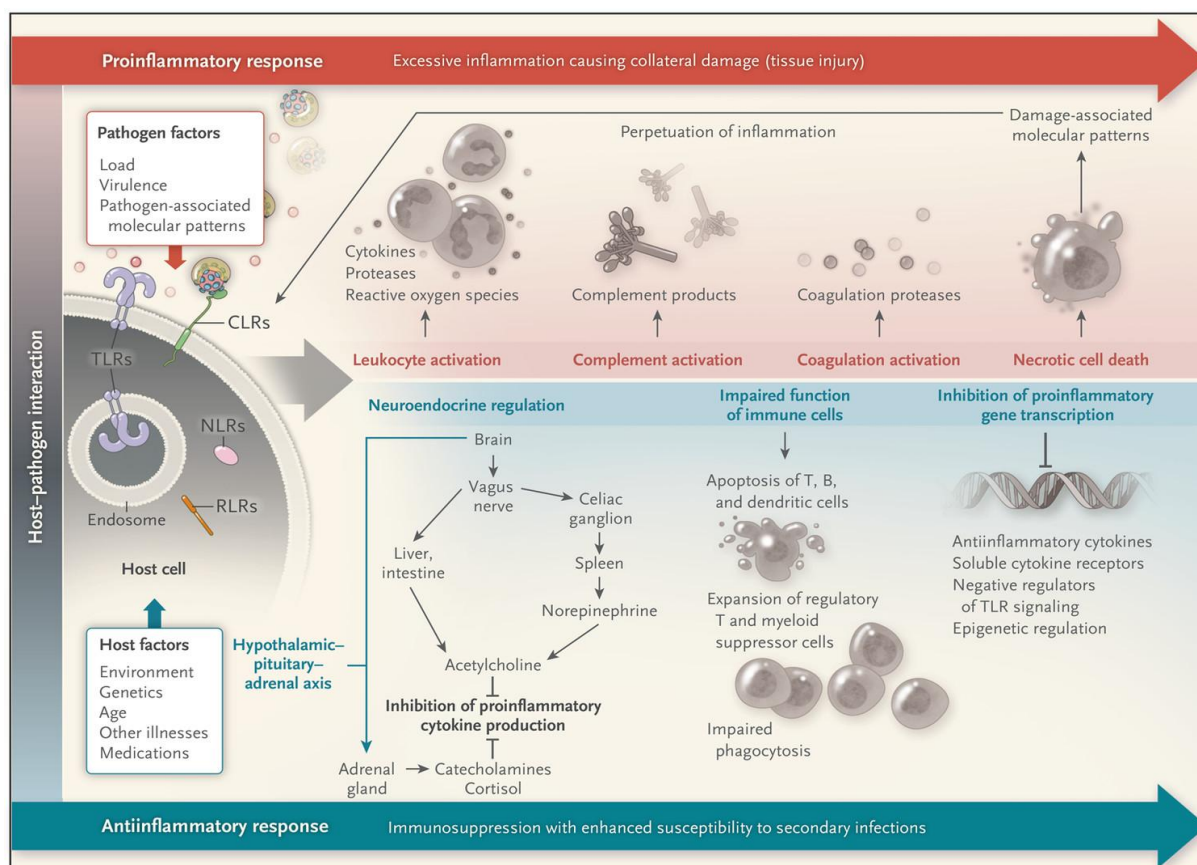
1.1.5 Etiologija sepse

Sepsa može nastati u bolnici, domovima za bolesne ili starije osobe i van bolnice, gdje se oko 70 - 80% slučajeva javlja van bolnice [26]. U izveštaju SOAP studije (*engl. Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients*), objavljenom 2006. godine, koja je sprovedena u JIL-u u 24

evropske države, odnos Gram-pozitivnih (GP) i Gram-negativnih (GN) bakterija kod septičnih pacijenata bio je praktično izjednačen [45]. Martin i saradnici objavili su analizu najčešćih izolata u bolnicama u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) od 1979-2000. godine gdje su do 1987. godine dominirale GN bakterije, dok se učestalost GP bakterijskih izolata povećavala iz godine u godinu, da bi 2000. godine GP bakterije dominirale izolatima [37]. Dinamika promjene najčešćih uzročnika sepse najbolje se uočava kada se rezultati navedenih studija uporede s podacima prikupljenim iz 84 države širom svijeta u okviru ICON studije iz 2012. godine [33]. U ICON studiji kod pacijenata sa sepsom njih 70% je imalo pozitivne kulture, gdje GN bakterije preovlađuju u odnosu na GP bakterije i to na svakom kontinentu. Polovina pacijenata (51,6%) sa pozitivnim kulturama su imali više izolovanih mikroorganizama [46]. Geografska razlika je primjetna i kad su gljivice u pitanju koje su bile izolovane u oko 15% pozitivnih kultura i to u evropskim centrima, dok je ovaj procenat samo 5% u sjeverno-američkim centrima [32]. Kao što se vidi, najčešći uzročnici sepse razlikuju se među različitim lokalitetima i mijenjaju se tokom vremena. Poznavanje ovih karakteristika je od izuzetnog značaja, jer direktno utiče na izbor inicijalne empirijske antimikrobne terapije.

1.1.6 Patofiziologija sepse i septičkog šoka

Sepsa je složen klinički sindrom u kome je poremećen odgovor domaćina na infekciju, sa pojavom dvije suprotne reakcije - proinflamatorne i antiinflamatorne. Poremećaj ravnoteže ove dvije ključne ali opozitne reakcije dovodi do disregulacije imunog odgovora na infekciju koji rezultuje sa neuspjehom u obnavljanju homeostaze, dovodeći do oštećenja samog domaćina. Svi navedeni procesi na kraju dovode do oštećenja ćelija i tkiva sa razvojem stanja opasnog po život bolesnika (Slika 2). Iako znanje o patogenezi sepse brzo raste, ovaj složeni sindrom još uvijek nije u potpunosti razjašnjen i shvaćen [47].



Slika 2. Odgovor imunog sistema u sepsi (Izvor: "Severe sepsis and septic shock. N Engl J Med. 2013 Aug 29;369(9):840–51.")

Urođeni imuni sistem je prva linija odbrane od mikroorganizama, koji započinje aktivacijom ćelija urođenog imununiteta (monociti/makrofagi, dendritske ćelije, neutrofili, ćelije prirodne ubice – NK (*engl. natural killer*) i endotelnih ćelija. Na površini ovih ćelija, ali i na ćelijama stečenog imuniteta, nalaze se receptori za prepoznavanje obrazaca - PRR (*engl. pattern – recognition receptors*). Receptori za prepoznavanje obrazaca detektuju komponente mikroorganizama (prije svega bakterijskih endotoksina, lipopolisaharida koji čine dio zida GN bakterija, peptidoglikane, ribonukleinske kiseline (RNK) virusa, flageline, kao i druge komponente) koje se nazivaju molekularni obrasci povezani sa patogenom - PAMPs (*engl. pathogen - associated molecular patterns*) [48]. Urođeni imuni sistem, takođe prepoznaje i unutrašnje signale opasnosti, tj. molekule koje se oslobađaju iz oštećenog ili nekrotičnog tkiva, takozvane alarminе - DAMPs (*engl. Danger - associated molecular patterns*). Alarmini mogu izazvati lokalnu proinflatornu reakciju privlačenjem efektorskih ćelija, ali i pojačavanjem proinflatornog odgovora. Primjeri alarmina su: protein toplotnog šoka - HSP (*engl. heat shock protein*), fibrinogen, S100 protein, hijaluronska kiselina i protein visoke pokretljivosti iz

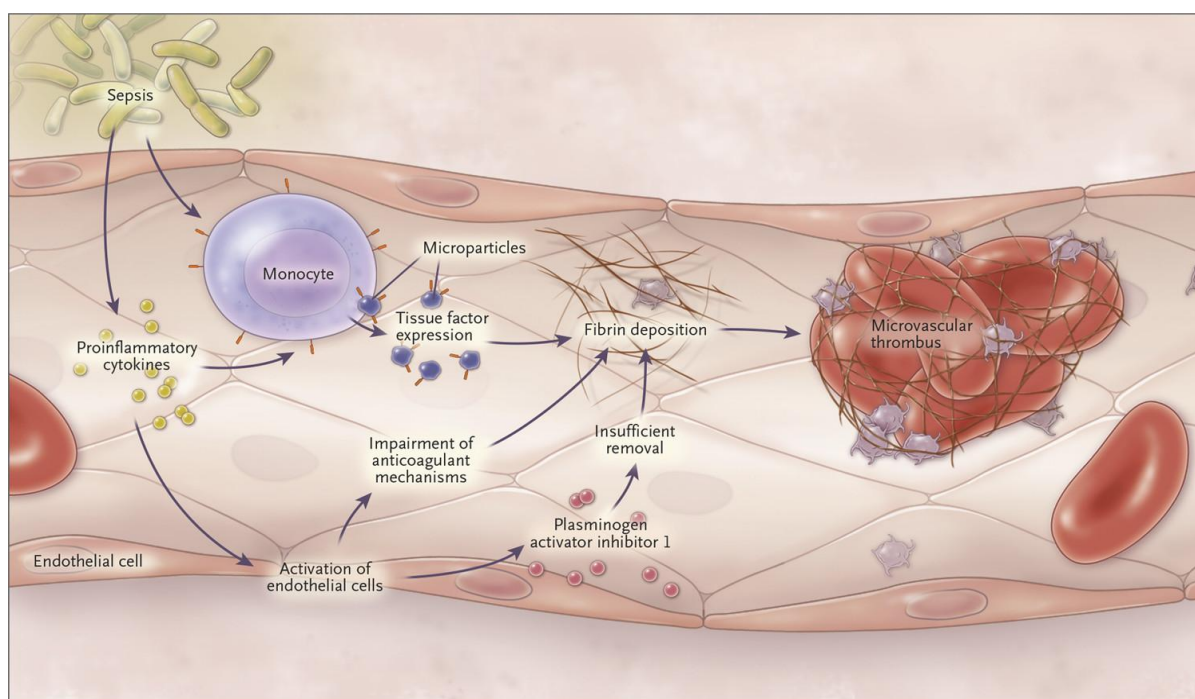
grupe 1 - HMGB1 (*engl. high mobility group box 1 protein*). U kliničkim istraživanjima pokazano je da težina sepse korelira sa povišenim vrijednostima DAMPs-a u serumu [49,50]. Do sada su opisana 4 tipa PRR-a. Prema lokalizaciji mogu se klasifikovati na membranske i citoplazmatske. Membranski receptori su receptori slični *Toll receptorima* - TLR (*engl. Toll like receptors*) i lektinski receptori (*engl. C - type lectin*), a citoplazmatski receptori su receptori slični NOD-u (*engl. NOD like receptors* - NLR) i receptori slični RIG-u - RLR (*engl. RIG – like receptors*) [48,51]. TLR su najvažnija grupa PRR receptora, a u patofiziologiji sepse najznačajniju ulogu ima TLR4. Vezivanje PAMPs i DAMPs za TLR4 dovodi do aktivacije ćelija urođenog imuniteta (monocita/makrofaga, dendritskih ćelija) i pokretanja signalne kaskade koja aktivira transkripcione faktore, prije svega nuklearni factor kappa-B (NF-κB) i interferon regulatorni faktor (IRF). Aktiviranje ove kaskade dovodi do oslobađanja proinflamatornih citokina. Aktivacija NOD receptora na primjer može dovesti do formiranja velikih proteinskih kompleksa koji se nazivaju inflamazomi i koji učestvuju u produkciji ključnih citokina kao što su interleukini (IL) IL-1β i IL-18 kao i kaspaza koje imaju veliku ulogu u programiranoj ćelijskoj smrti. Aktivirane ćelije urođenog imuniteta luče proinflamatorne medijatore: faktor tumorske nekroze - TNF (*engl. tumor necrosis factor*), interleukine, prije svega IL-1 i IL-6, interferon tip 1 (IFN 1), hemokine i prostaglandine. Ostali citokini koji su značajni za razvoj sepse su: IL-8, IL-12, interferon γ (IFN-γ), faktor stimulacije granulocitnih kolonija - G-CSF (*engl. granulocyte colony stimulating factor*) i antiinflamatorni IL-10. Interleukin 17 i interleukin 22 (IL-17, IL-22) oslobađaju T limfociti (Th 17). Ova grupa limfocita nazivaju se pomagački limfociti - Th (*engl. T helper cells*) i oslobađaju se kao odgovor na ekstracelularne bakterije i gljivice [52]. Kao što se može vidjeti, citokini igraju značajnu ulogu u patofiziologiji sepse. To su proteini koje luče ćelije urođenog i stečenog imunološkog odgovora, koji funkcionišu kao glasnici između ćelija. Oni stimulišu rast ćelije, diferencijaciju ćelija, popravku i remodeliranje tkiva kao i regulaciju imunog odgovora. Ćelije urođenog imunog odgovora koje proizvode efektorne citokine su monociti, dendritske ćelije i NK ćelije, dok citokine u stečenom imunom odgovoru proizvode aktivirani T limfociti [53]. Ranije se smatralo da pojedini proinflamatorni citokini i njihovi receptori (IL-1, TNF, IL6 i drugi), izazivaju rani, nekontrolisani hiperinflamatorni odgovor u sepsi. Ovo neregulisano oslobađanje proinflamatornih citokina Aikava je nazvao „citokinskom olujom” [54]. Istovremeno je otkriveno da se nakon kontakta sa mikroorganizmima osim proinflamatornih oslobađaju i antiinflamatorni citokini [55,56]. Kod pacijenata sa sepsom utvrđeno je postojanje različitih citokinskih profila koji su imali različit uticaj na ishod sepse [57]. Proinflamatorni i antiinflamatorni citokini i njihova uloga u infekciji i sepsi prikazani su u Tabeli 2.

Tabela 2. Proinflamatorni i antiinflamatorni citokini i njihova uloga u infekciji i sepsi

TNF α	Pokreće inflamaciju, aktivira adhezivne molekule na endotelu, sinergistički deluje sa IL-1
IL-1 β	Aktivira adhezivne molekule na endotelu, privlači neutrofile, oslobađa azot monoksid (NO) iz endotelnih ćelija i ćelija glatkih mišića
IL-1 β	Aktivira adhezivne molekule na endotelu, privlači neutrofile, oslobađa azot monoksid (NO) iz endotelnih ćelija i ćelija glatkih mišića
IL-17/IL-17A	Privlači ćelije urođenog imuniteta na mjestu inflamacije, aktivira ekspresiju na NK ćelijama
TGF- β	Utiče na proizvodnju i aktivnost drugih proinflamatornih citokina, inhibira proliferaciju i diferencijaciju T i B limfocita. Utiče na oporavak tkiva
IL-4	Ne oslobađa se u sepsi, suprimira makrofage, ima opšti immunosupresivni efekat
IL-10	Utiče na produkciju i aktivnost proinflamatornih citokina, blokira urođeni imuni odgovor
IL-13	Inhibira ekspresiju receptora na monocitima i makrofagima, smanjuje produkciju proinflamatornih citokina
IL-22	Član IL-10 familije, inhibira epidermalnu diferencijaciju, mijenja ravnotežu Th1/Th2 imunog odgovora

Proinflamatorni medijatori djeluju na endotelne ćelije krvnih sudova dovodeći do vazodilatacije, povećane propustljivosti i nakupljanje neutrofila u tkivima. Važan dio inflamatorne reakcije je i aktivacija komponenti komplementa. Povećan je nivo komponenti komplementa, prije svega C3a i C5a, gdje se C5a vezuje na receptore koji se nalaze na površini neutrofila i endotelnih ćelija, dovodeći do oslobađanja kiseoničnih radikala (*engl. reactive oxygen species* - ROS) i hemotaksičnog odgovora koji se ogleda u privlačenju neutrofila [58]. U sepsi proinflamatorni citokini, pored svega navedenog aktiviraju i kaskadu koagulacije dovodeći do različitih manifestacija koje mogu varirati od blagog prokoagulantnog stanja do diseminovane intravaskularne koagulacije (DIK) koja se karakteriše mikrotrombozama i krvarenjem. Taloženje fibrina se odvija kroz tri osnovna puta: konverzijom antitrombina u trombin aktivacijom tkivnog faktora (TF), disfunkcijom antikoagulantnih mehanizama i smanjenjem razgradnje fibrina zbog inhibicije fibrinolitičkog sistema [59]. Smatra se da je hiperkoaguabilno stanje kod sepse uzrokovno oslobađanjem TF na površini monocita, polimorfonuklearnih i endotelnih ćelija. TF dovodi do systemske aktivacije koagulative kaskade. On je ključni faktor u konverziji protrombina u trombin što dovodi do aktivacije

trombocita i formiranja trombocitnih trombova. Protein C i antitrombin kao glavni antikoagulantni mehanizam ne mogu regulisati ovaj poremećaj koagulacije u sepsi što se inače dešava u normalnim, fiziološkim, uslovima. Aktivirani protein C u kombinaciji sa aktiviranim proteinom S ima antikoagulantne efekte time što dovodi do degradacije faktora Va i VIIIa. Takođe ima i jak antiinflamatorni efekat jer inhibiše TNF- α , IL-1 β i IL-6. On suprimira i vezivanje limfocita i neutrofila za endotel. Kod pacijenata sa sepsom smanjena je koncentracija proteina C, proteina S i trombomodulina što omogućava da kaskada koagulacije bude neregulisana. Osim prokoagulantnog stanja u sepsi vidamo i inhibiciju fibrinolize što nas sve dovodi do začaranog kruga i nastanka mikrovaskularnih tromboza [60,61,62] (Slika 3.)



Slika 3. Prokoagulantni mehanizmi u sepsi (Izvor: "Bleeding and coagulopathies in critical care. N Engl J Med. 2014 Feb 27;370(9):847–59")

Kao što je diskutovano, tradicionalno se smatralo da je sepsa pretjerani, sistemski, proinflammatory odgovor na infekciju, nakon čega slijedi faza imunosupresije, koju karakterišu anergija, limfopenija i sekundarne infekcije. Pacijenti koji prežive ranu sepsu često razvijaju nozokomijalne infekcije mikroorganizmima koji nisu tipično patogeni kod imunokompetentnih domaćina, a osim toga često se primjećuje i reaktivacija latentnih virusa. Programirani protein ćelijske smrti 1 - PD-1 (*engl. programmed cell death protein 1*) i IL-7 se smatraju važnim u osnovi inhibicije funkcije T-limfocita, stoga su povezani sa kasnom sepsom i imunosupresijom

kod pacijenata koji prežive ranu fazu sepse [63]. Ova zapažanja dovela su do hipoteze da rano hiperinflamatorno stanje evoluiru u hipoinflamatorno stanje sa značajnom imunosupresijom. Novija saznanja sugeriraju da se proinflamatorna i faza imunosupresije mogu odvijati istovremeno, pri čemu intenzitet oba odgovora zavisi od više faktora koji su određeni kako karakteristikama domaćina (poput genetike i komorbiditeta) tako i karakteristikama patogena (kao što su vrsta, virulencija i koncentracija) [64]. Precizni mehanizmi oštećenja ćelija i sepsom indukovane disfunkcije organa nisu u potpunosti razjašnjeni tako da je ovo i dalje područje naučnog istraživanja. Sepsa obično ometa distribuciju protoka krvi u organskim sistemima putem vazodilatacije i poremećaja mikrocirkulacije. Dolazi do redukcije gustine kapilara i povećanja perfuzije što rezultira prisutvom kapilara bez protoka ili sa povremenim protokom. Sve ovo dovodi do povećanja difuzione distance za kiseonik i smanjene oksigenacije ćelija. Disfunkcija mikrocirkulacije povezana je sa lošijim ishodima [65]. Ishemija tkiva može nastati zbog neusklađenosti između dostave kiseonika i njegove isporuke tkivima na sistemskom i lokalnom nivou. Pored toga, mitohondrijalna disfunkcija može biti uzrok neadekvatne ekstrakcije kiseonika iz tkiva, uprkos adekvatnoj isporuci, to se naziva citopatska hipoksija. Smatra se da su tkivna hipoksija, mitohondrijalna disfunkcija i apoptoza ključni faktori u disfunkciji organa izazvanoj sepsom [66].

1.1.6.1 Septički šok

Šok je stanje izazvano poremećenom (smanjenom) perfuzijom tkiva i organa, što za posledicu ima smanjenu dostavu i iskorištavanje kiseonika u ćelijama, kao i smanjeno uklanjanje metaboličkih otpadnih produkata. Šok je fatalni ishod u mnogim bolestima [67]. U slučajevima kada sepsa postane nekontrolisana, može doći do niza promjena, koje na kraju dovode do razvoja septičkog šoka i multiorganske disfunkcije [68]. Prema definiciji Sepsis 3, septički šok se definiše kao podtip sepse sa izraženim poremećajem ćelijskog metabolizma i cirkulacije koji značajno povećavaju rizik od smrti. Smrtnost od septičkog šoka se kreće i do 40% [22]. Uprkos napretku znanja o sepsi i poboljšanim terapijskim modalitetima, septički šok i dalje značajno doprinosi mortalitetu u JIL-u [68]. Prepoznaje se po upornoj hipotenziji koja zahtijeva upotrebu vazopresora kako bi se MAP održao iznad 65 mmHg. Funkcija vaskularnog sistema narušava se razvojem vazodilatacije, koja je posljedica oštećenja endotela i pojačanog oslobađanja azot-monoksida (NO). Smanjeno snabdijevanje tkiva krvlju (loša perfuzija) i produbljivanje stanja vazodilatacije dovode do smanjenog isporučivanja kiseonika i hranjivih materija u tkivo. Kao rezultat ovih promjena, ćelijski metabolizam prelazi iz aerobnog u anaerobni, što dovodi do povećanja koncentracije laktata [69].

1.1.6.2 Razvoj diseminovane intravaskularne koagulacije

Na oštećenom endotelu se aktivira koagulaciona kaskada i formiraju se mikrotrombi. Prva faza DIK-a je prokoagulantna faza u kojoj nastali ugrušci izazivaju ishemiju. Poremećeno je snabdijevanje krvlju tkiva i ćelija i kao rezultat dolazi do oštećenje organa (rezultati tkivne hipoperfuzije). Ekstenzivna aktivacija procesa zgrušavanja krvi izaziva potrošnju trombocita i faktora koagulacije, što pokreće drugu fazu DIK-a - fazu fibrinolize. Faza fibrinolize se manifestuje trombocitopenijom, znacima potrošnje faktora koagulacije i povećanom koncentracijom proizvoda razgradnje fibrina, D-dimera. Fibrinolitička faza DIK-a ima visok mortalitet zbog obimnog krvarenja [69].

1.1.6.3 Multiorganska disfunkcija

U septičkom šoku štetni efekti nekontrolisanih inflamatornih reakcija, hipotenzije i smanjenog snabdijevanja krvlju ćelija i tkiva izazivaju multiorgansku disfunkciju - MODS (*engl. Multiple Organ Dysfunction Syndrom*). Na tkivnu hipoperfuziju i hipotenziju tkiva posebno su osjetljivi kapilarni endotel glomerula u bubregu, endotel plućnih alveola i sinusoidi jetre. Formiranje mikrotromba i smanjeno snabdijevanje krvlju bubrežnih krvnih sudova izaziva nekrozu tubula i akutnu bubrežnu insuficijenciju. Oštećeni glomeruli gube funkciju filtracije krvi, što se manifestuje oligurijom, porastom koncentracije uree i kreatinina u serumu, ali i zadržavanjem otpadnih metabolita i toksina u organizmu [69]. Povećana permeabilnost endotela plućnih kapilara dovodi do pomjeranja plazme u intraalveolarni prostor. Nastali plućni edem sprečava normalnu funkciju alveola i razmjenu gasova što dovodi akutnog respiratornog distres sindroma (ARDS). Nastala hipoksija i hiperkapnija dodatno pogoršavaju kliničko stanje pacijenta i zahtijevaju upotrebu mehaničke ventilacije (MV). Kod septičkog šoka, hipotenzija, poremećena cirkulacija i stvaranje mikrotromba, kao i krvarenje u kasnoj fazi sepse, utiču na funkciju gastrointestinalnog sistema. U tankom crijevu moguć je razvoj ileusa i submukoznog krvarenja. Poremećaj protoka krvi u jetri izaziva hepatocelularnu nekrozu, što se manifestuje povećanjem aminotransferaza u serumu, ali i gubitkom metaboličke (povećana koncentracija bilirubina) i sintetičke funkcije jetre (smanjena sinteza proteina i faktora zgrušavanja). Hipotenzija i septički šok su dodatno produbljeni depresijom srčane funkcije. Smanjen protok u koronarnim arterijama, zajedno sa direktnim kardiotsičnim dejstvom citokina TNF- α i IL-1, smanjuju ejekcionu frakciju (EF) i kontraktilnost srčanog mišića što sve predstavlja klinički entitet pod nazivom septička kardiomiopatija [70]. Sepsu karakterišu i promjene u neurološkom

statusu pacijenta koje su sve izraženije kako se klinička slika bolesti pogoršava. Razvojem bolesti javlja se letargija, komfuznost i delirijum oboljelih pacijenata [71].

1.1.6.4 Laktat u sepsi

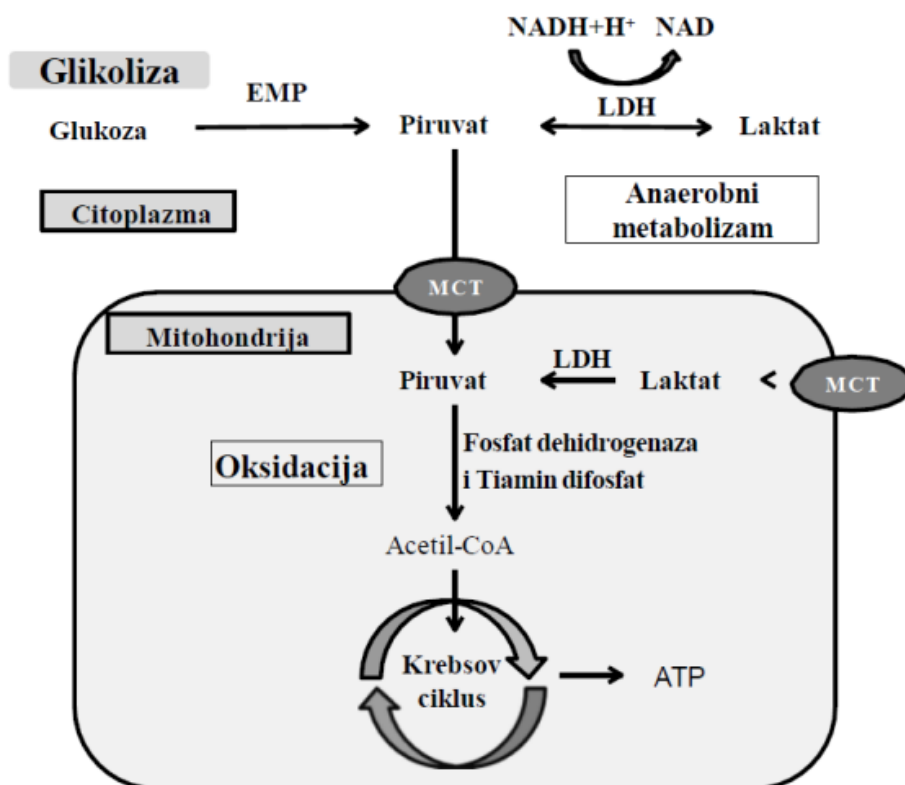
Dugo se smatralo da je povišen nivo laktata u krvi kod pacijenata u sepsi, a posebno kod septičkog šoka, marker anaerobnog metabolizma i posljedica nedovoljnog snabdijevanja tkiva kiseonikom [72,73]. Međutim, povećane vrijednosti laktata javljaju se i u uslovima adekvatne tkivne perfuzije. Aerobna glikoliza može biti ubrzana usljed stimulacije β 2-adrenergičkih receptora, što je još prije više od 20 godina pokazao Džejms sa saradnicima. Objašnjenje za oba stava stoji u fiziologiji, tj. patofiziologiji laktata i njegovog metabolizma [74]. Koncentracija laktata u krvi zavisi od ravnoteže između njegove proizvodnje i potrošnje. Kod sepse, visok nivo laktata u krvi pri prezentaciji bi trebao podstaći pažljivo praćenje, jer je uporna hiperlaktatemija povezana s disfunkcijom organa i smrtnošću [75]. Dnevna proizvodnja je oko 1500 mmol/L (oko 20 mmol/kg dnevno), a uglavnom koncentracija u krvi je manja od 2 mmol/L [76]. Može se proizvesti u svim tkivima u anaerobnim uslovima, a u fiziološkim uslovima proizvodi se u mišićima (25%), koži (25%), mozgu (20%), eritrocitima (20%) i crijevima (10%). Metaboliše se u jetri, a u manjoj meri u bubrezima. Glukoza-6-fosfat se anaerobno pretvara u piruvat preko Embden-Majerhofovog (*engl. Embden-Meyerhof*) puta. Piruvat se, u aerobnim uslovima, u mitohondrijama, oksidativnom dekarboksilacijom prevodi u acetil koenzim A (*acetyl-CoA*), koji ulazi u ciklus limunske kiseline (Krebsov ciklus). Ove reakcije dovode do proizvodnje velike količine energije, 36 molekula ATP-a za jedan molekul piruvata. U anaerobnom uslovima, piruvat se redukuje u laktat, dajući samo 2 molekula ATP-a po molu. Piruvat je u ravnoteži sa laktatom, favorizujući proizvodnju laktata desetostruko u odnosu na piruvat [75].

Reakcija se odvija u citoplazmi, prema slijedećoj formuli:



Laktat je, dakle, normalan krajnji produkt anaerobne glikolize u tkivima. Izlazi iz ćelija i transportuje se u jetru, gdje se oksiduje nazad u piruvat i na kraju se putem Korijevog ciklusa

pretvara u glukozu. Sva tkiva mogu koristiti laktat kao izvor energije, jer se on može brzo pretvoriti u piruvat i ući u Krebsov ciklus (Slika 4).



EMP - Embden-Majjerhofov put; MCT – monokarboksilatni transporter; LDH – laktat dehidrogenaza; ATP – adenozin tri fosfat; Acetil-CoA – acetil koenzim A

Slika 4. Metabolizam glukoze (Izvor: Ryoo, Seung Mok & Kim, Won Young. (2018). Clinical applications of lactate testing in patients with sepsis and septic shock. Journal of Emergency and Critical Care Medicine. 2. 14-14. 10.21037/jeccm.2018.01.13.)

Koji su razlozi povišene koncentracije laktata kod kritično bolesnih pacijenata jedno je od važnijih pitanja u intenzivnoj medicini. Jedan od uzroka je povećan anaerobni metabolizam piruvata uslijed tkivne ili ćelijske hipoksije. Transport kiseonika u organizmu ima dvije komponente: isporuku (dostavu), kiseonika tkivima tj. mikrocirkulaciji (DO_2) i potrošnju (utilizaciju) kiseonika u tkivima (VO_2) [77]. Kada VO_2 odgovara brzini metabolizma, glukoza je potpuno oksidovana, a kada je VO_2 niži od brzine metabolizma dio glukoze se preusmjerava za formiranje laktata, s obzirom da je aerobni put piruvata blokiran u mitohondrijama. Formula za DO_2 jasno pokazuje da pad DO_2 može biti posljedica smanjenog minutnog volumena - CO (engl. *Cardiac output*), anemije (smanjena koncentracija hemoglobina u krvi - Hgb) ili niske oksigenacije krvi (saturacija kiseonikom arterijske krvi - SaO_2) [78].

$$DO_2 = CO \times (1,34 \times Hgb \times SaO_2) \times 10$$

Dok je u stanjima poput kardiogenog šoka pad DO_2 i posljedična tkivna hipoksija vjerovatno dominantan uzrok hiperlaktatemije, u sepsi i septičkom šoku ćelijska hipoksija može igrati važniju ulogu. Ćelijska hipoksija je posljedica mitohondrijalne disfunkcije, što je ipak jedan od mogućih mehanizama nastajanja multiorganske disfunkcije [66,79]. Osnova za drugi pristup hiperlaktatemiji, da je ona posljedica povećane aerobne glikolize, leži u činjenici da je piruvat u osnovi produkt razgradnje glukoze, tako da svako povećanje glikolize, bez obzira na njeno porijeklo, može povećati laktate u krvi [80]. Inflamatorno stanje povezano sa sepsom izaziva povećanje proizvodnje piruvata, povećanim prlivom glukoze, ali i katabolizmom proteina u mišićima, oslobađajući aminokiseline koje se potom transformišu u piruvat [76]. Ovo stanje, koje se naziva ubrzana aerobna glikoliza, nastaje kada brzina metabolizma ugljenih hidrata prevazilazi oksidativni kapacitet mitohondrija. Hormonska aktivacija je komponenta ranog inflamatornog odgovora u sepsi [81]. Hormoni akutne faze pripremaju organizam za stres, pa kateholamini povećavaju izlučivanje laktata iz skeletnih mišića kako bi obezbijedili energiju drugim organima, prvenstveno mozgu, jetri i srcu [82]. Ubrzanu aerobnu glikolizu stimulišu endogeni i/ili egzogeni kateholamini preko β_2 - adrenergičkih receptora [83]. Ovu hipotezu su potvrdili Gor i saradnici i pokazali su da je kod septičnih bolesnika povećana proizvodnja i oksidacija piruvata [84]. Kao dalja potvrda ove hipoteze dokazano je povećanje koncentracije laktata nakon primjene adrenalina u kontekstu reanimacije u šoku. Slične pojave su opisane i kod pacijenata kojima se u okviru terapije astme ordinira albuterol, agonista β_2 receptora, dok liječenje β blokatorima može smanjiti serumski laktat kod pacijenata sa sepsom [85,86,87]. Povećana koncentracija laktata u krvi, takođe, može biti posljedica smanjenog metabolizma u jetri, da li zbog primarne bolesti jetre kao što je ciroza ili zbog jetrene insuficijencije u okviru multiorganske disfunkcije [88]. Takođe, hiperlaktatemiju mogu uzrokovati i razni lijekovi. Potencijalni uzroci povišene koncentracije laktata sumirani su u revijalnom članku Andersena i saradnika (Tabela 3.) [89]. Da li je povećana koncentracija laktata dominantno posljedica anaerobnog metabolizma, odnosno smanjenog snabdijevanja tkiva kiseonikom, ili β adrenergične stimulacije usljed stresa, i dalje je otvoreno pitanje čiji se odgovor traži, a utiče na razvoj diskusija o postavljanju klirensa laktata kao terapijskog cilja u početnim fazama liječenja septičkog šoka [90]. Svakako da je povišena koncentracije laktata u krvi nesumnjivo

u korelaciji sa težinom kliničke slike septičnog bolesnika i predstavlja izuzetno važan biomarker težine bolesti i prediktor mortaliteta.

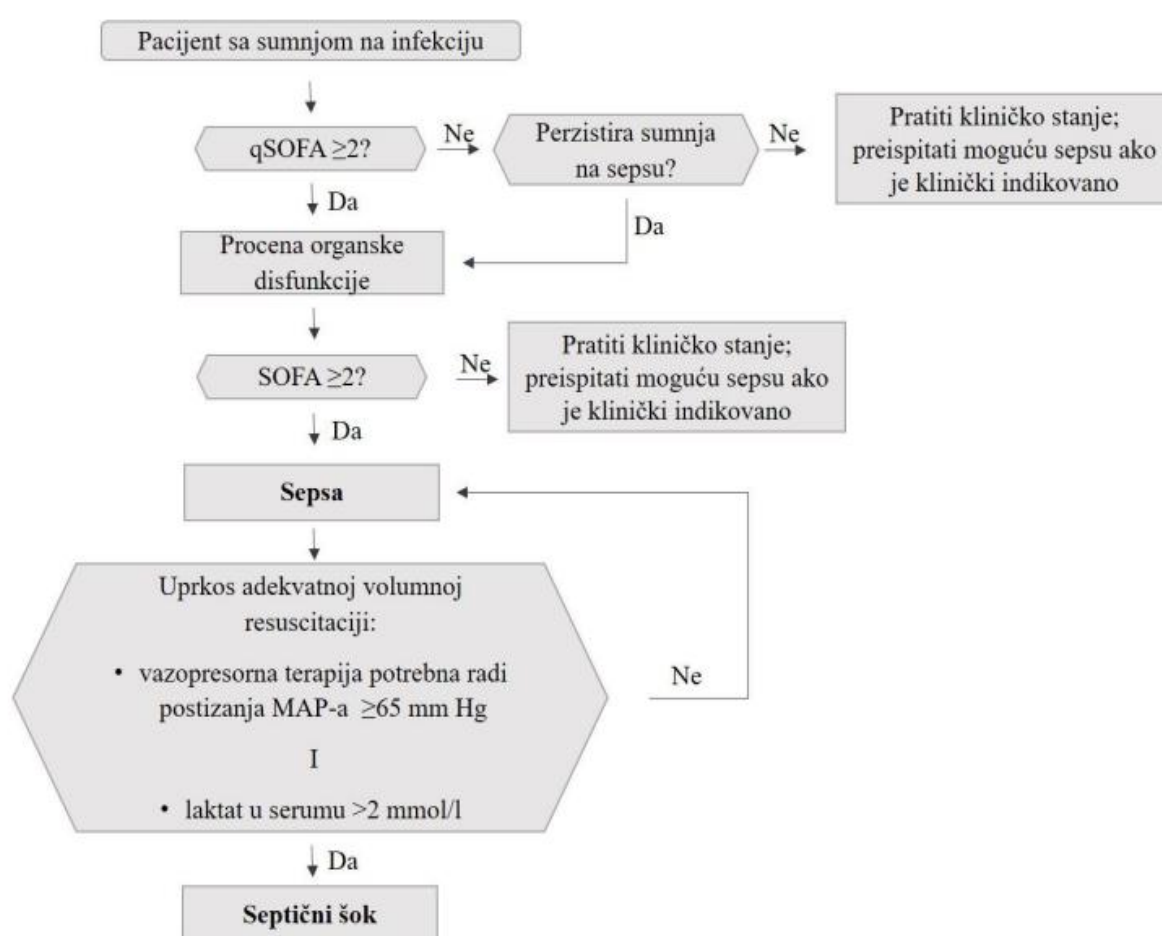
U Tabeli 3. prikazani su uzroci povišene koncentracije laktata u serumu.

Tabela 3. Uzroci povišene koncentracije laktata u serumu (izvor: Andersen LW, Mackenhauer J, Roberts JC, Berg KM, Cocchi MN, Donnino MW. Etiology and therapeutic approach to elevated lactate levels. Mayo Clin Proc. 2013 Oct;88(10):1127-40.)

Šok
Distributivni Kardiogeni Hipovolemijski Opstruktivni
Stanje poslije srčanog zastoja
Mezenterijalna ishemija Ishemija ekstremiteta Opekotine Trauma Kompartment sindrom Nekrotizirajuća infekcija mekog tkiva
Dijabetična ketoacidoza
Alkoholi Kokain Ugljen monoksid Cijanid
Farmakološka sredstva
Linezolid Inhibitori nukleozidne reverzne transkriptaze Metformin Adrenalin Propofol Acetaminofen β2-agonisti Teofilin
Anaerobna mišićna aktivnost
Grčevi Teška vežba Prekomerni disajni rad
Nedostatak tiamina
Malignitet
Insuficijencija jetre
Mitohondrijska bolest

1.1.7 Dijagnoza sepsa

Iako postoje razlike u tri opisane definicije sepsa, nepromjenjivo je to da je za postavljanje dijagnoze sepsa potrebno postojanje infekcije i postojanje neadekvatnog odgovora organizma na nju. Prema sadašnjoj definiciji, da bi se postavila dijagnoza sepsa neophodno je da ovaj neadekvatan odgovor dovede do disfunkcije nekog organa prema kriterijumima SOFA skora. Da bi se identifikovao pacijent koji može imati sepsu, što je moguće ranije preporučuje se upotreba qSOFA sistema bodovanja (Slika 5.) [16,22].



Slika 5. Algoritam upotrebe kliničkih kriterijuma za identifikaciju pacijenata sa sepsom i septičkim šokom prema Sepsis 3 definiciji (Izvor: Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):801–810. doi:10.1001/jama.2016.0287)

Sepsa može napredovati do stanja šoka kad pacijent postane hipotenzivan uprkos adekvatnoj nadoknadi tečnosti [91]. Ovo je bio dovoljan kriterijum za postavljanje dijagnoze septičkog

šoka sve do pojave nove Sepsa 3 definicije, koja septički šok definiše kao perzistentnu hipotenziju koja zahtijeva upotrebu vazopresorne terapije za postizanje MAP-a ≥ 65 mmHg, uz koncentraciju laktata u serumu > 2 mmol/L, uprkos adekvatnoj volumnoj nadoknadi [22]. Na ovaj način se identifikuje podgrupa pacijenata sa sepsom koji imaju najtežu kliničku sliku i najveći mortalitet [16].

1.1.7.1 Kontrola infekcije

Rano prepoznavanje sepse i septičkog šoka, kao i pravovremeno započinjanje adekvatne terapije ključ su za uspješno liječenje. Prioriteti u liječenju sepse su iskorjenjavanje izvora infekcije i antimikrobna terapija. Brojne opservacione studije nedvosmisleno su potvrdile da je neadekvatna kontrola izvora infekcije povezana sa značajno povećanim mortalitetom [29]. Ovo se ne odnosi samo na otklanjanje inficiranog tkiva, drenažu neke gnojne kolekcije i sl., nego i na uklanjanje jatrogenih potencijalnih izvora kao što su razni kateteri i drenovi. Za odstranjenje inficiranog tkiva ponekad je neophodna hirurška intervencija, manje invazivna procedura ima prednost ukoliko obezbjeđuje adekvatnu efikasnost [26]. Koji antimikrobni lijek dati kom pacijentu, kada, u kojoj dozi i na koji način, od izuzetnog je značaja, pogotovo u intenzivnoj medicini, s obzirom da je dokazano da svaka od ovih karika značajno utiče na ishod liječenja [92]. Koji antimikrobni lijek dati nesumnjivo je jedno od najvažnijih pitanja u liječenju bilo koje infekcije. Na prijemu pacijenta sa infekcijom u JIL, uzročnik najčešće još uvek nije izolovan. Izbor početnog antimikrobnog lijeka koji treba da pokrije sve vjerovatne uzročnike infekcije, odnosi se kako na bakterijske tako i na eventualne virusne ili gljivične uzročnike. Određuje se na osnovu vjerovatnog izvora infekcije, nedavno ordinirane antimikrobne terapije i epidemioloških mapa koje su rezultat lokalnih mikrobioloških flora i obrazaca antimikrobne rezistencije [29,92]. Na izbor antimikrobnog lijeka, takođe, utiču i druge karakteristike pacijenta kao što su hronične udružene bolesti, imunosupresija, podaci o ranijim putovanjima u neke endemske krajeve, ali i način života samog pacijenta [93,94]. Posebanu pažnju treba obratiti kod neutropeničnih pacijenata koji spadaju u grupu sa povećanim rizikom od infekcije atipičnim i multirezistentnim patogenima, kao i gljivičnih infekcija, na prvom mjestu uzrokovanih Kandidom [95,96]. Prema preporukama za liječenje sepse - SSC (*engl. Surviving Sepsis Campaign*) preporučeno je dati antimikrobni lijek širokog spektra. Kad je riječ o septičkom šoku, kombinovana terapija ima prednost u odnosu na davanje jednog lijeka, a nakon izolacije patogena i određivanja njegove senzitivnosti, terapiju korigovati antimikrobnim lijekom suženog spektra na koji je izolovani patogen osjetljiv [29]. Ovaj princip se naziva deeskalaciona antimikrobna strategija. Otežavajuća okolnost je što se u nekim slučajevima

izoluje više patogena, a kod oko 30% pacijenata kulture su negativne, tako da deeskalacija nije uvijek moguća i opravdana [33]. Od velike koristi su savremene metode brze detekcije uzročnika, čiji se broj i preciznost konstantno povećava. Šteta koju nanosi pogrešan izbor antimikrobnog lijeka je velika, sa jedne strane po pacijenta, jer ne doprinosi njegovom izliječenju, a sa druge strane doprinosi razvoju rezistencije na antibiotike što predstavlja jedan od najvećih problema današnjice [97]. Antimikrobni lijek je potrebno dati što ranije, idealno nakon uzimanja uzoraka za mikrobiološku analizu, što svakako ne bi smjelo da odloži započinjanje terapije. Prema preporukama SSC antibiotik treba da se ordinira u prvom satu nakon prepoznavanja septičkog šoka, i ovo se naziva zlatni sat [31,98]. Kumar i saradnici su pokazali da u inicijalnom tretmanu pacijenata u septičkom šoku svaki sat odlaganja započinjanja antibiotske terapije povećava rizik od smrtnog ishoda za 7,6% [99]. Doziranje lijekova kod kritično oboljelih pacijenata treba prilagoditi karakteristikama kritične bolesti. Treba napomenuti da su doze većine antibiotika koje preporučuje proizvođač rezultat ispitivanja na nekritičnim pacijentima [100]. Farmakodinamika i farmakokinetika mnogih lijekova može biti poremećena kod pacijenata sa sepsom, pogotovo ako je prisutna i bubrežna i/ili jetrena insuficijencija ili se sprovodi neka procedura poput kontinuirane nadoknade bubrežne funkcije ili ekstrakorporalne membranske oksigenacije - ECMO (*engl. Extracorporeal Membrane Oxygenation*). Sve je sve neophodno uzeti u kalkulaciju prilikom određivanja doze lijeka [101]. S obzirom na navedene specifičnosti, svakodnevno mjerenje koncentracije određenog lijeka u krvi pacijenta, kao i poznavanje minimalne inhibitorne koncentracije - MIK (*engl. Minimum Inhibitory Concentration*) za izolovani patogen je od izuzetne važnosti [92]. Način ordiniranja antibiotika treba takođe da prati farmakokinetičke i farmakodinamičke karakteristike samog lijeka. Na primer, kolistin i amikacin (antibiotik koji se značajno često koriste u JIL-u sa niskim resursima) pokazuju značajnu efikasnost u liječenju pneumonije i kod ordiniranja inhalatornim putem, zatim, aminoglikozidi i fluorohinoloni pokazuju veću efikasnost kod davanja u većim koncentracijama. Beta laktamski antibiotici su značajno efikasniji kad se ordiniraju u produženoj kontinuiranoj infuziji, odnosno kad im je koncentracija u plazmi što duže iznad MIK-a za ciljani patogen, s obzirom da im je efekat vremenski zavisian [29,102].

1.2 BIOMARKERI INFLAMACIJE

U svakodnevnom kliničkom radu izazov je rano prepoznati trenutak kada infekcija postaje sistemska i kada imuni sistem na nju izaziva pretjeranu reakciju. Iako se decenijama traga za idealnim biomarkerom sepse sa zadovoljavajućom dijagnostičkom osjetljivošću i specifičnošću, svi do sada poznati biomarkeri nisu u potpunosti ispunili željene kriterijume.

Glavna uloga poznatih biohemijskih biomarkera je u prognozi teškog oblika sepse i septičkog šoka kao i neželjenih komplikacija i ishoda bolesti kao što su: fatalni ishod sepse, vrijeme liječenja u bolnici i vrijeme i efikasnost upotrebe antibiotika. Pravac promjene koncentracije biohemijskih biomarkera inflamacije i određivanje graničnih vrijednosti omogućuju da se blagovremeno donese odluka o načinu liječenja i prevenciji neželjenih ishoda [103,104].

1.2.1 C-reaktivni protein (CRP)

CRP je protein akutne faze upale i važan element urođenog imuniteta. Sintetiše se u jetri pod stimulacijom proinflammatoryh citokina. Porast koncentracije CRP-a javlja se 6 sati nakon razvoja upale, a vršna koncentracija se postiže za 48 sati. Intenzitet povećanja koncentracije CRP-a u krvotoku prati intenzitet inflamatornog procesa, zbog čega koncentracija ovog proinflammatoryh proteina može porasti i do 100 puta iznad normalne vrijednosti [105]. Na mjestu oštećenja tkiva, CRP se vezuje za različite patogene, posebno bakterije i olakšava njihovo uklanjanje iz tijela kroz proces opsonizacije. Iako je najčešće korišten biomarker upale, najveći nedostatak CRP-a je njegova nespecifičnost. Porast CRP-a će se javiti u slučaju upale i oštećenja tkiva uzrokovanog gljivicama i virusima, ali i kod neinfektivnih stanja kao što su traume, pankreatitisa, maligna oboljenja i sl. Istraživanja su pokazala da je CRP povezan s težinom kliničkog stanja kod sepse te se praćenjem promjene njegove koncentracije prati odgovor na terapiju antibioticima [106]. CRP se pokazao i kao biomarker rizika od razvoja sepse i septičkog šoka i potrebe za prijemom bolesnika u JIL [107].

1.2.2 Prokalcitonin (PCT)

U posljednjih 20 godina PCT je biomarker sepse koji je najviše proučavan. U fiziološkim uslovima PCT sintetišu C-ćelije štitne žlijezde kao kalcitonin prohormon. Njegova koncentracija i protok su niski u zdravlju. Kod bakterijske upale i u sepsi, inače neaktivan gen za PCT sintezu se aktivira u drugim organima i neendokrinim ćelijama. Sintezu PCT-a direktno stimulišu cirkulišući bakterijski endotoksini, ali i proinflammatoryh citokini kao što su IL-6 i TNF- α . Koncentracija PCT-a u krvotoku može porasti i do 1000 puta [108]. Povećanje koncentracije PCT-a u bakterijskim infekcijama javlja se već 3 - 5 sati nakon aktivacije upale, a najveću koncentraciju dostiže za 24 - 36 sati. Poluživot PCT-a u plazmi je 25 - 35 sati [109]. Biološka funkcija PCT-a kod inflamacije još nije potpuno jasna, ali je dokazano da je povezana s povećanim mortalitetom u sepsi. Najizraženiji porast PCT-a javlja se kod bakterijskih infekcija, sepse i septičkog šoka. Međutim, kao i kod CRP-a, povećanje koncentracije PCT-a takođe se javlja u upalama koje nisu uzrokovane bakterijama, poput toplotnog udara, opekotina,

pankreatitisa i citokinske oluje. U poređenju sa CRP-om, PCT je bolji prognostički indikator težine infekcije i disfunkcije organa [110]. Brojne studije su pokazale važnu ulogu PCT-a u praćenju uspješnosti antibiotske terapije i smanjenju nepotrebnog izlaganja pacijenata antibioticima [111,112]. PCT je prognostički marker smrtnog ishoda. U studiji Jaina i saradnika pacijenti sa PCT vrijednostima $> 7 \mu\text{g/L}$ imali su 2,6 puta veći rizik od smrtnog ishoda [113]. U retrospektivnoj studiji koja je rađena u bolnici Zhongnan Univerziteta Vuhan u Kini, a uključeni su bili pacijenti sa sepsom, utvrđeno je da je nivo PCT u serumu bio znatno viši kod pacijenata sa GN sepsom nego kod onih sa GP ili gljivičnom sepsom [114].

1.2.3 Interleukin-6 (IL-6)

IL-6 je citokin koji pretežno ispoljava proinflamatorno dejstvo, mada je dokazano i njegovo antiinflamatorno dejstvo. Sintetišu ga brojne ćelije kao što su makrofagi, monociti, endotelne ćelije, fibroblasti, T limfociti i adipociti. Važan rani medijator razvoja inflamatorne reakcije i učesnik u mehanizama urođenog imuniteta. Tokom upale IL-6 u CNS-u stimuliše sintezu prostaglandina E_2 u hipotalamusu, što izaziva povećanje tjelesne temperature. U jetri IL-6 stimuliše pojačanu sintezu i oslobađanje reaktanata akutne faze upale. Povećanje koncentracije IL-6 javlja se već unutar 1 - 2 sata od početka upale i to čini IL-6 jednim od najranijih markera akutne faze upale [114]. Koncentracije IL-6 mogu da se povećaju i kod traume, srčanog udara, autoimunih i malignih bolesti kao i poslije operacija, što smanjuje specifičnost IL-6 u dijagnozi sepse. Kao i kod drugih markera upale, povećana koncentracija IL-6 faktor je rizika za razvoj sepse i septičkog šoka, težine kliničkog stanja, dužine boravka u bolnici i reakcije na terapiju. Nedavne studije su pokazale prognostičku ulogu IL-6 u predviđanju preživljavanja pacijenata sa sepsom i septičkim šokom u roku od 48 sati od prijema u JIL. Pacijenti koji su razvili septički šok, imali su više vrijednosti IL-6 u serumu koje su zadržavale tokom dužeg perioda praćenja [115].

1.2.4 Leukociti (WBC)

Leukociti su sve ćelije koje imaju jezgro u krvnoj cirkulaciji. Ove ćelije čine osnovu imunog sistema i dio su urođenih i stečenih odbrambenih mehanizama. Glavna funkcija monocita i neutrofila je fagocitoza patogena i oštećenog tkiva. Dodatna važna uloga monocita i makrofaga je predstavljanje antigena uzročnika bolesti na površini membrane. Takve antigene prepoznaju T i B limfociti koji pokreću reakcije stečenog imuniteta. Porast broja leukocita u krvotoku jedan je od najstarijih markera upale. U zdravlju, samo mali dio leukocita cirkuliše krvlju, a većina je vezana za endotel krvnih sudova i uskladištena u koštanoj srži, odnosno

limfnim tkivima. U upali se brzo oslobađaju u krvotok i odlaze u tkiva. Poluvrijeme života leukocita u krvotoku je samo 6 - 8 sati. Kod teške upalne reakcije, kakva je sepsa, leukociti poput neutrofila i monocita brzo odumiru i uklanjaju se iz tkiva. Prve smjernice iz 1992. uključivale su leukocite u definiciju SIRS-a (Tabela 1.). Određivanje ukupne koncentracije leukocita je brz, jednostavan i lako dostupan test koji može postaviti sumnju na razvoj upale kod bolesnika. Međutim, ukupna koncentracija leukocita nema dovoljnu specifičnost za postavljanje dijagnoze sepse ili septičnog šoka. Oboljeli od sepse mogu imati normalnu ukupnu koncentraciju leukocita u krvi [116].

1.2.5 Faktor nekroze tumora alfa (TNF- α)

TNF (*engl. Tumor Necrosis Factor Alpha*) predstavlja grupu citokina koji se stvaraju u aktiviranim monocitima i limfocitima. U krvi se detektuje veoma rano, unutar 2 - 3 sata od infekcije. Klirens mu je također brz i za 24 sata pada ispod niva detekcije. TNF ima dva oblika: alfa i beta. Alfa oblik je važan u procesu inflamacije i dio je proteina akutne faze. Važna uloga je u programiranoj ćelijskoj smrti, što je posebno značajno u regulaciji rasta tumora. Beta oblik je prvenstveno važan za virusne infekcije. Izlučuju ga aktivirani limfociti. Efekat može inhibirati IL-10. Nivo TNF- α značajno je povišen u pacijenata sa sepsom [117]. U prospektivnoj opservacionoj studiji koju je odobrio etički odbor Vojno Medicinske Akademije u Beogradu, cilj je bio da se utvrdi razlika u ranom profilu citokina u GN i GP bakterijemiji kod pacijenata sa abdominalnom sepsom. Ustanovljeno je da je koncentracija citokina TNF- α , IL-8, INF- γ , IL-4, i IL-10 je znatno viša u GN u odnosu na GP infekciju. Ta razlika u koncentraciji citokina je bila u korelaciji sa ishodom liječenja. Utvrđeno je i da je smrtnost veća kod ispitanika sa GN infekcijom udruženo sa većom koncentracijom proinflamatornih citokina u odnosu na GP infekciju. Međutim, ovi rezultati su preliminarni, a dalja istraživanja sa većim uzorcima i drugim subpopulacijama septičnih pacijenata su opravdana [118].

1.3 OKSIDATIVNI STRES

1.3.1 Slobodni radikali

Preko 90% kiseonika u organizmu prolazi kroz proces stvaranja energije oksidativnom fosforilacijom u mitohondrijima gdje se molekularni kiseonik redukuje u vodu. Proces se odvija na unutrašnjoj membrani mitohondrija u transportnom lancu elektrona koji se sastoji od pet respiratornih kompleksa (I - V). Elektoni se prenose sa jednog na drugi (I - IV) što dovodi do stvaranja ATP-a u kompleksu V (ATP sintaza). Tokom tog procesa gubi se 0,1 - 0,5% elektrona

koji se transportuju kroz respiratorni lanac i učestvuju u proizvodnji reaktivnih vrsta kiseonika i reaktivnog azota [119]. Reaktivne vrste predstavljaju heterogenu grupu koja se sastoji od slobodnih radikala i neradikala. Slobodni radikali se dijele u nekoliko kategorija u zavisnosti od toga koji je atom u centru: reaktivne vrste kiseonika - ROS (*engl. Reactive oxygen species*); reaktivne vrste azota - RNS (*engl. Reactive nitrogen species*); reaktivne vrste ugljenika – RCS (*eng. Reactive carbon species*) i reaktivne vrste sumpora - RSS (*eng. Reactive sulfur species*) (Tabela 4.) [120]. ROS se sastoji od slobodnih radikala kiseonika i neradikalnih reaktivnih oblika ovog elementa. Slobodni radikali su molekule, atomi ili joni, sposobni za samostalno postojanje i sadrže jedan ili više nesparenih elektrona. S druge strane, nekoliko reaktivnih vrsta kiseonika ne sadrži nesparene elektrone. Oni predstavljaju neradikalne komponente, ali se ponašaju kao slobodni radikali i pomažu reakciju slobodnih radikala. U procesu ćelijskog disanja u mitohondrijima nastaju i reaktivne vrste azota. Zbog usklađivanja terminologije, ROS i RNS se zajednički nazivaju „reaktivne vrste kiseonika i azota”. Budući da su sve RNS ujedno i reaktivne vrste koje sadrže kiseonik, pojam ROS može se primijeniti i na njih. Jedinjenja sumpora (S) i ugljenika (C) takođe oslobađaju svoje reaktivne vrste [121,122].

U Tabeli 4. prikazani su slobodni radikali i njihova podjela.

Tabela 4. Slobodni radikali, vrste i podjela

	Radikalni oblici	Neradikalni oblici
Reaktivne vrste kiseonika -ROS	Superoksid anijon radikal - O_2^- Hidroksil radikal - $OH^\cdot$ Peroksil radikal - $ROO^\cdot$ Alkoksil radikal - $RO^\cdot$ Hidroperoksil radikal – $HOO^\cdot$	Vodonik peroksid - H_2O_2 Hipohlorna kiselina - $HOCl$ Ozon - O_3 Singlet kiseonik - $^1O_2$
Reaktivne vrste azota -RNS	Azot - monoksid radikal - $NO^\cdot$ Azot- dioksid radikal - $NO_2^\cdot$	Azot- dioksid anijon - NO_2^- Azot - trioksid - N_2O_3 Peroksinitrit anjon - $OONO^-$ Alkil peroksinitrit - $ROONO$ Nitroksil anjon - NO^- Nitroksil anjon - NO^+ Nitril hlorid - NO_2Cl
Reaktivne vrste ugljenika -RCS	Alkil radikal - $R^\cdot$ Alkoksil radikal - $RO^\cdot$ Peroksil radikal - $ROO^\cdot$	
Reaktivne vrste sumpora - RSS	Tiol radikal - $RS^\cdot$ Glutation radikal - $GS^\cdot$ Diglutation - disulfid anijon radikal $GSSG$	

Slobodni radikali nastaju endogeno tokom ćelijskog disanja, inflamatornog odgovora ili kao rezultat reakcija u mitohondrijima, na nivou citohroma P450. Najveća količina endogeno proizvedenih slobodnih radikala nalazi se u mitohondrijima. Egzogeni uzroci nastanka slobodnih radikala su faktori životne sredine: zagađenje vazduha, izloženost zračenju, industrijsko zagađenje i dr. Negativne životne navike poput pušenja, pretjeranog izlaganja suncu, takođe, doprinose povećanom stvaranju slobodnih radikala. U fiziološkim uslovima ROS igraju važnu ulogu u međućelijskoj signalizaciji, aktivaciji enzima, u metaboličkim i detoksikacionim procesima, inflamatornim reakcijama, homeostazi kalcijuma, regulaciji transkripcije i apoptozi [123]. U procesu stvaranja ROS-a opisuju su tri faze. Faza inicijacije, propagacije i završna faza. U fazi inicijacije, slobodni radikali dobijaju ili gube elektron od susjedne molekule. U fazi propagacije nastala promjena se prenosi na okolne strukture. U završnoj fazi dolazi do prekida aktivnosti slobodnih radikala dejstvom antioksidativne zaštite. U zdravim ćelijama oksidacija i formiranje ROS-a dešavaju se kontrolisanom brzinom i povećana količina prooksidaze se neutrališe sistemom antioksidativne zaštite. U uslovima stresa ili patoloških stanja, kao što je sepse, proizvodnja ROS je povećana i kapacitet antioksidativne zaštite nije u mogućnosti da eliminiše nastale prooksidante. U ovim uslovima povećano stvaranje slobodnih radikala nije praćeno adekvatnim nivoom antioksidativne zaštite koja neutrališe štetne efekte prooksidanata i nastaje oksidativni stres. Oksidativni stres uzrokuje peroksidaciju lipida i proteina, deaminaciju DNK baza i dovodi do narušene sposobnosti mitohondrija da sintetiše ATP, što rezultira oštećenjem osnovnih funkcija ćelije i organizma [124,125]. Slobodni radikali negativno utiču na sve biološke molekule u svom okruženju i oštećuju aminokiseline, lipide, nukleinske kiseline. Tokom posljednje decenije dokazano je da su u osnovi mnogih nezaraznih bolesti, kardiovaskularnih, neurodegenerativnih, autoimunih, malignih, upravo negativni efekti oksidativnog stresa. Oksidativno oštećenjem sulfhidrilnih grupa uzrokuje strukturno i funkcionalno oštećenja proteina. Proces lipidne peroksidacije dovodi do oštećenja membranskih struktura. Oksidacioni procesi na DNK strukturi izazivaju oštećenja na nivou gena, ometajući proces transkripcije. Formiranje ROS i RNS može se odvijati u enzimskim i neenzimskim reakcijama. Enzimske reakcije koje stvaraju slobodne radikale uključene su u mitohondrijalni respiratorni lanac, fagocitozu, sintezu prostaglandina i sistem citohroma P450 [126].

Vodonik peroksid (H_2O_2)

H_2O_2 je prooksidans koga proizvode sve ćelije tijela i koji ima važne fiziološke uloge, kao što su transmembranski prenos signala, genska ekspresija, ćelijska diferencijacija, metabolizam inzulina i signalnim putevima koji su indukovani faktorima rasta. U običnim uslovima on je slabo reaktivan, može se ponašati kao slabo oksidaciono ili redukciono sredstvo i ne oksidiše lako većinu biološki aktivnih molekula, uključujući lipide, DNK i proteine. Liposolubilna je i lako difunduje kroz membrane. Opasnost 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, pri čemu je najvažnije gvožđe (Fe) [127]. Međutim, ukoliko se proizvodi u velikim količinama, postaje štetan i može uticati na pojavu bolesti. Potvrđena je povećana koncentracija H_2O_2 u stanjima poput ulceroznog kolitisa (nađena je značajno povišena koncentracija u sluznici kolona), sepse (toksičnost H_2O_2 bi mogla rezultirati imunosupresijom, hipotenzijom i organskom disfunkcijom), sistemskog eritemskog lupusa (povećana količina H_2O_2 rezultuje povećanom limfocitnom i makrofagnom apoptozom) [128]. Glavni izvori H_2O_2 uključuju flavin zavisne oksidaze (npr. oksidoreduktazu endoplazmatskog retikuluma, ERO1; acetil koenzim A oksidaze u peroksizomima) i supeoksid dizmutazu (SOD). SOD katalizuje dismutaciju superoksidnog anjon radikala (O_2^-) koji se dominantno stvara u mitohondrijalnom transportnom lancu elektrona, kao i pomoću NADPH oksidaza koje su lokalizovane u različitim subcelularnim odjeljcima, čime nastaju H_2O_2 i O_2 . Glavni enzimi koji uklanjaju H_2O_2 su katalaza i peroksidaze, kao što su glutation peroksidaza (GSH) i peroksiredoksini [129].

Superoksid-anjon-radikal (O_2^-)

O_2^- je slabo reaktivna molekula, međutim može se transformisati u ROS ukoliko se aktivira energijom prirodno ili vještački. Postoje četiri oksidovana oblika kiseonika: dioksigen (O_2^n), dioksigen katjon (O_2^+), superoksid anjon (O_2^-) i peroksid dianjon (O_2^{2-}), među kojima je O_2^- radikal vrlo interesantan. Termin superoksid je predložen od strane naučnika kako bi se istakla njegova jako velika reaktivnost i snažna oksidativna aktivnost. U tijelu O_2^- 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, dovodi i do promjena genetskog materijala, promjena u funkciji proteina i enzima, oslobađanja dvovalentnog Fe i inaktivacije NO. Ljudsko tijelo stvara oko 5g ROS/dnevno, uglavnom procesom oksidativne fosforilacije (O_2^- i H_2O_2 su

dva glavna produkta), međutim postoji ravnoteža između korisnih i štetnih efekata kiseonikovih radikala (uključeni u procese kao što su denaturacija proteina i lipidna peroksidacija). U normalnim okolnostima SOD održava koncentraciju O_2^- u optimalnom opsegu [130].

Nitriti (NO_2^-)

NO_2^- nastaju oksidacijom azot monoksida (NO). Iako je NO otkriven u 18. vijeku, nije se znao njegov mehanizam djelovanja sve do 1987. godine. Katsuki i saradnici su otkrili kako je vazodilatacija uzrokovana NO rezultat stimulacije solubilnom guanil ciklazom. NO nastaje iz L-arginina i O_2 pod dejstvom enzima azot oksid sintaze (NOS), pri čemu kao nusproizvod nastaje L-citrulin. Radi se o nestabilnoj molekuli sa kratkim poluvremenom života (6 - 10 sekundi), a vežući se sa O_2 stvara stabilne završne produkte, nitrate (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, koji nastaju kao rezultat vazodilatacije i eventualnog povećanog protoka krvi. On je uključen u mnoga patološka stanja kao što su septički šok, ishemijski moždani udar, neurodegenerativne bolesti i hipertenzija. Relaksacija glatkih mišića posredovana NO postiže se aktivacijom gvanilat ciklaze kroz sledeće mehanizme: a) smanjenje intracelularne koncentracije Ca kroz smanjenja intracelularne koncentracije cGMP, b) aktivaciju K^+ kanala što rezultira relaksacijom i hiperpolarizacijom i c) stimulaciju fosfataze preko lakog lanca miozina što izaziva relaksaciju glatkih mišića [131].

1.3.2 Antioksidansi

Antioksidans je dovoljno stabilan molekul da donira elektron pobjesnilom slobodnom radikalu koji neutrališe čime se smanjuje njegova sposobnost da izazove štetu. Ovi antioksidansi odlaze ili inhibiraju ćelijsko oštećenje uglavnom zbog svojih osobina uklanjanja slobodnih radikala. Antioksidansi niske molekularne težine mogu bezbjedno da komuniciraju sa slobodnim radikalima i mogu da prekinu lančanu reakciju prije nego što dođe do oštećenja vitalnih molekula. Neki od ovih antioksidanasa, uključujući glutation, ubihinol i mokraćnu kiselinu, proizvode se tokom normalnog metabolizma u tijelu. Drugi, manje snažni antioksidansi, nalaze se u ishrani. Iako u tijelu postoji nekoliko enzimskih sistema koji uklanjaju slobodne radikale, glavni antioksidansi među mikronutrijentima (vitamini) su vitamin E (α -tokoferol), vitamin C (askorbinska kiselina) i β -karoten. Tijelo ne može da proizvede ove mikronutrijente, tako da ih moramo unositi ishranom. Antioksidansi djeluju kao hvatači radikala, donori vodonika, donori elektrona, razlagači peroksida, gasitelji O_2^- , inhibitori

enzima, synergisti i agensi za heliranje metala. Enzimski i neenzimski antioksidansi se nalaze u intracelularnom i ekstracelularnom okruženju i služe za detoksikaciju ROS.

1.3.3 Mehanizam djelovanja antioksidanasa

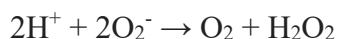
Ljudski organizam je razvio sistem antioksidativne zaštite kako bi spriječio dejstvo prooksidanata i zaštitio ćelije od oksidativnog oštećenja. Antioksidativne supstance su se razvile u aerobnim organizmima kako bi, u fiziološkim uslovima, zaštitile biološke molekule od štetnog dejstva ROS i RNS. Pod terminom antioksidansi podrazumjeva se bilo koja supstanca koja može spriječiti, smanjiti ili popraviti oštećenje nastalo negativnim uticajem oksidativnog stresa, uzrokovano povećanom koncentracijom prooksidanata. Ciljni molekuli podrazumjevaju proteine, lipide i nukleinske kiseline. Postoje tri glavna načina djelovanja antioksidansa: antioksidansi koji direktno uklanjaju već nastale slobodne radikale, antioksidansi koji sprječavaju stvaranje slobodnih radikala i antioksidansi koji uklanjaju ili popravljaju oštećenja izazvana slobodnim radikalima. Mogu se podijeliti na nekoliko načina. Prema mjestu djelovanja dijele se na intracelularne, ekstracelularne i membranske. Prema mjestu na kome ispoljavaju djelovanje dijele se na rastvorljive u vodi ili ne. Pored toga antioksidativni sistem zaštite djeluju na 3 nivoa:

- 1) *Primarni*: čine ga enzimi koji razgrađuju slobodne radikale: katalaze (CAT), superoksid dizmutaza (SOD), glutation peroksidaza (GPx), glutation reduktaza (GR) i neenzimske komponente kao što su: glutation (GSH), askorbinska kiselina (vitamin C), b-karoten (vitamin A), α -tokoferol (vitamin E);
- 2) *Sekundarni*: obuhvata specifične oksidoreduktaze, kao što su tiolne transferaze, protein-ADP-riboziltransferaze, ATP i kalcijum (Ca^{2+}) nezavisne transferaze, pigmenti (kao što je melatonin) i neke stabilne lipidne molekule (kao što je LDL);
- 3) *Tercijarni*: obuhvata specifične proteine koji vezuju prelazne metale, kao što su ceruloplazmin, koji vezuje bakar, kao i apoferitin, koji vezuje gvožđe.

Antioksidativna zaštita se dijeli na dva dijela: enzimski i neenzimski antioksidativni sistem. Enzimska antioksidativna zaštita nalazi se prvenstveno na mjestima stvaranja slobodnih radikala unutar ćelije, u mitohondrijima i ekstracelularnom prostoru [132].

Superoksid dizmutaza (SOD)

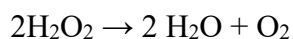
SOD je enzim otkriven 1960-ih godina od strane američkih istraživača, Joe McCord (Džo Mekord) i Irwin Fridovich (Irvin Fridovič). Pripada grupi metaloenzima, a katalizuje pretvaranje O_2^- u H_2O_2 i O_2 , čime smanjuju njegovu koncentraciju koja može biti vrlo štetna po ćeliju.



Dalje se H_2O_2 redukuje do H_2O pomoću enzima CAT, GPx ili tioredoksin-zavisnih peroksireoksin enzima. Postoji više izoenzima SOD: najbrojnija je SOD₁ koja sadrži bakar (Cu) i cink (Zn) i može se naći u jezgri, citoplazmi, peroksizomima, lizozomima i međumembranskom prostoru mitohondrija. SOD2 sadrži mangan (Mn) i nalazi se predominantno u mitohondrijskom matriksu, dok SOD3 takođe sadrži bakar (Cu) i cink (Zn) i nalazi se u ekstracelularnom prostoru. Nivo SOD u tijelu opada sa starenjem, tako da godinama postajemo skloniji bolestima koje su povezane sa oksidativnim stresom. Različite studije su proučavale upotrebu SOD u terapijske svrhe, npr. u kozmetici kao sastojak anti-age linija. Aktivnost SOD je smanjena i povezana sa različitim bolestima kao što su: bolesti eritrocita, cistična fibroza, tumori, amiotrofična lateralna skleroza, sida, steroid senzitivni nefrotski sindrom, Ajchajmerova bolest [133,134].

Katalaza (CAT)

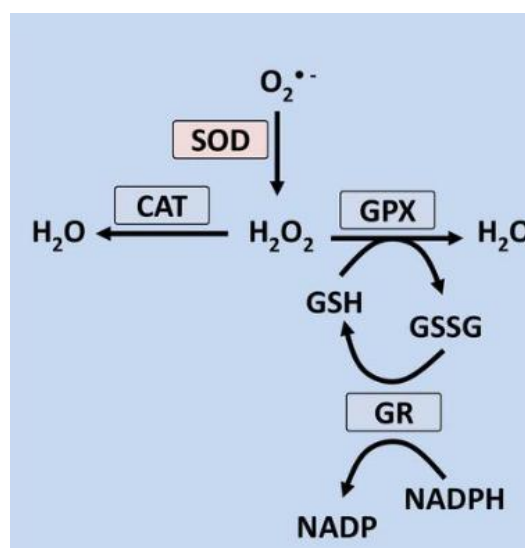
CAT je jedan od najvažnijih antioksidativnih enzima u aerobnim organizmima. Građena je iz četiri podjedinice (svaka podjedinica sadrži jednu molekulu hema). Enzim se nalazi se u peroksizomima i ima molekularnu težinu od 220 - 240 kDa. Katalizuje hemijsku reakciju u kojoj se dvije molekule toksičnog H_2O_2 pretvaraju u jednu molekulu O_2 i dvije molekule H_2O , u dvostepenoj reakciji. U zavisnosti od strukture, razlikujemo tri vrste CAT: 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 šizofrenija [135].



Glutation (GSH)

Glutation je tripeptid prisutan u biljnim i životinjskim ćelijama, koji ima ključnu ulogu u biološkim oksidacionim procesima. Štiti ćelije od oksidativnog stresa redukujući štetne perokside u reakciji koju katalizuje enzim glutathion-peroksidaza, koji u svojoj strukturi sadrži selen. Tokom ovog procesa, glutathion se oksiduje u svoj disulfidni oblik. Za regeneraciju glutathiona u redukovani oblik uz pomoć nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfata (NADPH) koristi se enzim glutathion-reduktaza [136].

Slika 6. prikazuje međusobne relacije prooksidanata i antioksidanasa.



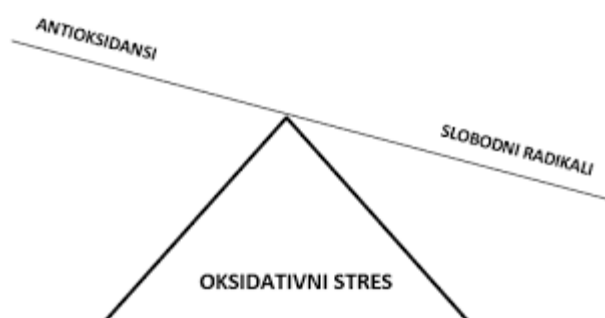
Skraćenice: $O_2^{\bullet-}$ - superoksid-anijon-radikal; H_2O_2 - vodonik-peroksid; H_2O - voda; SOD - superoksid dizmutaza; CAT - katalaza; GSH - redukovani glutathion; GSSG - oksidisani glutathion; GR - glutathion reduktaza; NADPH - redukovani oblik nikotinamid adenin dinukleotid fosfata; NADP - nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

Slika 6. Prikaz međusobne relacije najznačajnijih prooksidanata i antioksidanasa

1.3.4 Uloga oksidativnog stresa u sepsi

Patogeneza sepse još uvijek nije u potpunosti razjašnjena, međutim, dvije osnovne pojave u okviru inflamatornog odgovora su: nesposobnost ćelije da troši kiseonik i prekomijerna proizvodnja prooksidanata. Povećano stvaranje prooksidanata, smanjena dostupnost i/ili povećana potrošnja antioksidanasa narušava redoks homeostazu, dovodeći do oštećenja ćelijskih lipida, proteina i nukleinskih kiselina. Nekoliko molekularnih mehanizama koji leže u osnovi progresije sepse povezani su sa disregulacijom između stvaranja ROS i

njegove eliminacije putem ćelijskih antioksidativnih puteva (Slika 6.) [137]. Oksidativni stres označava poremećaj ravnoteže između nivoa prooksidanata i antioksidanasa, u korist prooksidanata, što potencijalno može dovesti do oštećenja ćelija i tkiva. Prooksidanti u niskim ili srednjim koncentracijama ostvaruju svoju fiziološku ulogu zaštite ćelije od štetnih uticaja, kao i ulogu u unutarćelijskoj komunikaciji. Ukoliko je koncentracija prooksidanata previsoka, dolazi do narušavanja redoks potencijala ćelije, čime se ispoljava njihov štetni efekat (Slika 7.).



Slika 7. Poremećaj ravnoteže između prooksidanata i antioksidanasa

Patogeneza sepse uključuje infekciju GP i GN bakterijama, gljivicama ili njihovom kombinacijom. Sepsu karakteriše pojačan inflamatorni odgovor, a u teškim slučajevima može doći do hipotenzije, vazodilatatornog šoka, smanjenog snabdijevanja tkiva kiseonikom i posljedične ćelijske disfunkcije. Iako su ROS i RNS uključene u progresiju sepse, njihov precizan značaj i funkcija ostaju nejasni. Međutim, hiperpermeabilnost, hipotenzija i mitohondrijska disfunkcija ključni su faktori koji doprinose multiorganskoj insuficijenciji i na kraju, smrtnom ishodu septičnih pacijenata. Učešće ROS/RNS, O_2^- , $\cdot OH$, H_2O_2 , NO i $ONOO^-$ dokumentovano je u patofiziologiji sepse i septičnog šoka. Mitohondrijalna disfunkcija povezuje se s oštećenjem unutrašnje membrane, prekidom prenosa elektrona duž respiratornog lanca i disfunkcijom FoF_1 -ATP-sintaze, što za posljedicu ima smanjenu proizvodnju ćelijske energije. Štaviše, prekomjerno stvaranje NO, kao rezultat aktivnosti inducibilne sintaze azot monoksida (iNOS), povezano je sa štetnim posljedicama, uključujući široko rasprostranjenu vazodilataciju i smanjenu osjetljivost na egzogeno primijenjene vazopresore. Sepsu karakteriše indukcija proizvodnje iNOS-a u različitim ćelijama usljed djelovanja inflamatornih medijatora i citokina [138].

1.4 ENDOTELNA DISFUNKCIJA

Endotel podrazumjeva jedan sloj pločastih ćelija koje oblažu unutrašnju površinu srca i svih krvnih i limfnih sudova. Histološki posmatrano, endotelne ćelije bazalnim polom leže na bazalnoj lamini, apikalnim polom koji je je pokriven slojem glikokaliksa usmjerene su prema lumenu krvnog suda, dok su lateralnim stranama povezane međućelijskim spojevima (okludentni, adherentni i komunikacijski spojevi). Glatka apikalna površina ćelija 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 najznačajniji su azot-monoksid (NO) i prostaciklin 2 (PGI₂) dok je među vazokonstriktornim supstancama najznačajniji endotelin-1. Od navedenih, posebno je 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, von Willebrandov faktor (vWF), trombomodulin, tkivni plazminogen aktivator, faktor koji aktivira trombocite, proteine bazalne membrane, adhezione molekule, vazoaktivne supstance, heparin sulfat, proteoglikane, slobodne radikale i matriksne metaloproteaze [139].

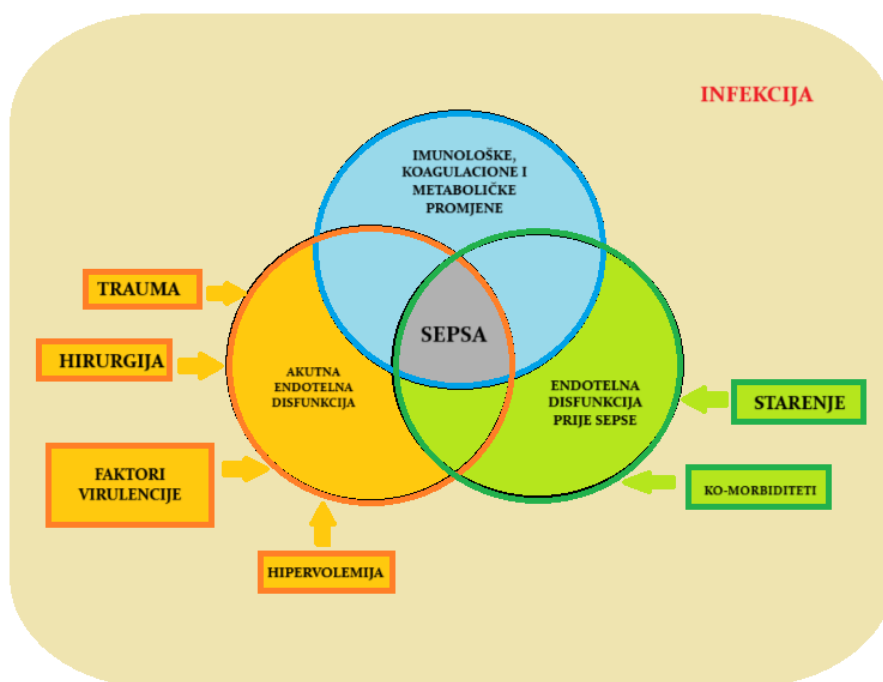
1.4.1 Posljedice endotelne disfunkcije u sepsi

Endotelna disfunkcija se karakteriše poremećajem ravnoteže između supstanci koje imaju vazodilatatorna, antitrombotička i antiproliferativna svojstva (NO, prostaciklin i endotelin-zavisni hiperpolarizirajući faktor) i supstanci koje imaju vazokonstriktorne, protrombogene i proliferativne osobine (superoksid anjon, endotelin-1 i konstriktorni prostaglandini). Iako postoji mnogo predloženih mehanizama nastanka endotelne disfunkcije, smatra se da su inflamacija i oksidativni stres ključni u njenom nastanku (Slika 8.) [140]. Tokom upale, homeostaza endotelnog sloja je poremećena. Endotelne ćelije krvnih sudova prve dolaze u kontakt s patogenima ili štetnim metabolitima pa je njihova reakcija među prvima koje upozoravaju na potencijalnu opasnost. Stimulacija endotelnih ćelija stranim antigenima dovodi do brzog odgovora koji ne zavisi od ekspresije gena već predstavlja odgovor na ligande koji se vezuju za ćelijske receptore endotelnih ćelija i prenose signal unutar ćelije. Ovaj signal podstiče razvijanje novih funkcija u endotelnoj ćeliji, čineći je aktivnim učesnikom u upalnom procesu. U

eksperimentalnim modelima na životinjama i ljudima lipopolisaharidi (LPS) stimuliše lučenje IL-1b, IL-6 i TNF- α iz endotelnih ćelija. Ovaj proces se laboratorijski manifestuje povećanjem CRP-a i aktivacijom proinflamatornog imunološkog odgovora. Iako različiti receptori mogu aktivirati NF- κ B signalni put, značajnu ulogu u ovom procesu ima stimulacija receptora TLR4 pomoću TNF- α , IL-1b ili LPS-a iz Gram-negativnih bakterija. Ovi mehanizmi su ključni za inflamatorne odgovore, poput onih koji se javljaju u sepsi, jer podstiču klasičnu aktivaciju makrofaga, ali i potencijalnih endogenih ćelija prekursora. Povećane koncentracije IL-1b, TNF- α u plazmi septičnih pacijenata potvrđuje aktivaciju inflamatornog odgovora. Pored njihovog lučenja, signalizacija preko NF- κ B puta može izazvati brojne varijacije u genskoj ekspresiji, u zavisnosti od interakcije sa drugim signalnim putevima prisutnim u ćelijama. Ovi procesi dovode do specifičnih odgovora endotelnih ćelija i makrofaga u različitim tkivima, određujući njihovu interakciju sa subpopulacijama limfocita tokom sepse. Rekrutovani bazofili mogu lučiti histamin koji stimuliše endotelne ćelije povećanjem intracelularnog nivoa kalcijuma. Kao posljedica toga dolazi do stvaranja prostaciklina i NO-a što uzrokuje vazodilataciju, koja se u tkivu manifestuje hiperemijom, smanjenjem perifernog otpora i smanjenjem arterijskog pritiska karakterističnog za šok. Kontrakcije aktinskih niti u endotelnim ćelijama dovode do stvaranja praznine između susjednih ćelija, što je najizraženije u postkapilarnim venulama. Kao posljedica toga, povećava se permeabilnost endotela i dolazi do oslobađanja proteina i ćelija u međućelijski prostor, koji postaje žarište djelovanja rekrutovanih leukocita tokom akutne upale. Wiebel-Paladijeva tjelešca oslobađaju svoj sadržaj egzocitozom, dok se adhezioni molekuli, poput P-selektina ugrađuje u ćelijsku membranu endotelnih ćelija. Zajedno sa faktorom aktivacije trombocita, oni omogućavaju adheziju krvnih ćelija za endotel. Pod utjecajem hemokina CXCL8 neutrofili prvi izlaze iz kapilara u međućelijski prostor što predstavlja ključni preduslov za početno stvaranje ćelijskog (tvrdog) inflamatornog infiltrata. Za razliku od ovog procesa, mekani otoci nastaju uglavnom zbog povećanog nakupljanja vode i fibrinogena u međućelijskom prostoru. Dodatno oslobađanje proteina i ćelija iz kapilara podržano je inflamatornim supstancama koje luče cirkulišući leukociti i leukociti tokom procesa leukodijapedeze. Kako inflamatorni proces napreduje, endotelne ćelije postepeno mijenjaju svoj fenotip, prilagođavajući ekspresiju adhezijskih molekula i hemokina. Ove promjene utiču na permeabilnost endotela i omogućavaju regrutaciju različitih podtipova leukocita u inflamatorni infiltrat. U tkivima se neutrofilni infiltrat postepeno zamjenjuje monocitima, što je posredovano molekulima adhezije VCAM1 i ICAM, kao i ekspresijom proinflamatornog hemokina CCL2. CCL2 privlači proinflamatorno aktivirane monocite koji izražavaju CC receptor (CCR2) na mjestu upale. Pored toga, aktivirani endotel u upali luči velike količine IL-

15, koji je ključan za regrutaciju i aktivaciju NK ćelija. NK ćelije učestvuju u nespecifičnom upalnom odgovoru, koji prethodi specifičnoj imunološkoj reakciji. U sepsi, endotelne ćelije izražavaju CCL3, koji privlači širok spektar imunoloških ćelija, uključujući aktivirane pomoćne T limfocite, NK ćelije, monocite i dendritične ćelije, putem receptora CCR1 i CCR5. Kada nespecifična inflamatorna reakcija ne uspije da eliminiše uzrok upale, inflamatorni proces prelazi u specifični imunološki odgovor posredovan T i B limfocitima. Endotelne ćelije tada preuzimaju ulogu antigen-prezentujućih ćelija, omogućavajući aktivaciju efektorskih T limfocita. One podstiču njihovu proliferaciju, produkciju citokina i memorisanje imunološkog odgovora na određeni antigen. Ekspresija MHC I i MHC II molekula na endotelnim ćelijama malih krvnih sudova omogućava prenos prvog signala aktivacije T limfocita. Istovremeno, kostimulatorni molekuli CD80 i CD86 na endotelnim ćelijama učestvuju u isporuci drugog aktivacionog signala za T limfocite putem njihovog receptora CD28. Dodatni kostimulatorni putevi, posredovani molekulima CD2, 4-1BB, OX40 i ICOS, doprinose razvoju memorijskih T limfocita. Aktivirane endotelne ćelije, pod uticajem lipopolisaharida (LPS), luče proinflamatorne citokine i hemokine, što predstavlja treći signal za T limfocite i usmjerava imuni odgovor prema proinflamatornim procesima u sepsi. Regrutovane subpopulacije leukocita na mjestu upale funkcionalno sazrijevaju, postaju citotoksične i proizvode dodatne proinflamatorne citokine, umnožavajući se u skladu sa inflamatornim odgovorom. Njihova uloga je eliminacija inficiranih ćelija i patogena iz vanćelijskog prostora. U slučajevima kada inflamacija postane hronična, endotelne ćelije učestvuju u procesu angiogeneze i formiranju novih krvnih sudova, omogućavajući kontinuiranu aktivnost imunoloških ćelija. U određenim situacijama, ove ćelije mogu organizovati tercijarne limfne organe, pružajući dugoročnu imunološku odbranu. Tokom intenzivnog inflamatornog odgovora, aktivacija NF-kB signalnog puta ima dvostruku ulogu. Umjeren nivo stimulacije podstiče ćelijsku proliferaciju i funkcionalnu adaptaciju, dok jaka aktivacija dovodi do ćelijske smrti putem apoptoze, zavisno od kaspaza. U sepsi, inflamatorni citokini kao što su TNF- α , IL-1 i IFN γ , koje luče aktivirani leukociti, doprinose oštećenju i smrti endotelnih ćelija. Njihov gubitak narušava normalnu funkciju endotela, podstičući prokoagulantno stanje i formiranje ugrušaka, čime se ograničava inflamatorno područje. Kada se inflamatorni stimulus eliminiše, započinje proces smirivanja inflamacije i regeneracije tkiva. Klasični znaci inflamacije - bol, toplota, crvenilo, otok i gubitak funkcije - rezultat su međusobne interakcije endotelnih, imunoloških i tkivnih ćelija na mestu inflamacije [141].

Slika 8. prikazuje interakciju imunoloških, koagulacionih i metaboličkih promjena u sepsi.



Slika 8. Interakcija imunoloških, koagulacionih i metaboličkih promjena u sepsi (Izvor: Bermejo-Martin, J.F.; Martín-Fernandez, M.; López-Mestanza, C.; Duque, P.; Almansa, R. Shared Features of Endothelial Dysfunction between Sepsis and Its Preceding Risk Factors (Aging and Chronic Disease). *J. Clin. Med.* 2018, 7, 400. <https://doi.org/10.3390/jcm7110400>)

1.4.2 Von Willebrandov faktor (vWF)

VWF je plazmatski glikoprotein najpoznatiji po svojoj ključnoj ulozi u hemostazi, gdje služi kao molekularni most između trombocita i subendotelnih struktura nakon vaskularne povrede. Pored toga, vWF funkcionira i kao pratilac faktora koagulacije VIII. U patološkim stanjima, vWF je prepoznat kao faktor rizika za arterijsku i vensku trombozu, djelujući kao molekularni učesnik koji direktno podstiče trombotske procese. U posljednje vrijeme, sve je prisutniji koncept imunotromboze prema kojem inflamatorne ćelije učestvuju u trombotičkim procesima. Istovremeno, sve više izvještaja ukazuje da hemostatski proteini i ćelije (kao što su trombociti) igraju značajnu ulogu u inflamatornim odgovorima, naglašavajući složenu vezu između hemostaze i upale. Veza između vWF-a i upale prepoznata je još prije savremenih istraživanja. U početku se vWF smatrao samo markerom upale u različitim patološkim stanjima, budući da se brzo oslobađa iz aktiviranog endotela. Kasnije je otkrivena njegova složenija uloga u inflamatornim procesima, prije svega kroz regulaciju biogeneze specifičnih endotelih organela - Weibel-Paladeovih tijela, koja sadrže ključne inflamatorne molekule poput P-

selektina. Konačno, direktna veza između vWF-a i upale postala je očigledna kada je otkriveno da vWF može regrutovati leukocite, bilo direktnim vezivanjem, bilo posredstvom trombocita, koji zatim privlače leukocite [142].

1.4.3 Vitamin B₁₂ (kobalamin)

Vitamin B₁₂ je vitamin rastvorljiv u vodi i dobija iz životinjskih izvora. Tri četvrtine vitamina B₁₂ cirkuliše u krvi vezano za haptokorin, a jedna četvrtina je vezana za transkobalamin da bi formirala holotranskobalamin (HTC), fiziološki aktivan oblik B₁₂ je odgovoran za njegov transport i ćelijski unos. U ćeliji je vitamin B₁₂ potreban za dva enzima: metilmanolil-CoA mutaza koja pretvara metilmalonsku kiselinu (MMA) u sukcinil-CoA, posrednika u Krebsovom ciklusu i metionin sintazu koja pretvara homocistein u metionin, koja je neophodna za sintezu proteina i koja je neophodna za sintezu proteina metilacija DNK, histona i drugih regulatora ekspresije gena. Ukupni vitamin B₁₂, HTC, kao i MMA i Hcy, koji se akumuliraju u slučaju nedostatka B₁₂, mogu se izmjeriti u krvi kako bi se odredio status vitamina B₁₂, iako Hcy ima nisku specifičnost za ovu upotrebu jer drugi uzroci mogu dovesti do njegove akumulacije. Nedostatak vitamina B₁₂ je čest i javlja se kod 6% osoba ispod 60 godina i 20% kod osoba starijih od 60 godina. Marginalni ili subklinički nedostatak je još češći, ali je njegov klinički značaj još uvijek nepoznat. Dok je nedostatak vitamina B₁₂ uglavnom poznat po svojim hematološkim i neurološkim manifestacijama, neki podaci ukazuju na vezu između vitamina B₁₂ i inflamacije. Pokazalo se da kobalamin djeluje kao antioksidans, potiskuje proizvodnju citokina i reguliše aktivnost NO sintaze. Studija je također pokazala da nedostatak vitamina B₁₂ povećava nivo TNF- α i snižava epidermalni faktor rasta u cerebrospinalnoj tečnosti i serumu. Kod pacijenata koji pate od sepse, pokazalo se da su metaboliti metionina i Hcy (oba vezana za vitamin B₁₂) abnormalni. Istraživanja na životinjskim modelima pokazala su da su niske koncentracije vitamina B₁₂ povezane s povećanom osjetljivošću na infekciju. Međutim, podaci iz studija na ljudima i dalje su ograničeni. Nedostatak vitamina B₁₂ danas je relevantan i može se povećati u bliskoj budućnosti zbog vegetarijanstva, veganstva, upotrebe inhibitora protonske pumpe ili metformina, gastrointestinalne hirurgije i ukupnog starenja stanovništva. Povezanost između niskog nivoa vitamina B₁₂ i pojave sepse mogla bi dovesti do intervencija koje imaju za cilj povećanje nivoa vitamina B₁₂ čime se smanjuje rizik od sepse kod pacijenata sa infekcijom [130].

1.4.4 Homocistein (Hcy)

Biomarkeri igraju ključnu ulogu u prognostičkoj stratifikaciji pacijenata sa sepsom. Među različitim potencijalnim biomarkerima, Hcy je izazvao posebno interesovanje zbog svog učešća u oksidativnom stresu, endotelnoj disfunkciji i inflamaciji tj. ključnim mehanizmima u patofiziologiji sepse. Hcy je aminokiselina koja sadrži sumpor i nastaje tokom metabolizma metionina. Povišeni nivoi Hcy u plazmi, poznati kao hiperhomocisteinemija (HHcy), povezani su sa brojnim patološkim stanjima, uključujući kardiovaskularne bolesti, neurodegenerativne poremećaje i andrenalnu insuficijenciju. Metabolizam Hcy uključuje remetilaciju u metionin ili transsulfuraciju u cistein, a oba zahtijevaju vitamine B₆, B₁₂ i folat kao kofaktore. Nekoliko mehanizama može objasniti vezu između visokih nivoa Hcy i povećanog mortaliteta kod kritično oboljelih pacijenata, uključujući i one sa sepsom, kao što je pojačan oksidativni stres, oštećena funkcija endotela, promocija protrombotičkog stanja i pogoršan inflamatorni odgovor. Procjena Hcy kao prognostičkog markera u sepsi posebno je relevantna s obzirom na potencijalne etničke razlike u metabolizmu Hcy. Faktori, kao što su navike u ishrani i genetski polimorfizmi, mogu uticati na vrijednosti Hcy u plazmi. Na primer, pripadnici azijske populacije, posebno u Kini, često imaju niže nivoe folata u plazmi u poređenju sa zapadnim populacijama, što može uticati na metabolizam Hcy. Pored toga, genetske varijacije, kao što su one u genu metilentetrahidrofolat reduktaze (MTHFR), igraju značajnu ulogu u metabolizmu Hcy [143]. Studije koje su ispitivale povezanost između nivoa Hcy u plazmi i kratkoročnog mortaliteta kod pacijenata sa sepsom dale su nedosljedne rezultate. Dok neke studije izvještavaju o povezanosti između visokog nivoa Hcy u plazmi i povećanog rizika od smrtnosti druge ne [143,144].

2. RADNE HIPOTEZE

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

1. Klirens laktata je bolji prediktor smrtnosti kod septičnih bolesnika u odnosu na qSOFA i SOFA skor.
2. Nivo interleukina-6 (IL-6), faktora nekroze tumora alfa (TNF- α) i prokalcitonina (PCT) značajno je viši kod pacijenata sa Gram-negativnom (GN) sepsom nego kod pacijenata sa Gram-pozitivnom (GP) sepsom.
3. Nivoi IL-6, TNF- α i PCT u sepsi značajno su viši kod pacijenata sa nepovoljnim ishodom liječenja.
4. Vrijednosti parametara oksidativnog stresa (TBARS, NO₂⁻, H₂O₂, O₂⁻, SOD, CAT i GSH) i endotelne disfunkcije (vWF) se ne razlikuju između pacijenata sa GP i GN sepsom i nemaju prognostički značaj u odnosu na smrtni ishod.
5. Vrijednosti homocisteina (Hcy) i vitamina B₁₂ se ne razlikuju između GP i GN septičnih pacijenata i nemaju prognostički značaj u odnosu na smrtni ishod.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Istraživanje je imalo sledeće ciljeve:

1. Utvrditi značaj praćenja klirensa laktata i njegovog odnosa sa scoring sistemima (qSOFA i SOFA skor) u smislu prediktivnog značaja na krajnji ishod liječenja.
2. Utvrditi da li se na osnovu profila ranih citokina IL-6 i TNF- α mogu razlikovati (Gram-negativne) GN i (Gram-pozitivne) GP sepse te, procijeniti njihov značaj na krajnji ishod liječenja.
3. Utvrditi da li se na osnovu profila prokalcitonina (PCT) mogu razlikovati GN i GP sepse i procijeniti njegov značaj na krajnji ishod liječenja.
4. Utvrditi da li se na osnovu profila parametara oksidativnog stresa (TBARS, NO $_2^-$, H $_2$ O $_2$, O $_2^-$, SOD, CAT i GSH), endotelne disfunkcije (vWF), homocisteina (Hcy) i vitamina B $_{12}$ mogu razlikovati GN i GP sepse, te procijeniti njihov uticaj na krajnji ishod liječenja.

4. ISPITANICI I METODE RADA

4.1 DIZAJN STUDIJE

4.1.1 Konceptija studije

Studija je dizajnirana kao prospektivna, opservaciono-kohortna i obuhvatala je 87 ispitanika kojima je dijagnostikovana sepsa prema kriterijumima Trećeg internacionalnog konsenzusa za sepsu i septički šok (*Sepsis 3*). Istraživanje je sprovedeno u Klinici za anesteziju i intenzivno liječenje i Klinici intenzivne medicine za nehirurške grane u Univerzitetskom kliničkom centru Republike Srpske (UKC RS) u periodu od jula 2021. do februara 2023. godine. Prije početka istraživanja prikupljena je dokumentacija: saglasnost Generalnog direktora UKC RS, saglasnost Etičkog odbora UKC RS Srpske (potvrda br. 01-19-181-2\21 od 20.04.2021.), saglasnost Etičkog odbora za istraživanje na ljudima i biološkom materijalu Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci (uvjerenje br. 18\4.12\21 od 01.02.2021. godine). Svakom ispitaniku (pacijentu) ili njegovoj porodici (ukoliko bolesnik nije bio u mogućnosti da svjesno učestvuje u studiji zbog zdravstvenog stanja), objašnjena je svrha istraživanja, proces dijagnostičke obrade i specifičnosti učešća ispitanika u istraživanju. Saglasnost za učešće u studiji pacijent ili njegova porodica su ovjerali svojim potpisom nakon čitanja teksta Informacije za ispitanika/zakonskog zastupnika i informisani pristanak. Pored prikupljanja demografskih i kliničkih podataka ispitanika, rađena je biohemijska analiza krvi i to neposredno po postavljanju dijagnoze sepsa (prvo uzorkovanje - T_1) i 24 sata nakon prvog uzorkovanja (drugo uzorkovanje - T_2). Određivani su biomarkeri inflamacije, oksidativnog stresa i endotelne disfunkcije, vWF, homocistein, vitamin B₁₂, urađena mikrobiološka analiza uzoraka, a mjerene su i vrijednosti laktata u krvi. Za svakih od navedenih parametara izračunata je delta (Δ) vrijednost, definisana kao razlika između vrijednosti izmjerenih prvog i drugog dana uzorkovanja. Pozitivna Δ vrijednost označava pad koncentracije analiziranog parametra, dok negativna Δ vrijednost ukazuje na njegov porast. Dobijeni rezultati su statistički upoređeni između različitih grupa ispitanika koje su formirane na osnovu: nalaza mikrobioloških kultura [GP grupa, GN grupa; GP/GN grupa i grupa NC (negativan nalaz kulture ili negativna kultura)], krajnjeg ishoda liječenja (preživjeli/umrli), grupa sepsa i septički šok. Dobijeni rezultati su statistički upoređivani, takođe i između grupa formiranih na prema izvoru infekcije: hemokultura (HK), urinokultura (UK), bronhoalveolarni lavat (BAL), bris rane/apsces, višestruki izvor infekcije i sterilno kao i između grupa formiranih prema mikrobiološkom nalazu hemokulture (GP, GN, NC). Posebna pažnja je posvećena analizi vrijednosti laktata i

klirensa laktata, koji su poređeni između preživjelih i umrlih ispitanika, a radi procjene njihovog prognostičkog značaja vezano za krajnji ishod liječenja. Zdravstveno stanje ispitanika je praćeno tokom 28 dana i to od trenutka uključivanja ispitanika u studiju, nakon čega je evidentiran krajnji ishod lečenja (preživljavanje ili smrtni ishod). Veličina uzorka, u našem istraživanju, određena je na osnovu incidencije sepse u UKC RS, dok su evropski podaci iz izvještaja *Antimicrobial Resistance Surveillance in Europe 2023* (European Centre for Disease Prevention and Control i SZO, 2023) korišćeni kao okvir za širu analizu učestalosti sepse (145)

4.1.2 Kriterijumi za uključenje

Ispitanici koji su učestvovali u istraživanju morali su zadovoljiti kriterijume za uključenje u istraživanje koji su bili jednaki za sve ispitanike

- Pacijenti koji imaju potpisan informisani pristanak (lični ili od strane zakonskog zastupnika);
- Punoljetni pacijenti oba pola hospitalizovani u Klinici za anesteziju i intenzivno liječenje i Klinici intenzivne medicine za nehirurške grane UKC RS kojima je postavljena dijagnoza sepse.

4.1.3 Kriterijumi za neuključenje

Kriterijumi u istraživanje bili su zajednički za sve ispitanike:

- Pacijenti mlađi od 18 godina;
- Trudnoća i dojenje;
- Prisustvo opekotina ili dijagnoza pankreatitisa;
- Prisustvo sistemskih inflamatornih bolesti i autoimunih bolesti;
- Terapija imunosupresivima u trenutku uključivanja;
- Pacijenti koji primaju derivate krvi;
- Seropozitivnost na SARS-CoV-2 (PCR test), bez obzira na prisustvo simptoma (simptomatska klinička slika ili asimptomatski).

4.1.4 Kriterijumi za isključenje

Pacijenti koji su prvobitno uključeni u studiju, ali su ispunili neki od sledećih kriterijuma, naknadno su isključeni:

- Pacijenti kod kojih se SOFA skor se nije povećao za ≥ 2 boda u roku od 72 sata od prijema;

- Prisustvo pozitivne hemokulture bez ispunjavanja dijagnostičkih kriterijuma za sepsu;
- Razvoj infekcije SARS-CoV-2 tokom trajanja istraživanja ili naknadno utvrđena seropozitivnost putem PCR testa.

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 i pol) i simptomi bolesti. Za svakog ispitanika su registrovani: 28 - dnevni ishod liječenja, dužina liječenja u JIL-u, dužina trajanja mehaničke ventilacije u danima i potreba za vazoaktivnim lijekovima (broj pacijenata). U tabelama 5. i 6. dat je prikaz parametara koji su analizirani kroz ovo istraživanje.

Tabela 5. Biohemijske analize krvi kod ispitanika rađene pri postavljanja dijagnoze sepe i nakon 24 sata

Biohemijski nalaz	Skraćenica	Mjerna jedinica	Referentna vrijednost
Broj leukocita	WBC	(1e9)/L	3,4 – 9,7
Broj trombocita	PLT	(1e9)/L	158 – 424
Bilirubin ukupni	-	μmol/L	5 - 21
Urea	-	mmol/L	2,8 - 7,2
Kreatinin	-	μmol/L	59 - 104
C-reaktivni protein	CRP	mg/L	0-5
Laktati	-	mmol/L	0,5 – 1,6
Prokalcitonin	PCT	< 0,5 nizak rizik za sepsu > 2,0 visok rizik za sepsu	ng/mL
Inteleukin 6	IL-6	pg/mL	0 - 200
Tumor nekroza faktor α	TNF- α	pg/mL	15,63 - 1000
Kreatinin	-	μmol/L	45 – 84
Von Willebrandov faktor	vWF	%	50 – 172
Homocistein	Hcy	μmol/L	5,08 – 15,39
Vitamin B ₁₂	B ₁₂ vit.	pg/mL	211- 911

Tabela 6. Markeri oksidativnog stresa mjereni pri postavljanju dijagnoze sepse i nakon 24 sata

Marker	Skraćenica	Mjerna jedinica
Antioksidansi		
Katalaza	CAT	U/g Hgb*10 ³
Superoksid-dizmutaza	SOD	U/g Hgb*10 ³
Redukovani glutation	GSH	nmol/ml RBC
Prooksidansi		
Reaktivne supstance tiobarbitume kiseline	TBARS	μmol/ml plazme
Vodonik-peroksid	H ₂ O ₂	nmol/ml plazme
Superoksid-anjon-radikal	O ₂ ⁻	nmol/ml plazme
Nitriti	NO ₂ ⁻	nmol/ml plazme

U okviru istraživanja mjeren je von Willebrandov faktor (vWF) ali nije statistički obrađivan jer su sve izmjerene vrijednosti bile unutar referentnog raspona, što nije ukazivalo na značajne varijacije koje bi zahtijevale daljnju analizu. Inicijalno su planirane analize azotnog monoksida (NO) i sumporvodonika (H₂S) ali nisu mogle biti izvedene iz tehničkih razloga.

4.3 UZORKOVANJE, PRIPREMA, SKLADIŠTENJE I ANALIZA UZORAKA

Nakon dobijanja pismenog informisanog pristanka u studiju su uključeni ispitanici kojima je na osnovu kriterija Trećeg internacionalnog konsenzusa za sepsu i septički šok postavljena dijagnoza sepsa. Hospitalizovanom ispitaniku koji pokazuje znakove infekcija po prijemu u JIL, određivan je qSOFA skor. Parametri infekcije su: povišena tjelesna temperatura, vidljiv izvor infekcije, otežano disanje, hipotenzija i konfuznost.

qSOFA kriterijumi:

- Respiratorna frekvencija $\geq 22/\text{min}$;
- Sistolni krvni pritisak $\leq 100 \text{ mmHg}$;

- Promijenjen mentalni status ($GCS \leq 13$) [21].

Ispitanicima čiji je qSOFA skor iznosio 2 ili 3 boda, određivan je SOFA skor svakodnevno u naredna 72 sata hospitalizacije u JIL-u, i to do postavljanja dijagnoze sepsa. SOFA (*engl. Sequential Organ Failure Assessment*) skor se koristi za procjenu disfunkcije organa, nezavisno od uzroka, i uključuje šest organskih sistema: respiratorni, koagulacioni, jetreni, kardiovaskularni, bubrežni i centralni nervni sistem. Svaki sistem se boduje od 0 do 4 boda, a ukupni rezultat može biti od 0 do 24 (Tabela 7.). Veći SOFA skor znači viši stepen organske disfunkcije. Prema Sepsis 3 kriterijumima, ukoliko se SOFA skor povećao za ≥ 2 boda, a sve je vezano za organsku disfunkciju uzrokovano infekcijom, ispitaniku se postavlja dijagnoza sepsa. Početni SOFA skor iznosi 0 bodova kod pacijenata bez predhodne organske disfunkcije. Svi skorovi su izračunati korišćenjem elektronske aplikacije MDCalc (www.mdcalc.com).

Parametri uključeni u izračun SOFA skora:

1. Respiratorni sistem - odnos parcijalnog pritiska kiseonika (PaO_2) i inspiratorne frakcije kiseonika (FiO_2) izražen kao PaO_2/FiO_2 (kPa). Uzorci arterijske krvi (1 mL) analizirani pomoću uređaja *Siemens RAPIDPoint 500* i *GEM Premier 5000*.
2. Koagulacija - broj trombocita (vrijednosti $\geq 150 \times 10^9/L$ boduju se sa 0 bodova).
3. Jetrena funkcija – ukupni bilirubin u krvi (vrijednosti ≤ 20 mmol/L boduju se sa 0 bodova).
4. Bubrežna funkcija - koncentracija kreatinina (vrijednosti ≤ 110 mmol/L boduju se sa 0 bodova).
5. Kardiovaskularni sistem - procjena na osnovu MAP-a; vrijednosti ≥ 70 mmHg boduju se sa 0 bodova.
6. Neurološka funkcija - procjena preko GCS. Ukupan GCS iznosi od 3 (teška koma) do 15 (puna svijest). Vrijednost GCS = 15 boduje se sa 0 bodova u SOFA skoru.

Sistem izračunavanja SOFA skora je prikazan u Tabeli 7.

Tabela 7. SOFA skor (numerički bodovni sistem za procjenu organske disfunkcije)

Sistem	Skor				
	0	1	2	3	4
Respiratorni					
PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg ili kPa)	≥ 400 (53,3)	< 400 (53,3)	< 300 (40)	< 200 (26,7) uz respiratornu potporu	< 100 (13,3) uz respiratornu potporu
Hemostaza					
Trombociti x 10 ⁹ / L	≥ 150	<150	< 100	< 50	< 20
Jetra					
Bilirubin (μmol/L)	20	20 -32	33 – 101	102 – 204	204
Kardiovaskularni					
Srednji arterijski pritisak (MAP)	MAP ≥ 70 mmHg	MAP < 70 mmHg	Dopamin < 5 ili dobutamin (bilo koja doza) (μg/kg/min.)	Dopamin 5,1-15 ili efedrin ≤ 0,1 i norepinefrin ≤ 0,1 (μg/kg/min.)	Dopamin >15 ili epinefrin >0,1 ili norepinefrin > 0,1(μg/kg/min.)
CNS					
Glazgov koma skor (GCS)	15	13 - 14	10 – 12	6 – 9	< 6
Bubreg					
Kreatinin (μmol/L)	109	110 - 170	171 – 299	300 – 440	440

MAP – Mean Arterial Pressure.

SOFA skor je računat svakodnevno od prijema pacijenta u JIL, sve do momenta dijagnostikovanja sepsa. Kada je akutna promjena u skor u sekvencijalnom zatajenju organa (SOFA) ≥ 2 boda rezultat infekcije, dijagnostikovana je sepsa. Unutar ispitivane populacije, ispitanici koji ispunjavaju kriterijume za septički šok dodatno su analizirani. Kriterijumi za septički šok uključuju potrebu za vazopresorima da bi se postigao srednji arterijski pritisak MAP ≥ 65 mmHg i vrijednost laktata u krvi iznad > 2 mmol/L (> 18 mg/dL) u odsustvu hipovolemije. Pored inicijalne rehidracije u skladu sa smjernicama SSC 2016., kod svih ispitanika su mjerene koncentracije laktata u krvi i to u pet vremenskih tačaka: T0 - odmah nakon postavljanja dijagnoze sepsa, T3 - tri sata nakon dijagnoze, T6 - šest sati nakon sijagnoze, T12 - dvanaest sati nakon dijagnoze i T24 - dvadeset četiri sata nakon dijagnoze. Iz krvi je

uzorkovan 1ml krvi, a gasne analize rađene su na aparatima Simens RAPIDPoint 500 aparatu i GEM Premier 5000. Na osnovu dobijenih vrijednosti laktata, izračunat je klirens laktata koji je definisan je kao procentualna promjene nivoa laktata u odnosu na vrijednost laktata u trenutku postavljanja dijagnoze sepse (T₀). Klirens laktata izračunat je pomoću sljedeće formule:

$$\text{Klirens laktata (\%)} = ([\text{Laktat } T_0 - \text{Laktat } T_1]) / \text{Laktat } T_0 \times 100 \text{ [146]}$$

Laktat T₀ - početni laktat; Laktat T₁ – naknadni laktat

Na ovaj način, analizirani su klirensi laktata u četiri vremenska intervala:

1. Klirens laktata u periodu od 0h do 3h
2. Klirens laktata u periodu od 0h do 6h
3. Klirens laktata u periodu od 0h do 12h
4. Klirens laktata u periodu od 0h do 24h

Analizom klirensa laktata u navedenim vremenskim intervalima procjenjivan je njihov značaj na krajnji ishod liječenja sa ciljem identifikacije vremenske tačke koja najbolje korelira sa preživljavanjem ili smrtnim ishodom. Ispitanici su praćeni tokom 28 dana od momenta uključivanja u studiju. Na kraju tog perioda evidentiran je ishod liječenja (preživljavanje ili smrt). Takođe je analizirana povezanost između: klirensa laktata, qSOFA skora, SOFA skora i ishoda liječenja, s ciljem utvrđivanja koji od navedenih parametara ima najbolji prediktivni značaj na krajnji ishod liječenja septičnih ispitanika.

4.4 ISPITIVANJE PARAMETARA INFLAMACIJE, OKSIDATIVNOG STRESA I ENDOTELNE DISFUNKCIJE

Ukoliko su bili zadovoljeni kriterijumi za uključenje u istraživanje, pristupljeno je uzorkovanju venskih uzoraka krvi iz centralnog venskog katetera ili neke od perifernih vena uz

poštovanje svih principa asepse. Za jedno uzorkovanje bilo je potrebno 27 mL krvi, raspoređenih u odgovarajuće epruvete (epruvete *Vacurette* sa crvenim, ljubičastim i plavim čepom), pri čemu je prvo uzorkovanje krvi vršeno odmah nakon dijagnostikovanja sepse (T_1), a drugo uzorkovanje je vršeno nakon 24h (T_2). Epruvete sa crvenim čepom (volumen od 6 mL) sadržavale su supstancu *serum clot activator* - *CAT* koji ubrzava zgrušavanje krvi i služe za biohemijske analize koje se dobijaju iz seruma (za potrebe istraživanja bilo je potrebno 6 epruveta). Epruvete sa plavim čepom (volumen 2 mL) sadrže antikoagulans 3,2% natrijum-citrat i služe za biohemijske analize koagulacije hemostaze (za ovo istraživanje su bile potrebne 6 epruveta). Epruvete sa ljubičastim čepom (volumen od 3 mL) sadrže antikoagulans K2EDTA i služe za biohemijsku analizu krvne slike (za potrebe istraživanja su bile potrebne 2 epruvete). Svaka epruveta je propisno označena (ime i prezime ispitanika, godina rođenja, datum uzorkovanja, odjel) i sa odgovarajućom uputnicom transportovana u Zavod za laboratorijsku dijagnostiku za dalju pripremu i analizu. Dio analiza je urađen po preuzimanju uzoraka krvi u Zavodu za laboratorijsku dijagnostiku, dok je drugi dio analiza urađen naknadno u Centru za biomedicinska istraživanja Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci i Zavodu za mikrobiologiju UKC RS. Analize krvne slike urađene su 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 Abbott, USA. Predhodno su uzorci krvi iz epruveta sa crvenim čepom (ukupno 2 epruvete) i plavim čepom (4 epruvete) centrifugirani tokom 10 minuta na 3000 obrtaja, čime su odvojeni serum i krvne ćelije. Za analize koje su se naknadno radile pripremljeni su uzorci: odvojena plazma i lizat eritrocita spakovani su u pojedinačne plastične ependorfice sa 250 - 500 μ L uzorka po pojedinačnoj mikrotubi. Po završenoj pripremi, sve mikrotube su propisno obilježene, šifrirane i transportovane u Zavod za mikrobiologiju, gdje su čuvane do nabavke kitova za analizu i ispunjenja tehničkih uslova. Odložene su u posebne plastične kutije sa poklopcem i unutrašnjim separatorima, čuvane su u frižideru Thermo Scientific na temperaturi -80°C . Za analize parametara oksidativnog stresa su korišteni uzorci plazme (za određivanje TBARS, O_2 , H_2O_2 i NO_2^-) i lizati eritrocita (za određivanje CAT, SOD i GSH). Sve analize koje se tiču oksidativnog stresa određivane su spektrofotometrijski Ushimadzu UV-1800 spektrofotometrom. Indeks lipidne peroksidacije, TBARS, određivan je upotrebom 1% rastvora tiobarbiturne kiseline u 0,05M NaOH i mjeren je na talasnoj dužini 530 nm. Za određivanje H_2O_2 korištena je Pick i Keisari metoda koja se zasniva na 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 redukcijском reakcijom sa nitro

tetrazolijevim plavim (*Nitro Blue Tetrazolium- NTB*) i TRIS puferom pri talasnoj dužini od 530 nm. NO_2^- se mjerio Griess-ovom metodom indirektno preko svojih produkata nitrita, pri čemu se koristila 30% sulfosalicilna kiselina i Griess-ov reagens i mjerenje se obavilo na talasnoj dužini 550 nm. Aktivnosti antioksidanasa (CAT, SOD i GSH) je određivana uz pomoć Beutlerove metode. Za određivanje CAT aktivnosti korišten je vodeni rastvor H_2O_2 , katalaza pufer i uzorak lizata eritrocita, pri čemu se mjerenje obavilo na talasnoj dužini 240 nm. Aktivnost SOD mjerena je nakon mješanja lizata eritrocita sa karbonatnim puferom, potom i epinefrinom, pri čemu se mjerenje obavilo na talasnoj dužini 470 nm. Određivanje koncentracije redukovanog GSH zasniva se na reakciji oksidacije sa 5,5-ditio-bis-6,2-nitrobenzoevom kiselinom, pri čemu se mjerenje obavilo na talasnoj dužini 412 nm. U Zavodu za kliničku mikrobiologiju UKC RS, izvršena su ispitivanja parametra humanog TNF alfa i IL-6 iz seruma ispitanika. Za analizu TNF- α korišten je Human TNFa (Tumor Necrosis Factor Alpha) ELISA Kit; ELK Biotechnology CO., Ltd. Denver CO 80202, USA, a za analizu IL-6 (interleukin 6) ELISA kit; ELK Biotechnology CO., Ltd. Denver CO 80202, SAD. Analize izvršene su na ELISA čitaču BioTek 800 TS, Keysight Technologies, USA.

4.4.1 Izvođenje testa Human TNF- α

Princip testa

Princip testa koji se primenjuje u ovom kompletu je sendvič imunoesej. Mikrotitarska ploča koja se nalazi u ovom kompletu je prethodno obložena antitijelom specifičnim za humani TNFa. Standardi ili uzorci se dodaju u odgovarajuće jažice na mikrotitarskoj ploči, a zatim sa biotin-konjugiranim antitijelom specifičnim za humani TNF- α detektuju nastali imuni kompleksi. Zatim, avidin konjugiran sa peroksidazom hrena (HRP) se dodaje u svaku mikroploču i inkubira. Nakon dodavanja TMB rastvora supstrata, samo one jažice koje sadrže humani TNF- α , biotin-konjugirano antitijelo i enzim-konjugirani avidin će pokazati promjenu boje. Reakcija enzima-supstrata se završava dodavanjem rastvora sumporne kiseline i promjena boje se mjeri spektrofotometrijski na talasnoj dužini od $450\text{nm} \pm 10\text{nm}$. Koncentracija humanog TNF- α u uzorcima se zatim određuje upoređivanjem OD uzoraka sa standardnom krivom.

Prikupljanje i skladištenje uzoraka

Od pacijenta su uzeti uzorci u crvenu epruvetu za odvajanje seruma (ukupno 2 epruvete). Nakon koagulacije 2 sata na sobnoj temperaturi ili preko noći na 4°C, centrifugirani su na $1000 \times g$ u trajanju od 20 minuta. Odmah su odvojeni i pohranjeni u mikrotbama na -80°C za kasniju upotrebu. Izbjegavani su ponovljeni ciklusi zamrzavanja i odmrzavanja.

Postupak testa

Svi testovi su urađeni prema uputama proizvođača ELK Biotechnology CO., Ltd. Denver CO 80202, US. Ukratko, prvo su obilježene jažice za razblažene standarde (7 vrijednosti), slijepu probu i uzorke. Nakon dodavanja 100 µL uzoraka u odgovarajućim jažicama, ploča je pokrivena i inkubirana 80 minuta na 37°C. Nakon toga, tečnost je aspirirana i vršeno je ispiranje sa odgovarajućim rastvorom 3 puta. Nakon posljednjeg ispiranja, aspiriran je preostali rastvor za ispiranje. Zatim je dodano 100 µL radnog rastvora biotinilovanog antitijela u svaku jažicu, ploča pokrivena i inkubirana 50 minuta na 37°C. Zatim je ponovljen proces ispiranja tri puta. Dodano je 100 µL radnog rastvora streptavidin-HRP u svaku jažicu, pokrivena ploča i inkubirana 50 minuta na 37°C. Nakon završetka, sadržaj je aspiriran, te ponovljen proces ispiranja 5 puta. Zatim je dodano 90 µL TMB rastvora supstrata u svaki uzorak. Inkubirano je 20 minuta na 37°C u mraku. Tečnost je postala plava dodavanjem TMB rastvora supstrata. Zatim je dodano 50 µL stop reagensa u svaku jažicu. Nakon toga je izvedeno mjerenje na 450 nm.

Izračunavanje rezultata

Izračunata je srednja vrijednost dvostrukog mjerenja za svaki standard, kontrolu i uzorke. Nakon toga konstruisana je standardna kriva sa očitanjem humanog TNF- α x-osi i apsorbancije na y-osi i izračunata vrijednost koncentracije u serumu.

4.4.2 Izvođenje testa IL-6 (interleukin 6) ELISA

Princip testa

Princip testa koji se primenjuje u ovom kitu je sendvič imunoesej. Mikrotitarska ploča koja se nalazi u ovom kompletu je prethodno obložena antitijelom specifičnim za humani IL-6. Standardi ili uzorci se dodaju u odgovarajuće jažice na mikrotitarskoj ploči, a zatim sa biotin-konjugiranim antitijelom specifičnim za humani IL-6 detektuju nastali imuni kompleksi. Zatim, avidin konjugiran sa peroksidazom hrena (HRP) se dodaje u svaku mikroploču i inkubira.

Nakon dodavanja TMB rastvora supstrata, samo one jažice koje sadrže humani IL-6, biotin-konjugirano antitijelo i enzim-konjugirani avidin će pokazati promjenu boje. Reakcija enzima-supstrata se završava dodavanjem rastvora sumporne kiseline i promjena boje se mjeri spektrofotometrijski na talasnoj dužini od $450\text{nm} \pm 10\text{nm}$. Koncentracija humanog IL-6 u uzorcima se zatim određuje upoređivanjem OD uzoraka sa standardnom krivom.

Prikupljanje i skladištenje uzoraka

Od pacijenta su uzeti uzorci u epruvetu za odvajanje seruma. Nakon koagulacije 2 sata na sobnoj temperaturi ili preko noći na 4°C , centrifugirani su na $1000 \times g$ u trajanju od 20 minuta. Odmah su odvojeni i pohranjeni u mikrotubama na -80°C za kasniju upotrebu. Izbjegavani su ponovljeni ciklusi zamrzavanja i odmrzavanja.

Postupak testa

Svi testovi su urađeni prema uputama proizvođača ELK Biotechnology CO., Ltd. Denver CO 80202, USA. Ukratko, prvo su obilježene jažice za razblažene standarde (7 vrijednosti), slijepu probu i uzorke. Nakon dodavanja $100\ \mu\text{L}$ uzoraka u odgovarajućim jažicama, ploča je pokrivena i inkubirana 80 minuta na 37°C . Nakon toga, tečnost je aspirirana i vršeno je ispiranje sa odgovarajućim rastvorom 3 puta. Nakon poslednjeg ispiranja, aspiriran je preostali rastvor za ispiranje. Zatim je dodano $100\ \mu\text{L}$ radnog rastvora biotinilovanog antitijela u svaku jažicu, ploča pokrivena i inkubirana 50 minuta na 37°C . Zatim je ponovljen proces ispiranja tri puta. Dodano je $100\ \mu\text{L}$ radnog rastvora streptavidin-HRP u svaku jažicu, pokrivena ploča i inkubirana 50 minuta na 37°C . Nakon završetka, sadržaj je aspiriran, te ponovljen proces ispiranja 5 puta. Zatim je dodano $90\ \mu\text{L}$ TMB rastvora supstrata u svaki uzorak. Inkubirano je 20 minuta na 37°C u mraku. Tečnost je postala plava dodavanjem TMB rastvora supstrata. Zatim je dodano $50\ \mu\text{L}$ stop reagensa u svaku jažicu. Nakon toga je izvedeno mjerenje na $450\ \text{nm}$.

Izračunavanje rezultata

Izračunata je srednja vijednost dvostrukog mjerenja za svaki standard, kontrolu i uzorke. Nakon toga konstruisana je standardna kriva sa očitanjem humanog IL-6 na x-osi i apsorbancije na y-osi i izračunata vrijednost koncentracije u serumu.

4.5 MIKROBIOLOŠKA ANALIZA BIOLOŠKIH UZORAKA KOD ISPITANIKA SA DOKAZANOM SEPSOM

Ispitanicima po postavljanju dijagnoze sepsa uzorkovana je krv za hemokulturu i urin za urinokulturu. Uzorkovan je BAL kod intubiranih i traheotomiranih pacijenata. Takođe su uzorkovani brisevi kože i mekih tkiva kao i punktati sumnjivi na infekciju. Postupak uzorkovanja ponovljen je nakon 24 sata, a mikrobiološka analiza uzoraka rađena je u Zavodu za mikrobiologiju UKC RS. Na osnovu dobijenih mikrobioloških rezultata analizirane su četiri grupe septičnih ispitanika: I grupa - Gram-pozitivni (GP) ispitanici kojima je mikrobiološkom analizom izolovana jedna ili više GP bakterija, II grupa - Gram-negativni (GN) ispitanici kojima je mikrobiološkom analizom izolovana jedna ili više GN bakterija, III grupa - polimikrobna grupa su ispitanici kojima su mikrobiološkom analizom izolovane i GP i GN bakterije (GP/GN) i IV grupa - negativna kultura (NC) su ispitanici kod kojih nisu izolovani patogeni mikroorganizmi. Za hemokulturu korišten je set bočica za aerobnu i anaerobnu kultivaciju (bioMérieux Durham, NC) za inkubaciju u automatskom analizatoru za hemokulture VIRTUO BACT/ ALERT (bioMérieux Durham, NC). Uzeti volumen krvi po bočici iznosio je oko 8mL, a inkubacija je izvršena u skladu sa dobrom laboratorijskom praksom, prema preporukama proizvođača. Kateterizacija uretre se izvodila uvođenjem katetera kroz uretralni kanal nakon čišćenja područja kako bi se izbjegla kontaminacija i uzorkovano je 15 - 30 mL urina. Urin ne treba držati na sobnoj temperaturi duže od 30 minuta i treba ga čuvati na temperaturi frižidera ako se ne pošalje na kulturu unutar 30 minuta od uzimanja uzorka. Mikrobiološka analiza uzoraka iz respiratornog trakta uključivala je bronhoalveolarno ispiranje (BAL). Uzorak BAL je uzet kroz optički bronhoskop. Fiziološki rastvor u količini od 50 - 100 mL je ubrizgan kroz sistem i odmah aspiriran kako bi se mikroorganizmi iz donjih disajnih puteva zadržali u aspiriranom sadržaju. Ukoliko se klasični BAL nije mogao dobiti, radila se procedura mini-BAL-a (sa manje od 50 mL fiziološke otopine). Odabir mjesta uzorkovanja vršio se na osnovu lokacije infiltrata na RTG ili CT snimku. Uzorak BAL-a sadržavao je najmanje 5 - 10 mL aspiriranog sadržaja. Svi uzorci su transportovani u kratkom periodu (manje od 30 min.) u mikrobiološki laboratorij kako bi se očuvala morfologija leukocita u uzorcima. Iz svakog uzorka je izvršena kvantitativna kultura uz bojenje po Gramu. Rast $>10^4$ jedinica koje formiraju kolonije/mL smatra se pozitivnim za uzorke dobijene bronhoalveolarnim ispiranjem. Tokom uzimanja uzoraka poštovani se svi principi antiseptice. Na osnovu pristiglih mikrobioloških nalaza, utvrđen je izvor infekcije, a ispitanici su prema identifikovanom izvoru svrstani u šest grupa: I grupa - ispitanici kod kojih je infekcija potekla iz krvotoka (HK), II grupa - ispitanici sa urinarnim traktom kao izvorom infekcije (UK), III grupa - ispitanici kod kojih je respiratorni

sistem identifikovan kao izvor infekcije (na osnovu nalaza BAL), IV grupa - ispitanici kojima je izvor infekcije koža, meka tkiva i punktati (grupa - bris rane/apscesa), V grupa - ispitanici koji imaju dva ili više izvora infekcije i VI grupa - ispitanici kojima je dijagnostikovana sepsa ali konkretan izvor infekcije nije mikrobiološki potvrđen (grupa - sterilno). Pored toga, na osnovu rezultata hemokulture, ispitanici su svrstani u tri dodatne grupe: GP grupa - ispitanici kod kojih je hemokultura pokazala prisustvo Gram-pozitivnih bakterija (GP grupa), GN grupa - ispitanici kod kojih je hemokultura pokazala prisustvo Gram-negativnih bakterija (GN grupa) i grupa NC - ispitanici kojima je hemokultura bila sterilna tj. nije bilo mikrobiološkog rasta.

4.6 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) Statistics 18. 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 apsolutni 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 U, Kruskal-Wallis test, ANOVA test, Tukey HSD test i Z test, dok je upoređivanje kategoričkih varijabli izvršeno upotrebom χ^2 testa ili Fisher-exact testa. Za parametrijske testove je korištena Pearsonova korelacija. Rađena je i multivarijantna logistička regresiona analiza. Statistički značajna razlika je procjenjivana na minimalnom nivou od $p < 0,05$. Dobijeni rezultati istraživanja su prikazani numerički, tabelarno i grafički

5. REZULTATI

5.1 Prosječne vrijednosti ispitivanih parametara u odnosu na ukupan broj ispitanika

U Tabeli 8. prikazane su prosječne vrijednosti demografskih i kliničkih karakteristika ispitanika

Tabela 8. Prosječne vrijednosti demografskih i kliničkih karakteristika ispitanika

Parametar	Ukupno (n = 87)
Dob; (median, IQR)	62,31 ±14,69
Ženski pol; n (%)	34 (39,1%)
Muški pol; n (%)	53 (60,9%)
Preživjeli; n (%)	49 (56,3%)
Umrli; n (%)	38 (43,7%)
Sepsa; n (%)	37 (42,5%)
Septički šok; n (%)	50 (57,5%)
qSOFA 2; n (%)	62 (71,3%)
qSOFA 3; n (%)	25 (28,7%)
SOFA skor; (median, IQR)	6 (4)
GP; n (%)	30 (34,5%)
GN; n (%)	35 (40,2%)
GP/GN; n (%)	3 (3,4%)
NC; n (%)	19 (21,8%)
Inotrop; n (%)	40 (45,98%)
MV; (broj dana ±SD)	7,84 ±8,89
Dužina hospitalizacije u JIL; (dani ±SD)	12,97 ±14,83

SD - standardna devijacija; SOFA - Sequential Organ Failure Assessment; qSOFA - Quick Sequential Organ Failure Assessment; GP - Gram pozitivne; GN - Gram negativne; NC – kultura negativna; MV - mehanička ventilacija; n - broj ispitanika.

U Tabeli 9. prikazane su prosječne vrijednosti inflamatornih biomarkera ispitanika praćenih u 2 vremenska intervala.

Tabela 9. Prosječne vrijednosti inflamatornih biomarkera (praćenih u dva vremenska intervala) i laktata (praćenih u pet vremenskih intervala)

Parametar	Ukupno (n = 87)
WBC T ₁ (median, IQR)	15,01 (10,92)
WBC T ₂ (median, IQR)	14,82 (9,33)
CRP T ₁ (median, IQR)	182,4 (135,55)
CRP T ₂ (median, IQR)	163,95 (131,15)
PCT T ₁ (median, IQR)	4 (12,64)
PCT T ₂ (median, IQR)	3,56 (10,17)
T0 (median, IQR)	1,69 (1,73)
T3 (median, IQR)	1,73 (1,78)
T6 (median, IQR)	1,7 (1,17)
T12 (median, IQR)	1,45 (1,1)
T24 (median, IQR)	1,2 (1,19)
TNF- α T ₁ (median, IQR)	33,04 (37,93)
TNF- α T ₂ (median, IQR)	49,5 (43,44)
IL-6 T ₁ (median, IQR)	27,9 (35,64)
IL-6 T ₂ (median, IQR)	60,29 (44,14)

IQR - interquartile range; T₁ - vrijeme prvog uzorkovanja; T₂ - vrijeme drugog uzorkovanja; CRP - C reaktivni protein; PCT - prokalcitonin; T0 - laktat u trenutku dijagnostifikovanja sepse; T1 - laktat 3h nakon dijagnostifikovanja sepse; T6 - laktat 6h nakon dijagnostifikovanja sepse; T12 - laktat 12h nakon dijagnostifikovanja sepse; T24 - laktat 24h nakon dijagnostifikovanja sepse; TNF- α - faktor tumorske nekroze alfa; IL-6 - Interleukin 6; n - broj ispitanika.

U Tabeli 10. prikazane su prosječne vrijednosti parametara oksidativnog stresa (TBARS; H₂O₂; NO₂⁻; O₂⁻; SOD; GSH; CAT), vitamina B₁₂ i Hcy praćenih u 2 vremenska intervala kod svih ispitanika uključenih studiju.

Tabela 10. Prosječne vrijednosti parametara oksidativnog stresa, vitamina B₁₂ i Hcy

Parametar	Ukupno (n = 87)
TBARS T ₁ (median, IQR)	2,58 (0,15)
TBARS T ₂ (median, IQR)	2,69 (0,18)
H ₂ O ₂ T ₁ (X ±SD)	3,12 ±0,19
H ₂ O ₂ T ₂ (X ±SD)	3,15 ±0,19
NO ₂ ⁻ T ₁ (X ±SD)	3,15 ±0,22
NO ₂ ⁻ T ₂ (median, IQR)	3,22 (0,21)
O ₂ ⁻ T ₁ (median, IQR)	8,24 (1,07)
O ₂ ⁻ T ₂ (median, IQR)	8,24 (0,99)
SOD T ₁ (median, IQR)	24,42 (16,28)
SOD T ₂ (median, IQR)	24,42 (8,14)
GSH T ₁ (median, IQR)	74847,46 (5262,71)
GSH T ₂ (median, IQR)	72248,59 (3898,30)
CAT T ₁ (X ±SD)	5,19 ±2,06
CAT T ₂ (median, IQR)	4,12 (3,25)
Vitamin B ₁₂ T ₁ (median, IQR)	927 (1352)
Vitamin B ₁₂ T ₂ (median, IQR)	783,50 (1189)
Hcy T ₁ (median, IQR)	9,05 (5,45)
Hcy T ₂ (median, IQR)	9,85 (6,77)

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T₁ - vrijeme prvog uzorkovanja; T₂ - vrijeme drugog uzorkovanja; TBARS - reaktivne supstance tiobarbiturne kiseline; H₂O₂ - vodonik peroksid; O₂⁻ superoksid anjon radikal; NO₂⁻ - nitriti; SOD - superoksid dizmutaza; CAT - katalaza; GSH - glutation; Hcy - homocistein; n - broj ispitanika.

U okviru istraživanja mjerene su vrijednosti von Willebrandovog faktora (vWF) ali statistička obrada podataka nije sprovedena jer su sve izmjerene vrijednosti bile unutar referentnog raspona. Ovo ukazuje na odsustvo značajnih varijacija koje bi zahtijevale dalju analizu.

U Tabeli 11. prikazane su prosječne vrijednosti razlika (Δ) posmatranih parametara za sljedeće parametre: CRP; PCT; B₁₂ vitamin; Hcy; TNF- α ; IL-6; TBARS; H₂O₂; NO₂⁻; O₂⁻; SOD; GSH; CAT i klirens laktata izračunati za četiri vremenska intervala (0h - 3h; 0h - 6h; 0h - 12h; 0h - 24h), kod svih ispitanika uključenih u studiju. Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 11. Prosječne vrijednosti razlika (Δ) posmatranih parametara i klirensa laktata

Parametar	Ukupno (n = 87)
Δ WBC (median, IQR)	-0,25 (5,11)
Δ CRP (X $\pm$ SD)	16,77 $\pm$ 79,41
Δ PCT (median, IQR)	0,09 (3,33)
Δ B ₁₂ vitamin (median, IQR)	6,50 (367,25)
Δ Hcy (median, IQR)	0,10 (4,70)
Δ TNF- α (median, IQR)	-10,69 (43,86)
Δ IL-6 (median, IQR)	-24,24 (46,61)
Δ TBARS (X $\pm$ SD)	-0,14 $\pm$ 0,24
Δ H ₂ O ₂ (X $\pm$ SD)	-0,02 $\pm$ 0,27
Δ NO ₂ ⁻ (X $\pm$ SD)	-0,08 $\pm$ 0,25
Δ O ₂ ⁻ (median, IQR)	0 (1,65)
Δ SOD (median, IQR)	0 (8,14)
Δ GSH (median, IQR)	2598,87 (5912,44)
Δ CAT (X $\pm$ SD)	0,78 $\pm$ 2,62
Klirens laktata 0h - 3h (%)	-14,58%
Klirens laktata 0h - 6h (%)	-6,45%
Klirens laktata 0h - 12h (%)	-2,77%
Klirens laktata 0h - 24h (%)	7,95%

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; CRP- C reaktivni protein; PCT - prokalcitonin; Hcy - homocistein, IL-6 - Interleukin 6; TNF- α - faktor tumorske nekroze alfa; Δ (delta) - razlika prvog u odnosu na drugi dan; n - broj ispitanika.

5.2 Rezultati ispitivanih parametara u odnosu na tip infekcije (GP; GN; GP/GN; NC)

U Tabeli 12. prikazani su demografski podaci (pol, dob), klinički podaci (skoring sistemi; upotreba inotropnih lijekova; prisustvo septičkog šoka; trajanje mehaničke ventilacije u danima i trajanje hospitalizacije u JIL u danima) i krajnji ishodi liječenja koji su poređeni sa grupama ispitanika, klasifikovanih prema tipu infekcije.

Tabela 12. Demografske, kliničke karakteristike i krajnji ishodi liječenja u odnosu na tip infekcije

Parametar	GP grupa (n = 30; 34,5%)	GN grupa (n = 35; 40,2%)	GP/GN grupa (n = 3; 3,4%)	NC grupa (n = 19; 21,8%)	p	Svi pacijenti (n = 87; 100%)
Dob (median, IQR)	63 (22)	69 (18)	61	67,50 (26)	0,383	66 (19)
Pol						
Muškarci (N/%)	18 (60%)	19 (54,3%)	2 (66,7%)	14 (73,7%)	0,571	53 (60,9%)
Žene (N/%)	12 (40%)	16 (45,7%)	1 (33,3%)	5 (26,3%)		34 (39,1%)
Skor						
SOFA (median, IQR)	6 (4,5)	6 (3)	10	7,5 (2,5)	0,801	87 (100%)
qSOFA 2 boda (N/%)	20 (66,7%)	25 (71,4%)	3 (100%)	14 (73,7%)	0,823	62 (71,3%)
qSOFA 3 boda (N/%)	10 (34,5%)	10 (28,6%)	0 (0%)	5 (26,3%)		25 (28,7%)
Kliničke karakteristike						
Inotrop (N/%)	13 (32,5%)	18 (45%)	0	9 (22,5%)	0,381	40 (45,97%)
Sepički šok (N/%)	18 (36%)	19 (38%)	1 (2%)	12 (24%)	0,001	50 (57,5%)
MV trajanje (±SD)	7,79 ±7,40	9,53 ±11,28	2,33 ±1,53	5,31 ±4,5	0,132	71 (81,6%)
Dani hospitalizaciju JIL-u (±SD)	10,87 ±10,44	16,51 ±16,61	27,67 ±42,74	7,47 ±7,21	0,045	87 (100%)
Ishod (28 dana)						
Preživjeli (N/%)	18 (36,8%)	18 (48,6%)	1 (33,3%)	12 (63,2%)	0,697	49 (56,3%)
Umrli (N/%)	12 (63,2%)	17 (51,4%)	2 (66,7%)	7 (36,8%)		38 (43,7%)

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; SOFA - Sequential Organ Failure Assessment; qSOFA - Quick Sequential Organ Failure Assessment; JIL - jedinica intenzivnog liječenja; MV - mehanička ventilacija; GP - Gram pozitivni; GN - Gram negativni; NC - negativna kultura; n - broj ispitanika.

Poredeći demografske i kliničke karakteristike, kao i krajnje ishode liječenja sa različitim grupama septičnih ispitanika, klasifikovanih prema tipu infekcije, potvrđena je statistički značajna razlika u učestalosti septičkog šoka i tajanju hospitalizacije u JIL-u. Rezultati Z testa su pokazali da je postojala statistički značajna razlika u učestalosti septičkog šoka poredeći GP/GN grupu sa grupom NC ($p = 0,001$), GP/GN grupu sa GP grupom ($p = 0,000$) i GP/GN grupu sa GN grupom ($p = 0,000$). Najmanje ispitanika iz GP/GN grupe pripadalo je grupi septički šok. Na osnovu Kruskal-Wallis H testa došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna razlika, poredeći srednje vrijednosti trajanja hospitalizacije u JIL-u sa različitim grupama septičnih ispitanika, klasifikovanih prema tipu infekcije ($p = 0,045$). Dodatna analiza, provedena korišćenjem Mann-Whitney U testa, pokazala je da GN grupa statistički značajno

više dana provodila u JIL u poređenju sa NC grupu septičnih pacijenata ($U = 179,000$; $p = 0,005$). Poredeći ostale parametre sa grupama septičnih ispitanika koji su klasifikovani prema tipu infekcije, nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 12.).

U Tabeli 13. prikazane su vrijednosti inflamatornih parametara u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) i to za sljedeće parametre: WBC; CRP; PCT; IL-6; TNF- α . Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 13. Vrijednosti inflamatornih parametara u odnosu na tip infekcije

Parametar	GP grupa (n = 30)	GN grupa (n = 35)	GP/GN grupa (n = 3)	NC grupa (n = 19)	p
WBC T_1 (median, IQR)	15,01 (11,14)	14,43 (12,09)	15,80	14,37 (15,34)	0,908
WBC T_2 (median, IQR)	15,63 (7,86)	14,97 (12,48)	14,98	11,08 (9,5)	0,651
Δ WBC (median, IQR)	0,11 (4,65)	-1,08 (5,61)	0,82	0,77 (8,39)	0,663
CRP T_1 (median, IQR)	192,10 (209,46)	177,50 (154,40)	165,30	204,55 (138,50)	0,888
CRP T_2 (median, IQR)	167 (183,80)	164,10 (131,20)	190,70	130,25 (147,03)	0,276
Δ CRP ($\pm$ SD)	16,29 $\pm$ 99,41	6,72 $\pm$ 56,40	-23,76 $\pm$ 60,32	43,87 $\pm$ 81,28	0,333
PCT T_1 (median, IQR)	3 (11,02)	5,72 (12,39)	0,86	9,83 (32,49)	0,211
PCT T_2 (median, IQR)	3 (7,51)	3,24 (8,54)	5,34	9,32 (26,99)	0,566
Δ PCT (median, IQR)	0,13 (4,66)	0,13 (0,13)	-0,11	0,94 (15,98)	0,304
IL-6 T_1 (median, IQR)	20,96 (26,10)	48,94 (40,10)	22,87	32,92 (34,43)	0,010
IL-6 T_2 (median, IQR)	51,50 (37,22)	71,91 (47,59)	39,81	57,47 (42,26)	0,040
Δ IL-6 (median, IQR)	-26,59 (35,67)	-25,16 (58,95)	-15,08	-19,34 (51,21)	0,875
TNF- α T_1 (median, IQR)	41,47 (41)	35,84 (38,94)	26,46	25,61 (30,32)	0,136
TNF- α T_2 (median, IQR)	53,27 (41,93)	42,83 (38,83)	19,63	41,41 (53,85)	0,418
Δ TNF- α (median, IQR)	-10,81 (43,33)	-11,96 (45,93)	-13,20	-6,30 (36,86)	0,976

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T_1 -vrijeme prvog uzorkovanja; T_2 - vrijeme drugog uzorkovanja; WBC - broj leukocita; CRP - C reaktivni protein; PCT - prokalcitonin; IL-6 - Interleukin 6; TNF- α - faktor tumorske nekroze alfa; Δ (delta) - razlika prvog u odnosu na drugi dan; GP - Gram pozitivne, GN - Gram negativne; NC - negativna kultura; n - broj ispitanika.

Poredeći vrijednosti inflamatornih parametra sa različitim grupama septičnih ispitanika, klasifikovanih prema tipu infekcije, potvrđena je statistički značajna razlika u vrijednosti IL-6 prvog i drugog dana (T_1 i T_2). Na osnovu Kruskal-Wallis testa došlo se do zaključka da je

postojala statistički značajna razlika u medijani IL-6 prvog dana (Hi-kvadrat test, $\chi^2 = 11,303$, $p = 0,010$). Takođe, korištenjem Kruskal-Wallis testa došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna razlika u medijani IL-6 drugog dana (Hi-kvadrat test, $\chi^2 = 8,318$, $p = 0,040$). Dodatnom analizom, Mann-Whitney U testom, došlo se do zaključka da su se grupe GP i GN statistički značajno razlikovale u vrijednosti IL-6 prvog dana ($U = 282,00$; $p = 0,001$) i u vrijednosti IL-6 drugog dana ($U = 336,50$; $p = 0,013$). Najviša vrijednosti medijane IL-6 zabilježene su u GN grupi septičnih ispitanika u vremenskim tačkama T_1 i T_2 . Za ostale posmatrane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 13.).

U Tabeli 14. prikazane su vrijednosti Hcy i vitamina B_{12} u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: SOD; CAT; GSH. Ukoliko se bilježio pozitivan predznak za Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu

Tabela 14. Vrijednosti Hcy i vitamina B_{12} u odnosu na tip infekcije

Parametar	GP grupa (n = 30)	GN grupa (n = 35)	GP/GN grupa (n = 3)	NC grupa (n = 19)	p
Hcy T_1 (median, IQR)	7,95 (6,20)	9,60 (6,70)	10	8,60 (5,88)	0,124
Hcy T_2 (median, IQR)	7,90 (6,15)	10,70 (9,50)	7	11,25 (4,48)	0,193
Δ Hcy (median, IQR)	0,20 (3,45)	0 (4,50)	2,70	-0,05 (5,20)	0,285
Vitamin B_{12} T_1 (median, IQR)	874,50 (1417)	865 (2534)	1035	963,50 (776)	0,610
Vitamin B_{12} T_2 (median, IQR)	630,50 (1461)	848 (1259)	563	667,50 (1036)	0,702
ΔB_{12} vitamin (median, IQR)	0 (655)	30 (655)	-28	0 (271)	0,233

IQR - interquartile range; T_1 - vrijeme prvog uzorkovanja; T_2 - vrijeme drugog uzorkovanja; Hcy - homocistein; Δ (delta) - razlika prvog u odnosu na drugi dan; n - broj ispitanika; GP - Gram pozitivne, GN - Gram negativne; NC - negativna kultura; n - broj ispitanika.

Poredeći medijalne vrijednosti Hcy i vitamina B_{12} sa različitim grupama septičnih ispitanika, klasifikovanih prema tipu infekcije, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 14.). Takođe, mjerene su vrijednosti vWF ali, statistička obrada podataka nije sprovedena jer su sve izmjerene vrijednosti bile unutar referentnog opsega, što ukazuje na odsustvo značajnih varijacija koje bi zahtijevale dalju analizu.

U Tabeli 15. prikazane su vrijednosti prooksidanata u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: TBARS; NO_2^- ; H_2O_2 ;

O₂⁻ Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 15. Biohemijske vrijednosti prooksidanata u odnosu na tip infekcije

Parametar	GP grupa (n = 30)	GN grupa (n = 35)	GP/GN grupa (n = 3)	NC grupa (n = 19)	p
TBARS T ₁ (median, IQR)	2,58 (0,14)	2,59 (0,15)	2,52	2,59 (0,21)	0,816
TBARS T ₂ (median, IQR)	2,64 (0,13)	2,68 (0,19)	2,74	2,71 (0,17)	0,621
Δ TBARS ($\pm$ SD)	-0,13 $\pm$ 0,19	-0,16 $\pm$ 0,24	-0,28 $\pm$ 0,13	-0,13 $\pm$ 0,32	0,683
NO ₂ ⁻ T ₁ ($\pm$ SD)	3,15 $\pm$ 0,22	3,12 $\pm$ 0,21	3,14 $\pm$ 0,23	3,21 $\pm$ 0,24	0,552
NO ₂ ⁻ T ₂ (median, IQR)	3,24 (0,25)	3,26 (0,13)	3,22	3,19 (0,20)	0,609
Δ NO ₂ ⁻ ($\pm$ SD)	-0,1 $\pm$ 0,23	-0,12 $\pm$ 0,25	-0,09 $\pm$ 0,38	0,02 $\pm$ 0,25	0,314
H ₂ O ₂ T ₁ ($\pm$ SD)	3,15 $\pm$ 0,18	3,12 $\pm$ 0,19	3 $\pm$ 0,12	3,11 $\pm$ 0,21	0,671
H ₂ O ₂ T ₂ ($\pm$ SD)	3,20 $\pm$ 0,19	3,12 $\pm$ 0,15	3,18 $\pm$ 0,23	3,13 $\pm$ 0,22	0,304
Δ H ₂ O ₂ ($\pm$ SD)	-0,05 $\pm$ 0,25	0 $\pm$ 0,26	-0,17 $\pm$ 0,27	-0,01 $\pm$ 0,34	0,628
O ₂ ⁻ T ₁ (median, IQR)	8,57 (0,99)	8,24 (0,99)	8,9	8,07 (1,32)	0,065
O ₂ ⁻ T ₂ (median, IQR)	8,24 (1,32)	8,24 (1,65)	7,91	8,24 (1,16)	0,413
Δ O ₂ ⁻ (median, IQR)	0 (1,81)	-0,33 (2,64)	1,32	-0,82 (2,56)	0,025

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T₁ - vrijeme prvog uzorkovanja; T₂ - vrijeme drugog uzorkovanja; TBARS - reaktivne supstance tiobarbiturne kiseline; H₂O₂ - vodonik peroksid; O₂⁻ - superoksid anjon radikal; NO₂⁻ - nitriti; Δ - delta (razlika prvog u odnosu na drugi dan); GP - Gram pozitivne; GN - Gram negativne; NC - kultura negativna; n - broj ispitanika.

Poredeći vrijednosti prooksidanata sa različitim grupama septičnih ispitanika, klasifikovanih na osnovu tipa infekcije, potvrđena je statistički značajna razlika u vrijednostima Δ O₂⁻. Na osnovu Kruskal-Wallis testa došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna razlika u medijani Δ O₂⁻ (Hi-kvadrat test, $\chi^2 = 9,327$, $p = 0,025$). GN grupa ispitanika imala je značajnije veći porast nivoa O₂⁻ u odnosu na GP grupu (Mann-Whitney U = 364,500; $p = 0,034$) i GP/GN grupu (Mann-Whitney U = 13,500; $p = 0,029$) ispitanika. Grupa ispitanika NC imala je statistički značajno veći potast nivoa O₂⁻ u odnosu na GP grupu (Mann-Whitney U = 186,000; $p = 0,041$) i GP/GN grupu (Mann-Whitney U = 8,000; $p = 0,048$). Grupe ispitanika GP i GP/GN se nisu statistički značajno razlikovale u medijani Δ O₂⁻ (Mann-Whitney U = 25,000; $p = 0,207$). Za ostale posmatrane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 15.).

U Tabeli 16. prikazane su vrijednosti antioksidanasa u dva vremena (T₁ i T₂), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: SOD; CAT; GSH. Ukoliko se bilježio pozitivan predznak za Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 16. Biohemijske vrijednosti antioksidanasa u odnosu na tip infekcije

Parametar	GP grupa (n = 30)	GN grupa (n = 35)	GP/GN grupa (n = 3)	NC grupa (n = 19)	p
SOD T ₁ (median, IQR)	24,42 (10,18)	24,42 (8,14)	24,42	24,42 (10,18)	0,241
SOD T ₂ (median, IQR)	16,28 (8,14)	24,42 (8,14)	16,28	16,28 (8,14)	0,555
Δ SOD (median, IQR)	0 (8,14)	8,14 (8,14)	8,14	0 (12,21)	0,674
CAT T ₁ ($\pm$ SD)	4,7 $\pm$ 2,11	5,59 $\pm$ 2,02	4,91 $\pm$ 2,09	5,30 $\pm$ 2,04	0,382
CAT T ₂ (median, IQR)	4,5 (3,63)	3,75 (3)	4,25	4 (3,06)	0,663
Δ CAT ($\pm$ SD)	-0,16 $\pm$ 2,92	1,49 $\pm$ 2,49	0,25 $\pm$ 1,39	1,06 $\pm$ 2,13	0,078
GSH T ₁ (median, IQR)	74977,4 (5457,63)	75367,23 (6237,29)	74847,46	73807,91 (4353,11)	0,432
GSH T ₂ (median, IQR)	72508,47 (3313,55)	71988,70 (4158,19)	69909,60	73288,14 (3248,58)	0,404
Δ GSH (median, IQR)	2728,81 (7146,89)	2598,87 (5457,63)	4158,20	1039,54 (7471,75)	0,267

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T₁ - vrijeme prvog uzorkovanja; T₂ - vrijeme drugog uzorkovanja; SOD – superoksid dizmutaza; CAT - katalaza; GSH - glutation; Δ - delta (razlika prvog u odnosu na drugi dan); GP - Gram pozitivne; GN - Gram negativne; NC - negativna kultura); n - broj ispitanika.

Poredeći vrijednosti antioksidanasa sa različitim grupama septičnih ispitanika, klasifikovanih na osnovu tipa infekcije, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 16.).

5.3 Rezultati ispitivanih parametara u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja

U Tabeli 17. prikazani su demografski podaci (pol, dob) i klinički podaci (skoring sistemi; upotreba inotropnih lijekova; prisustvo septičkog šoka; trajanje mehaničke ventilacije u danima i trajanje hospitalizacije u JIL-u u danima).

Tabela 17. Demografske i kliničke karakteristike u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja

Parametar	Preživjeli (n = 49; 56,3%)	Umrli (n = 38; 43,7%)	p	Svi pacijenti (n = 87; 100%)
Dob (median, IQR)	58,50 (24)	69,50 (13)	0,001	87 (100%)
Pol				
Muškarci (N/%)	31 (58,5%)	22 (41,5%)	0,662	53 (60,9%)
Žene (N/%)	18 (53%)	16 (47%)		34 (39,1%)
Skor				
SOFA (median, IQR)	6 (4)	8 (3)	0,035	87 (100%)
qSOFA 2 boda (N/%)	39 (79,6%)	23 (60,5%)	0,060	62 (100%)
qSOFA 3 boda (N/%)	10 (20,4%)	15 (39,5%)		25 (100%)
Kliničke karakteristike				
Inotrop (N/%)	19 (47,5%)	21 (52,5%)	0,126	40 (45,97%)
MV trajanje (±SD)	8,43 ±11,14	7,18 ±5,46	0,177	71 (81,6%)
Dani hospitalizaciju u JIL-u (±SD)	14,49 ±18,2	11,03 ±8,65	0,959	87 (100%)

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; SOFA - Sequential Organ Failure Assessment; qSOFA-Quick Sequential Organ Failure Assessment; JIL - jedinica intenzivnog liječenja; MV - mehanička ventilacija; n - broj ispitanika.

Poredeći demografske i kliničke karakteristike u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja potvrđena je statistički značajna razlika u starosnoj dobi i SOFA skoru. Na osnovu rezultata Mann-Whitney U testa došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna razlika u medijani starosne dobi, tako da je veća starosna dob zabilježena u grupi umrlih u poređenju sa grupom preživjelih ispitanika ($U = 533,500$; $p = 0,001$). Rezultati Mann-Whitney U testa pokazali su statistički značajnu razliku u medijani SOFA skora tako da je viša vrijednost SOFA skora zabilježena u grupe umrlih u poređenju sa grupom preživjelih ispitanika ($U = 686,000$; $p = 0,035$). Za ostale posmatrane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 17.).

U Tabeli 18. prikazane su vrijednosti inflamatornih parametara u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: leukociti; CRP; PCT; IL-6; TNF- α . Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 18. Vrijednosti inflamatornih parametara u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja

Parametar	Preživjeli (n = 49)	Umrli (n = 38)	p
WBC T ₁ (median, IQR)	13,14 (10,67)	17,63 (11,66)	0,081
WBC T ₂ (median, IQR)	13,55 (8,81)	15,96 (15,38)	0,111
ΔWBC (median, IQR)	0,61 (5,34)	-1,39 (6,39)	0,119
CRP T ₁ (median, IQR)	182,4 (157,18)	185,85 (127,40)	0,817
CRP T ₂ (median, IQR)	160,4 (130,60)	171,45 (89,33)	0,464
ΔCRP (±SD)	25,45 ±93,59	5,81 ±56,03	0,225
PCT T ₁ (median, IQR)	5,86 (17,64)	3,2 (11,43)	0,302
PCT T ₂ (median, IQR)	3,14 (10,24)	4,04 (9,68)	0,426
ΔPCT (median, IQR)	0,21 (5,74)	0,03 (1,59)	0,080
IL-6 T ₁ (median, IQR)	24,27 (35,53)	34,19 (39,28)	0,087
IL-6 T ₂ (median, IQR)	50,43 (42,58)	70,48 (39,78)	0,003
ΔIL-6 (median, IQR)	-14,45 (41,13)	-32,57 (38,44)	0,012
TNF-α T ₁ (median, IQR)	34,36 (37,66)	31,12 (34,88)	0,741
TNF-α T ₂ (median, IQR)	45,62 (40,35)	55,83 (50,54)	0,079
ΔTNF-α (median, IQR)	-9,41 (31,02)	-14,32 (51,75)	0,259

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T₁ - vrijeme prvog uzorkovanja; T₂ - vrijeme drugog uzorkovanja; WBC - broj leukocita; CRP - C reaktivni protein; PCT - prokalcitonin; IL-6 - Interleukin 6; TNF-α - faktor tumorske nekroze alfa; Δ (delta) – razlika prvog u odnosu na drugi dan; n - broj ispitanika.

Poređenjem vrijednosti inflamatornih parametara u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja, potvrđena je statistički značajna razlika u vrijednostima IL-6 u 2. danu (T₂) i razlici IL-6 prvi u odnosu na drugi dan (ΔIL-6). Na osnovu Mann-Whitney U testa došlo se do zaključka da je medijana vrijednost IL-6 u drugom danu bila statistički značajno veća u grupi umrlih u odnosu na grupu preživjelih (U= 588,000; p = 0,003). Takođe, potvrđen je statički značajno veći porast nivoa IL-6 (ΔIL-6) u grupi umrlih u poređenju sa grupom preživjelih ispitanika (U = 636,500; p = 0,012). Za ostale analizirane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 18.).

U Tabeli 19. prikazane su vrijednosti Hcy i vitamina B₁₂ u dva vremena (T₁ i T₂), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena. Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 19. Vrijednosti Hcy i vitamina B₁₂ u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja

Parametar	Preživjeli (n = 49)	Umrli (n = 38)	p
Hcy T ₁ (median, IQR)	9,55 (5,38)	8,8 (6,58)	0,716
Hcy T ₂ (median, IQR)	10,05 (5,85)	9,85 (9,90)	0,807
Δ Hcy (median, IQR)	0,1 (3,73)	0,1 (5,83)	0,304
Vitamin B ₁₂ T ₁ (median, IQR)	777,5 (1112)	1077,5 (1481)	0,378
Vitamin B ₁₂ T ₂ (median, IQR)	670,5 (1011)	975,5 (1407)	0,251
Δ B ₁₂ vitamin (median, IQR)	9 (350,50)	6,5 (436,75)	0,891

IQR - interquartile range; T₁ - vrijeme prvog uzorkovanja; T₂ - vrijeme drugog uzorkovanja; Hcy - homocistein; Δ (delta) - razlika prvog u odnosu na drugi dan; n - broj ispitanika.

Poređenjem vrijednosti Hcy i vitamina B₁₂ u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 19.). Takođe, mjerene su vrijednosti vWF, ali statistička obrada podataka nije sprovedena, jer su sve izmjerene vrijednosti bile unutar referentnog opsega, što ukazuje na odsustvo značajnih varijacija koje bi zahtijevale dalju analizu.

U Tabeli 20. prikazane su vrijednosti prooksidanata u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: TBARS; NO_2^- ; H_2O_2 ; O_2^- . Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 20. Biohemijske vrijednosti prooksidanata u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja

Parametar	Preživjeli (n = 49)	Umrli (n = 38)	p
TBARS T_1 (median, IQR)	2,59 (0,14)	2,56 (0,16)	0,461
TBARS T_2 (median, IQR)	2,68 (0,15)	2,70 (0,21)	0,350
Δ TBARS ($\pm$ SD)	-0,13 $\pm$ 0,23	-0,16 $\pm$ 0,25	0,512
NO_2^- T_1 ($\pm$ SD)	3,16 $\pm$ 0,18	3,13 $\pm$ 0,26	0,454
NO_2^- T_2 (median, IQR)	3,24 (0,24)	3,22 (0,21)	0,524
ΔNO_2^- ($\pm$ SD)	-0,07 $\pm$ 0,22	-0,09 $\pm$ 0,29	0,763
H_2O_2 T_1 ($\pm$ SD)	3,16 $\pm$ 0,16	3,08 $\pm$ 0,22	0,070
H_2O_2 T_2 ($\pm$ SD)	3,16 $\pm$ 0,18	3,13 $\pm$ 0,19	0,410
$\Delta\text{H}_2\text{O}_2$ ($\pm$ SD)	-0,007 $\pm$ 0,25	-0,04 $\pm$ 0,30	0,452
O_2^- T_1 (median, IQR)	8,46 (0,99)	8,24 (1,32)	0,766
O_2^- T_2 (median, IQR)	8,24 (1,24)	8,24 (1,32)	0,563
ΔO_2^- (median, IQR)	-0,33 (1,90)	0 (1,98)	0,295

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T_1 - vrijeme prvog uzorkovanja; T_2 - vrijeme drugog uzorkovanja; TBARS - reaktivne supstance tiobarbiturne kiseline; H_2O_2 - vodonik peroksid; O_2^- - superoksid anjon radikal; NO_2^- - nitriti; Δ - delta (razlika prvog u odnosu na drugi dan); n - broj ispitanika.

Poređenjem vrijednosti prooksidanata u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 20.).

U Tabeli 21. prikazane su vrijednosti antiooksidanasa u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: SOD; CAT; GSH. Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 21. Biohemijske vrijednosti antioksidanasa u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja

Parametar	Preživjeli (n = 49)	Umrli (n = 38)	p
SOD T ₁ (median, IQR)	24,42 (16,28)	24,42 (16,28)	0,746
SOD T ₂ (median, IQR)	16,28 (8,14)	24,42 (8,14)	0,637
ΔSOD (median, IQR)	0 (8,14)	0 (8,14)	0,820
CAT T ₁ (±SD)	5,31 ±1,94	5,04 ±2,22	0,593
CAT T ₂ (median, IQR)	4,37 (3,44)	3,75 (2,81)	0,411
ΔCAT (±SD)	0,66 ±2,92	0,93 ±2,23	0,597
GSH T ₁ (median, IQR)	74717,51 (5522,60)	74977,40 (5587,57)	0,286
GSH T ₂ (median, IQR)	72768,36 (4158,19)	71988,70 (3053,67)	0,385
ΔGSH (median, IQR)	2338,98 (6692,09)	3378,53 (5262,72)	0,113

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T₁ - vrijeme prvog uzorkovanja; T₂ - vrijeme drugog uzorkovanja; SOD - superoksid dizmutaza; CAT - katalaza; GSH - glutation; Δ - delta (razlika prvog u odnosu na drugi dan); n - broj ispitanika.

Poređenjem vrijednosti antioksidanasa u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 21.).

5.4 Rezultati laktata i klirensa laktata u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja

U tabeli 22. prikazane su vrijednosti laktata u različitim vremenskim tačkama u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja.

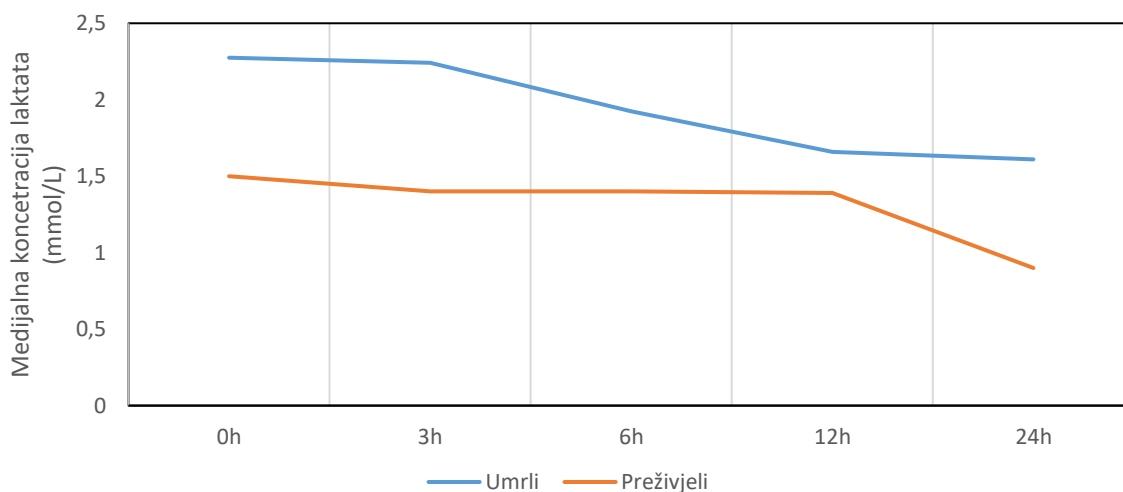
Tabela 22. Vrijednosti laktata u različitim vremenskim tačkama u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja

Parametar	Klinički ishod	mediana (IQR)	p
T0	Preživjeli	1,55 (1,40)	0,057
	Umrli	2,27 (1,95)	
T3	Preživjeli	1,45 (1,44)	0,016
	Umrli	2,24 (0,18)	
T6	Preživjeli	1,4 (1,06)	0,001
	Umrli	1,92 (1,72)	
T12	Preživjeli	1,34 (0,79)	0,004
	Umrli	1,66 (1,22)	
T24	Preživjeli	0,9 (0,70)	0,000
	Umrli	1,61 (1,20)	

IQR - interquartile range, T0 - laktat u trenutku dijagnostifikovanja sepse; T1 - laktat 3h nakon dijagnostifikovanja sepse; T6 - laktat 6h nakon dijagnostifikovanja sepse; T12 - laktat 12h nakon dijagnostifikovanja sepse; T24 - laktat 24h nakon dijagnostifikovanja sepse.

Poređenjem vrijednosti laktata, izmjerenih u pet vremenskih tačaka (T0, T3, T6, T12 i T24) sa 28-dnevnim ishodom liječenja, statistički značajna razlika je potvrđena za medijane laktata u četiri vremenske tačke (T3, T6, T12 i T24). Rezultati su pokazali postojanje statistički značajne razlike u sljedećim vremenskim tačkama: T3 ($p = 0,016$), T6 ($p = 0,001$), T12 ($p = 0,004$), T24 ($p = 0,000$). Statistički značajna razlika nije potvrđena za vrijednost laktata u trenutku dijagnostikovanja sepse (T0) (Tabela 22.).

Prikaz 24-satnog trenda laktata kod preživjelih i umrlih ispitanika prikazan je Slici 9.



Slika 9. 24-satni trend laktata kod preživjelih i umrlih ispitanika

U tabeli 23. prikazane su vrijednosti klirensa laktata u četiri vremenska intervala (0h – 3h; 0h – 6h; 0h – 12h; 0h – 24h) u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja.

Tabela 23. Vrijednosti klirensa laktata u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja

Parametar	Klinički ishod	mediana (IQR)	%	p
Klirens laktata 0h - 3h	Preživjeli	1,55 (1,40)	7,63%	0,641
	Umrli	2,27 (1,95)	23,55%	
Klirens laktata 0h - 6h	Preživjeli	1,45 (1,44)	-0,14%	0,409
	Umrli	2,24 (0,18)	14,95%	
Klirens laktata 0h - 12h	Preživjeli	1,4 (1,06)	6,08%	0,962
	Umrli	1,92 (1,72)	-1,48%	
Klirens laktata 0h - 24h	Preživjeli	1,34 (0,79)	-17,30%	0,162
	Umrli	1,66 (1,22)	4,09%	

IQR - interquartile range.

Poređenjem vrijednosti klirensa laktata u četiri vremenska intervala (0h – 3h; 0h – 6h; 0h – 12h; 0h – 24h) sa 28-dnevni ishodom liječenja, nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 23.).

5.5 Rezultati ispitivanih parametara u odnosu na grupe sepsa/septički šok

U Tabeli 24. prikazani su demografski podaci (pol, dob), klinički podaci (skoring sistemi; upotreba inotropnih lijekova; prisustvo septičkog šoka; trajanje mehaničke ventilacije u danima i trajanje hospitalizacije u JIL u danima) te klinički ishodi liječenja.

Tabela 24. Demografske, kliničke karakteristike i krajnji ishodi liječenja u odnosu na sepsu i septički šok

Parametar	Sepsa (n = 37; 42,5%)	Septički šok (n = 50; 57,50%)	p	Svi pacijenti (n = 87; 100%)
Dob (mediana, IQR)	64 (26)	68 (19)	0,369	87 (100%)
Pol				
Muškarci (N/%)	20 (54,1%)	33 (66,0%)	0,276	53 (60,9%)
Žene (N/%)	17 (45,9%)	17 (34,0%)		34 (39,1%)
Skor				
SOFA (mediana, IQR)	5 (2)	8 (4)	0,000	87 (100%)
qSOFA 2 boda (N/%)	35 (94,6%)	27 (54%)	0,000	62 (71,3%)
qSOFA 3 boda (N/%)	2 (5,4%)	23 (46%)		25 (28,7%)
Kliničke karakteristike				
GP bakterije (N/%)	12 (42,9%)	18 (48,6%)	0,802	30 (46,2%)
GN bakterije (N/%)	16 (57,1%)	19 (51,4%)		35 (53,8%)
MV trajanje (±SD)	9,54 ±12,2	6,84 ±6,13	0,222	71 (81,6%)
Dani hospitalizaciju u JIL-u (±SD)	14,27 ±17,09	12,02 ±13,02	0,487	87 (100%)
Ishod (28 dana)				
Preživjeli (N/%)	26 (70,3%)	23 (46%)	0,030	49 (56,3%)
Umrli (N/%)	11 (29,7%)	27 (54%)		38 (43,7%)

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; SOFA - Sequential Organ Failure Assessment; qSOFA - Quick Sequential Organ Failure Assessment; MV - mehanička ventilacija; JIL - jedinica intenzivnog liječenja; GP - Gram pozitivni; GN - Gram negativni; n - broj ispitanika.

Poredeći demografske i kliničke karakteristike kao i krajnje ishode liječenja sa grupama sepsa i septički šok, statistički značajna razlika potvrđena je za parametre SOFA skor, qSOFA skor i u krajnji ishod liječenja. Na osnovu Mann-Whitney U testa došlo se do zaključka da je postojala statistički značajnu razliku u medijani SOFA skora tako da je veći SOFA skor zabilježen u grupi septički šok ($U = 242,000$; $p = 0,000$). Rezultati Hi-kvadrat/Fisher testa su pokazali statistički

značajnu razliku u medijani qSOFA skora tako da je veći broj ispitanika sa qSOFA skorom od 3 boda pripadao grupi septički šok ($\chi^2 = 17,112$, $p = 0,000$). Rezulati Hi-kvadrat test/Fisher testa su pokazali statistički značajnu razliku u stopi preživljavanja, poredeći ispitanike sa sepsom i septičkim šokom. Ispitanici sa septičkim šokom imali su veću stopu smrtnosti u poređenju sa ispitanicima grupe sepsa ($\chi^2 = 5,092$, $p = 0,030$). Za ostale analizirane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 24.).

U Tabeli 25. prikazane su vrijednosti inflamatornih parametara u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: leukociti; CRP; PCT; IL-6; TNF- α . Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 25. Vrijednosti inflamatornih parametara u odnosu na sepsu i septički šok

Parametar	Sepsa (n = 37)	Septički šok (n = 50)	p
WBC T_1 (median, IQR)	14,3 (9,24)	15,42 (11,61)	0,410
WBC T_2 (median, IQR)	12,73 (9,63)	15,68 (14,56)	0,124
Δ WBC (median, IQR)	0,82 (4,48)	-1,68 (6,26)	0,016
CRP T_1 (median, IQR)	204,7 (121,25)	173,5 (160,45)	0,415
CRP T_2 (median, IQR)	163,1 (123,65)	178,8 (188,65)	0,432
Δ CRP ($\pm$ SD)	44,62 $\pm$ 80,59	-4,25 $\pm$ 72,44	0,004
PCT T_1 (median, IQR)	1,95 (7,90)	7,34 (21,13)	0,035
PCT T_2 (median, IQR)	2,81 (5,75)	6 (15,41)	0,067
Δ PCT (median, IQR)	0,1 (2,23)	0,07 (5,23)	0,955
IL-6 T_1 (median, IQR)	27,46 (41,98)	28,35 (34,37)	0,696
IL-6 T_2 (median, IQR)	63,6 (35,14)	54,68 (51,16)	0,817
Δ IL-6 (median, IQR)	-26,07 (34,63)	-21,11 (52,14)	0,674
TNF- α T_1 (median, IQR)	32,1 (39,06)	36,2 (38,75)	0,574
TNF- α T_2 (median, IQR)	51,57 (29,67)	40,1 (45,43)	0,133
Δ TNF- α (median, IQR)	-13,2 (27,24)	-8,64 (49,34)	0,287

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T_1 -vrijeme prvog uzorkovanja; T_2 - vrijeme drugog uzorkovanja; CRP- C reaktivni protein; WBC - broj leukocita; PCT - prokalcitonin; IL-6 - Interleukin 6; TNF- α - faktor tumorske nekroze alfa; Δ (delta) - razlika prvog u odnosu na drugi dan; n - broj ispitanika.

Poređenjem vrijednosti inflamatornih parametara sa grupama sepsa i septički šok, statistički značajna razlika je potvrđena za Δ WBC, Δ CRP i PCT u prvom danu. Na osnovu Mann-Whitney U testa došlo se do zaključka da je postojala statistički značajnu razliku u medijani leukocitne razlike (Δ WBC) tako da su vrijednosti WBC više padale u grupi sepsa u poređenju sa grupom septički šok ($U = 644,500$; $p = 0,016$). Rezultati Studentovog t-testa su pokazali da je postojala statistički značajna razlika u srednjoj vrijednosti CRP razlike (Δ CRP) tako da su vrijednosti CRP-a više padale u grupi sepsa nego u grupi septički šok (Student t test, $t = -2,943$, $p = 0,004$). Takođe, rezultati Mann-Whitney U testa su pokazali da je postojala statistički značajna razlika u medijani PCT prvog dana, tako da su vrijednosti PCT-a bile veće u grupi septički šok nego u grupi sepsa ($U = 680,000$; $p = 0,035$). Za ostale posmatrane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 25.).

U Tabeli 26. prikazane su vrijednosti Hcy i vitamina B₁₂ u dva vremena (T₁ i T₂), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena. Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 26. Vrijednosti Hcy i vitamina B₁₂ u odnosu na sepsu i septički šok

Parametar	Sepsa (n = 37)	Septički šok (n = 50)	p
Hcy T1 (median, IQR)	8,7 (5,10)	9,5 (6,45)	0,476
Hcy T2 (median, IQR)	9,6 (4,85)	11,1 (8,30)	0,354
Δ Hcy (median, IQR)	-0,1 (4,95)	0,2 (4,3)	0,447
Vitamin B ₁₂ T ₁ (median, IQR)	914 (1562)	940 (1393)	0,754
Vitamin B ₁₂ T ₂ (median, IQR)	848 (964)	729 (1319)	0,857
Δ B ₁₂ vit. (median, IQR)	18 (299,50)	0 (445)	0,508

IQR - interquartile range; T₁ - vrijeme prvog uzorkovanja; T₂ - vrijeme drugog uzorkovanja; Hcy - homocistein; Δ (delta) - razlika prvog u odnosu na drugi dan; n - broj ispitanika.

Poređenjem vrijednosti Hcy i vitamina B₁₂ u odnosu na grupe ispitanika sa sepsom i septičkim šokom, nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 26.). Takođe, mjerene su vrijednosti vWF, ali statistička obrada podataka nije sprovedena jer su sve izmjerene vrijednosti bile unutar referentnog opsega, što ukazuje na odsustvo značajnih varijacija koje bi zahtijevale dalju analizu.

U Tabeli 27. prikazane su vrijednosti prooksidanata u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: TBARS; NO_2^- ; H_2O_2 ; O_2^- . Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 27. Biohemijske vrijednosti prooksidanata u odnosu na sepsu i septički šok

Parametar	Sepsa (n = 37)	Septički šok (n = 50)	p
TBARS T_1 (median, IQR)	2,6 (0,22)	2,58 (0,13)	0,525
TBARS T_2 (median, IQR)	2,65 (0,18)	2,72 (0,18)	0,072
Δ TBARS ($\pm$ SD)	-0,11 $\pm$ 0,29	-0,16 $\pm$ 0,19	0,427
$\text{NO}_2^- T_1$ ($\pm$ SD)	3,17 $\pm$ 0,23	3,13 $\pm$ 0,21	0,415
$\text{NO}_2^- T_2$ (median, IQR)	3,22 (0,23)	3,22 (0,17)	0,769
ΔNO_2^- ($\pm$ SD)	-0,06 $\pm$ 0,27	-0,1 $\pm$ 0,23	0,481
$\text{H}_2\text{O}_2 T_1$ ($\pm$ SD)	3,15 $\pm$ 0,19	3,11 $\pm$ 0,19	0,449
$\text{H}_2\text{O}_2 T_2$ ($\pm$ SD)	3,12 $\pm$ 0,19	3,2 $\pm$ 0,18	0,201
$\Delta\text{H}_2\text{O}_2$ ($\pm$ SD)	0,02 $\pm$ 0,30	-0,06 $\pm$ 0,24	0,157
$\text{O}_2^- T_1$ (median, IQR)	8,57 (0,66)	8,24 (1,15)	0,047
$\text{O}_2^- T_2$ (median, IQR)	8,24 (1,48)	8,24 (1,32)	0,320
ΔO_2^- (median, IQR)	0 (2,47)	-0,33 (1,65)	0,737

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T_1 - vrijeme prvog uzorkovanja; T_2 - vrijeme drugog uzorkovanja; TBARS - reaktivne supstance tiobarbiturne kiseline; H_2O_2 - vodonik peroksid; O_2^- - superoksid anjon radikal; NO_2^- - nitriti; Δ - delta (razlika prvog u odnosu na drugi dan); n - broj ispitanika.

Poredeći vrijednosti prooksidanta u odnosu na grupe sepsa i septički šok, potvrđena je statistički značajna razlika u vrijednosti O_2^- u prvom danu (T_1). Na osnovu Mann-Whitney U testa došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna razlika u medijani O_2^- u prvom danu (T_1), tako da je grupa ispitanika sa sepsom imala veće vrijednosti O_2^- u poređenju sa grupom septički šok ($U = 695,500$; $p = 0,047$). Za ostale posmatrane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 27.).

U Tabeli 28. prikazane su vrijednosti antiooksidanasa u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: SOD; CAT; GSH. Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 28. Biohemijske vrijednosti antioksidanasa u odnosu na sepsu i septički šok

Parametar	Sepsa (n = 37)	Septički šok (n = 50)	p
SOD T_1 (median, IQR)	24,42 (16,28)	24,42 (16,28)	0,846
SOD T_2 (median, IQR)	16,28 (8,14)	24,42 (8,14)	0,436
Δ SOD (median, IQR)	0 (8,14)	0 (8,14)	0,897
CAT T_1 ($\pm$ SD)	4,98 $\pm$ 2,05	5,35 $\pm$ 2,07	0,451
CAT T_2 (median, IQR)	4,75 (2,88)	3,75 (3,13)	0,108
Δ CAT ($\pm$ SD)	0,15 $\pm$ 2,71	1,25 $\pm$ 2,48	0,062
GSH T_1 (median, IQR)	75367,23 (5197,74)	74847,46 (5197,74)	0,489
GSH T_2 (median, IQR)	72768,36 (3768,36)	71988,70 (3118,65)	0,117
Δ GSH (median, IQR)	2858,75 (6757,07)	2338,99 (6237,29)	0,983

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T_1 - vrijeme prvog uzorkovanja; T_2 - vrijeme drugog uzorkovanja; SOD - superoksid dizmutaza; CAT - katalaza; GSH - glutation; Δ - delta (razlika prvog u odnosu na drugi dan); n - broj ispitanika.

Poredeći vrijednosti antiooksidanasa u odnosu na grupe sepsa i septički šok, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 28.).

5.6 Rezultati ispitivanih patrametara u odnosu na izvore infekcije

U Tabeli 29. prikazani su demografski podaci (pol, dob), klinički podaci (skoring sistemi; upotrebu inotropnih lijekova; prisustvo septičkog šoka; trajanje mehaničke ventilacije u danima, trajanje hospitalizacije u JIL u danima i tip infekcije) te klinički ishodi liječenja.

Tabela 29. Demografske, kliničke karakteristike i krajnji ishodi liječenja u odnosu na izvore infekcije

Parametar	HK (n = 16; 18,4%)	UK (n = 10; 11,5%)	BAL (n = 16; 18,4%)	Bris rane/apsc esa (n=13; 14,9%)	Višestruki izvor infekcije (n = 12; 13,8%)	Sterilno (n = 20; 23%)	p	ukupno
Dob (mediana, IQR)	66,5 (14)	66 (23)	69,5 (16)	59 (24)	62,5 (36)	67 (26)	0,785	87 (100%)
Pol								
Muškarci (N/%)	13 (81,3%)	3 (30%)	9 (56,3%)	6 (46,2%)	7 (58,3%)	15 (75%)	0,082	53 (60,9%)
Žene (N/%)	3 (18,8%)	7 (70%)	7 (43,8%)	7 (53,8%)	5 (41,7%)	5 (25%)		34 (39,1%)
Skor								
SOFA (mediana, IQR)	6,5 (5,75)	6 (6)	6,5 (3,75)	6 (6)	7 (3)	7 (3)	0,773	87 (100%)
qSOFA 2 boda (N/%)	10 (62,5%)	5 (50%)	11 (68,8%)	11(84,6%)	10 (83,3%)	15 (75%)	0,451	62 (71,3%)
qSOFA 3 boda (N/%)	6 (37,5%)	5 (50%)	5 (31,3%)	2 (15,4%)	2 (16,7%)	5 (25%)		25 (28,7%)
Kliničke karakteristike								
Inotrop (N/%)	8 (20%)	4 (10%)	8 (20%)	4 (10%)	7 (17,5%)	9 (22,5%)	0,623	40 (100%)
Septički šok	11 (22%)	5 (10%)	9 (18 %)	8 (16%)	5 (10%)	12 (24%)	0,795	50 (57,4%)
MV trajanje (±SD)	6,1 ±5,9	7 ±3,7	8,3 ±6,1	6,5 ±5,9	13,6 ±17,5	5,4 ±4,3	0,231	71 (81,6%)
Dani hospitalizaciju u JIL- u (±SD)	11,5 ±10,4	8,2 ±4,8	20,3 ±19,7	11,3 ±6,7	24,8 ±24,7	8,7 ±8	0,030	87 (100%)
GP (N /%)	14 (87,5%)	6 (50%)	5 (31,2%)	4 (33,3%)	2 (20%)	1 (100%)	0,002	30 (34,5%)
GN (N/ %)	2 (12,5%)	6 (50%)	11 (68,8%)	8 (66,7%)	8 (80%)	0 (0 %)		35 (40,2%)
Ishod (28 dana)								
Preživjeli (N/%)	10 (62,5%)	4 (40%)	6 (37,5%)	9 (69,2%)	7 (58,3%)	13 (65%)	0,412	49 (56,3%)
Umrli (N/%)	6 (37,5%)	6 (60%)	10 (62,5%)	4 (30,8%)	5 (41,7%)	5 (35%)		38 (43,6%)

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; MV - mehanička ventilacija; JIL - jedinica intenzivnog liječenja; HK - hemokultura; UK - urinokultura; BAL - bronhoalveolarni lavat; SOFA - Sequential Organ Failure Assessment; qSOFA - quick Sequential Organ Failure Assessment, GP - Gram pozitivne; GN - Gram negativne; n - broj ispitanika.

Poređenjem demografskih, kliničkih karakteristika, krajnjih ishoda liječenja i tipa infekcije (GP; GN), u odnosu na izvore infekcije, statistički značajna razlika je potvrđena u dužini hospitalizacije u JIL-u i tipu infekcije. Korišćenjem ANOVA testa, potvrđeno je da postojala statistički značajna razlika između grupa ispitanika sa različitim izvorima infekcije u prosečnoj dužini trajanja hospitalizacije u JIL-u ($F=3,959$; $p=0,003$). Dodatnom analizom potvrđeno je da su ispitanici iz grupe višestruki izvori infekcije značajno duže boravili u JIL-u u poređenju sa ispitanicima iz grupe NC ($p = 0,010$). Takođe, hospitalizacija u JIL-u bila duža kod ispitanika grupe višestruki izvori infekcije u poređenju sa grupom ispitanika kod kojih je izvor infekcije UK ($p = 0,030$). Rezultati Hi – kvadrat testa su pokazali statistički značajnu razliku poredeći tip infekcije (GP i GN bakterije) sa izvorom infekcije. Infekcije GP bakterijama su češće prisutne kod pozitivnih HK dok su infekcije GN bakterijama češće prisutne kod višestrukih

izvora infekcija i BAL-a (Hi-kvadrat test/Fisher test: $\chi^2 = 17,301$; $p = 0,030$). Za ostale posmatrane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 29.).

U Tabeli 30. prikazane su vrijednosti inflamatornih parametara u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: leukociti; CRP; PCT; IL-6; TNF- α . Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 30. Vrijednosti inflamatornih parametara u odnosu na izvore infekcije

Parametar	HK (n = 16)	UK (n = 10)	BAL (n = 16)	Bris rane/apscesa (n = 13)	Višestruki izvor infekcije (n = 12)	Sterilno (n = 20)	P
WBC T_1 (median, IQR)	15,81 (9,14)	13,86 (14,15)	15,36 (13,68)	17,92 (14,04)	13,08 (7,67)	14,23 (14,63)	0,810
WBC T_2 (median, IQR)	16,08 (7,64)	13,15 (26,30)	17,27 (14,39)	14,76 (14,40)	14,29 (6,84)	11,10 (7,83)	0,623
Δ WBC (median, IQR)	1,74 (7,56)	-1,99 (6,57)	-1,66 (7,15)	0,61 (7,64)	-1,64 (4,24)	0,93 (7,42)	0,348
CRP T_1 (median, IQR)	187,70 (137,60)	223,70 (130,62)	170,65 (296,93)	146,40 (138)	169,40 (155,78)	194,20 (123,30)	0,693
CRP T_2 (median, IQR)	163,20 (151,95)	197,90 (97,82)	157,20 (200,77)	174 (122,15)	201,95 (97,55)	105,80 (140,30)	0,402
Δ CRP ($\pm$ SD)	8,35 $\pm$ 117,46	28,39 $\pm$ 74,77	0,56 $\pm$ 2,02	3,87 $\pm$ 35,56	3,75 $\pm$ 66,09	44,20 $\pm$ 77	0,613
PCT T_1 (median, IQR)	2,38 (10,34)	2,65 (14,85)	4,53 (12,2)	5,72 (9,48)	5,07 (21,04)	8,15 (32,02)	0,652
PCT T_2 (median, IQR)	2,63 (8,79)	2,85 (15,20)	3,18 (7,24)	3 (7,83)	5,67 (14,39)	7,64 (25,34)	0,945
Δ PCT (median, IQR)	0,35 (17,42)	-0,24 (1,22)	-0,08 (3,15)	0,4 (5,37)	-0,10 (1,17)	0,81 (15,12)	0,207
IL-6 T_1 (median, IQR)	20,96 (16,57)	34,28 (38,50)	35,71 (44,20)	47,77 (32,38)	25,61 (43,91)	32,71 (34,24)	0,216
IL-6 T_2 (median, IQR)	51,93 (53,46)	87,72 (50,33)	59,84 (47,03)	59,55 (44,14)	61,20 (30,39)	53,92 (40,64)	0,466
Δ IL-6 (median, IQR)	-28,90 (35,72)	-50,85 (21,70)	-24,5 (82,51)	-21,11 (32,96)	-22,33 (48,83)	-20,15 (44,05)	0,395
TNF- α T_1 (median, IQR)	39,37 (55,76)	55,22 (55,49)	39,42 (43,18)	35,84 (30,10)	27,09 (34,81)	25,61 (28,76)	0,276
TNF- α T_2 (median, IQR)	51,50 (45,95)	59,32 (63,52)	50,94 (45,94)	48,41 (35,30)	47,20 (36,57)	38 (52,20)	0,466
Δ TNF- α (median, IQR)	-9,41 (27,38)	-5,06 (53,64)	-19,97 (70,52)	-13,68 (38,31)	-17,47 (43,37)	-8,75 (34,73)	0,916

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T_1 - vrijeme prvog uzorkovanja; T_2 - vrijeme drugog uzorkovanja; HK - hemokultura; UK - urinokultura; BAL - bronhoalveolarni lavat; WBC - broj leukocita; CRP - C reaktivni protein; PCT - prokalcitonin; IL-6 - Interleukin 6; TNF- α - faktor nekroze tumora alfa; Δ (delta) - razlika prvog u odnosu na drugi dan; n - broj ispitanika.

Poređenjem vrijednosti inflamatornih parametara u odnosu na izvore infekcije, nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 30.).

U Tabeli 31. prikazane su vrijednosti Hcy i vitamina B₁₂ u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena. Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je

o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 31. Vrijednosti Hcy i vitamina B₁₂ u odnosu na izvor infekcije

Parametar	HK (n = 16)	UK (n = 10)	BAL (n = 16)	Bris rane/apscesa (n = 13)	Višestruki izvor infekcije (n = 12)	Sterilno (n = 20)	p
Hcy T ₁ (median, IQR)	7,95 (5,68)	9,9 (6,25)	8,35 (4,70)	9,60 (11,25)	10,8 (7,05)	8,6 (5,30)	0,487
Hcy T ₂ (median, IQR)	9,3 (7,05)	7,85 (11,35)	9,55 (6,33)	13 (9,30)	7 (5,07)	11,3 (6)	0,356
ΔHcy (median, IQR)	0,55 (4,68)	-0,5 (7,57)	0,6 (3,08)	0 (4,75)	0,6 (5,60)	-0,1 (5)	0,666
Vit. B ₁₂ T ₁ (median, IQR)	1051 (1874)	596 (3366)	753 (1517)	1255 (1560)	915 (2723)	914 (769)	0,800
Vit. B ₁₂ T ₂ (median, IQR)	1273 (1585)	483,50 (2065)	713 (816)	723 (1592)	1048,5 (2896)	643 (986)	0,831
ΔB ₁₂ vit. (median, IQR)	-18,50 (174,25)	103,50 (612,50)	53 (733)	243,80 (559)	-154,50 (532,75)	0 (223)	0,018

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T₁ - vrijeme prvog uzorkovanja; T₂ - vrijeme drugog uzorkovanja; HK - hemokultura; UK - urinokultura; BAL - bronhoalveolarni lavat; Hcy - homocistein; Vit. B₁₂ - B₁₂ vitamin; Δ (delta) - razlika prvog u odnosu na drugi dan; n - broj ispitanika.

Poređenjem vrijednosti Hcy i vitamina B₁₂ u odnosu na izvor infekcije, statistički značajna razlika je potvrđena u vrijednosti ΔB₁₂. Na osnovu Mann-Whitney U testa, došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna razlika u srednjem rangju promene nivoa vitamina B₁₂ (ΔB₁₂) (Hi-kvadrat = 13,583; p = 0,018). Dodatnom analizom, Mann-Whitney U testom, došlo se do zaključka da su ispitanici iz grupe bris rane/apscesa imali statistički značajnu razliku u srednjem rangju promjene vitamina B₁₂ između prvog i drugog dana (Δ B₁₂) u poređenju sa: grupom NC (p = 0,013), grupom višestruki izvor infekcije (p = 0,016) i grupom ispitanika čiji je izvor infekcije HK (p = 0,013). Dodatnom analizom, Mann-Whitney U testom, došlo se do zaključka da su ispitanici iz grupe BAL imali statistički značajnu razliku u srednjem rangju promjene vitamina B₁₂ između prvog i drugog dana (ΔB₁₂) u poređenju sa grupom NC (p = 0,026) i u poređenju sa grupom HK (p = 0,023). Za ostale posmatrane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 31.). Takođe, mjerene su vrijednosti vWF, ali statistička obrada podataka nije sprovedena jer su sve izmjerene vrijednosti bile unutar referentnog opsega, što ukazuje na odsustvo značajnih varijacija koje bi zahtijevale dalju analizu.

U Tabeli 32. prikazane su vrijednosti prooksidanata u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: TBARS; NO_2^- ; H_2O_2 ; O_2^- . Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 32. Biohemijske vrijednosti prooksidanata u odnosu na izvore infekcije

Parametar	HK (n = 16)	UK (n = 10)	BAL (n = 16)	Bris rane/apscesa (n = 13)	Višestruki izvor infekcije (n = 12)	Sterilno (n = 20)	p
TBARS T_1 (median, IQR)	2,58 (0,11)	2,62 (0,12)	2,57 (0,18)	2,6 (0,28)	2,49 (0,25)	2,6 (0,19)	0,188
TBARS T_2 (median, IQR)	2,68 (0,20)	2,66 (0,18)	2,67 (0,16)	2,64 (0,18)	2,69 (0,24)	2,7 (0,18)	0,958
Δ TBARS ($\pm$ SD)	-0,16 $\pm$ 0,23	-0,08 $\pm$ 0,21	-0,09 $\pm$ 0,18	-0,16 $\pm$ 0,17	-0,25 $\pm$ 0,28	-0,12 $\pm$ 0,31	0,569
$\text{NO}_2^- T_1$ ($\pm$ SD)	3,21 $\pm$ 0,19	3,08 $\pm$ 0,24	3,11 $\pm$ 0,24	3,12 $\pm$ 0,22	3,11 $\pm$ 0,20	3,21 $\pm$ 0,23	0,480
$\text{NO}_2^- T_2$ (median, IQR)	3,3 (0,23)	3,3 (0,22)	3,22 (0,16)	3,26 (0,16)	3,22 (0,11)	3,22 (0,17)	0,304
ΔNO_2^- ($\pm$ SD)	-0,07 $\pm$ 0,20	-0,17 $\pm$ 0,26	-0,1 $\pm$ 0,26	0,16 $\pm$ 0,30	-0,08 $\pm$ 0,22	0,01 $\pm$ 0,25	0,423
$\text{H}_2\text{O}_2 T_1$ ($\pm$ SD)	3,19 $\pm$ 0,14	3,05 $\pm$ 0,23	3,0 $\pm$ 0,16	3,18 $\pm$ 0,19	3,13 $\pm$ 0,19	3,1 $\pm$ 0,22	0,410
$\text{H}_2\text{O}_2 T_2$ ($\pm$ SD)	3,18 $\pm$ 0,16	3,11 $\pm$ 0,23	3,15 $\pm$ 0,16	3,24 $\pm$ 0,15	3,07 $\pm$ 0,17	3,14 $\pm$ 0,22	0,356
$\Delta\text{H}_2\text{O}_2$ ($\pm$ SD)	-0,01 $\pm$ 0,20	-0,06 $\pm$ 0,32	-0,06 $\pm$ 0,19	-0,05 $\pm$ 0,26	0,05 $\pm$ 0,31	-0,04 $\pm$ 0,36	0,865
$\text{O}_2^- T_1$ (median, IQR)	8,73 (1,16)	8,40 (0,91)	8,40 (1,57)	8,57 (0,83)	8,24 (0,66)	8,24 (1,32)	0,311
$\text{O}_2^- T_2$ (median, IQR)	8,4 (1,49)	8,24 (1,40)	8,40 (1,82)	7,91 (1,15)	7,91 (1,07)	8,24 (0,99)	0,647
ΔO_2^- (median, IQR)	-0,16 (1,82)	-0,16 (2,39)	-0,66 (2,22)	0,66 (2,31)	0,16 (0,91)	-0,66 (2,31)	0,366

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T_1 - vrijeme prvog uzorkovanja; T_2 - vrijeme drugog uzorkovanja; TBARS - reaktivne supstance tiobarbituratnom kiselinom; H_2O_2 – vodonik peroksid; O_2^- - superoksid anjon radikal; NO_2^- - nitriti; Δ - delta (razlika prvog u odnosu na drugi dan); n - broj ispitanika; HK - hemokultura; UK - urinokultura; BAL - bronhoalveolarni lavat.

Poređenjem vrijednosti prooksidanata u odnosu na izvore infekcije, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 32.).

U Tabeli 33. prikazane su vrijednosti antiooksidanasa u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: SOD; CAT; GSH. Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 33. Biohemijske vrijednosti antioksidanasa u odnosu na izvore infekcije

Parametar	HK (n = 16)	UK (n = 10)	BAL (n = 16)	Bris rane/apscesa (n = 13)	Višestruki izvor infekcije (n = 12)	Sterilno (n = 20)	p
SOD T ₁ (median, IQR)	24,42 (8,14)	24,42 (10,18)	32,56 (8,14)	24,42 (8,14)	20,5 (8,14)	24,42 (8,14)	0,006
SOD T ₂ (median, IQR)	24,42 (8,14)	16,28 (8,14)	16,28 (8,14)	24,42 (8,14)	24,42 (8,14)	16,28 (8,14)	0,702
ΔSOD (median, IQR)	0 (0)	8,14 (16,28)	8,14 (14,25)	8,14 (12,21)	0 (12,21)	0 (8,14)	0,015
CAT T ₁ (±SD)	5,48 ±2,31	5,02 ±2,49	4,7 ±1,97	5,44 ±1,72	5,33 ±2,16	5,21 ±2,02	0,913
CAT T ₂ (median, IQR)	5,12 (4,25)	4,25 (3,56)	4,12 (3,13)	4,25 (2,38)	3,75 (3,13)	4,25 (3)	0,969
ΔCAT (±SD)	0,62 ±2,46	0,5 ±3,91	0,56 ±2,02	1,07 ±2,83	1,29 ±2,62	0,72 ±2,56	0,989
GSH T ₁ (median, IQR)	74977,40 (3703,39)	75497,17 (5067,80)	75627,12 (5782,49)	74067,80 (7796,61)	76536,72 (12994,35)	74327,68 (4418,08)	0,212
GSH T ₂ (median, IQR)	72118,64 (3703,39)	71728,81 (4483,05)	72898,30 (4093,22)	71468,93 (3378,53)	72508,47 (4223,16)	73288,14 (3638,41)	0,973
ΔGSH (median, IQR)	3768,36 (6757,06)	3248,59 (6432,20)	2598,87 (7926,55)	1299,43 (5327,69)	4028,25 (12279,67)	1559,32 (6757,06)	0,432

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T₁ - vrijeme prvog uzorkovanja; T₂ - vrijeme drugog uzorkovanja; SOD - superoksid dizmutaza; CAT - katalaza; GSH - glutation; Δ - delta (razlika prvog u odnosu na drugi dan); HK - hemokultura; UK - urinokultura; BAL - bronhoalveolarni lavat; n - broj ispitanika.

Poređenjem vrijednosti antioksidanasa u odnosu na izvore infekcije, statistički značajna razlika je potvrđena za SOD u prvom danu i ΔSOD. Na osnovu Hi-kvadrat testa došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna razlika u medijani SOD u prvom dana (T₁) (Hi-kvadrat = 14,177; p = 0,006). Dodatnom analizom, Mann-Whitney U testom, došlo se do zaključka da su ispitanici iz grupe bris rane/apscesa statistički značajno razlikovali u srednjem rangju SOD u poređenju sa grupom NC (p = 0,044) i u poređenju sa grupom višestruki izvor infekcije (p = 0,032). Takođe, ovim testom, je potvrđeno da su ispitanici grupe BAL statistički značajno razlikovali u srednjem rangju SOD u poređenju sa grupom NC (p = 0,015), u poređenju sa grupom HK (p = 0,003), u poređenju sa grupom UK (p = 0,013) i u poređenju sa grupom višestruki izvor infekcije (p = 0,004). Poređenjem vrijednosti antioksidanasa u odnosu na izvore infekcije potvrđena je statistički značajna razlika u medijani ΔSOD (Hi-kvadrat = 14,167; p = 0,015). Dodatnom analizom, Mann-Whitney U testom, došlo se do zaključka da su se ispitanici iz grupe BAL statistički značajno razlikovali u srednjem rangju razlike SOD između

prvog i drugog dana (Δ SOD) u poređenju sa grupom NC ($p = 0,015$), u poređenju sa grupom višestruki izvori infekcije ($p = 0,002$) i u poređenju sa grupom HK ($p = 0,003$). Takođe je potvrđeno da se grupa bris rane/apscesa statistički značajno razlikovala u srednjem rangu promjene SOD između prvog i drugog dana (Δ SOD) u poređenju sa grupom višestruki izvori infekcije ($p = 0,039$). Za ostale posmatrane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 33.).

5.7 Rezultati ispitivanih parametara u odnosu na hemokulturu

U Tabeli 34. prikazani su demografski podaci (pol, dob), klinički podaci (skoring sistemi; upotreba inotropnih lijekova; prisustvo septičkog šoka; trajanje mehaničke ventilacije u danima i trajanje hospitalizacije u JIL u danima) i krajnji ishodi liječenja.

Tabela 34. Demografske, kliničke karakteristike i krajnji ishodi liječenja kod različitih grupa septičnih ispitanika analiziranih na osnovu hemokulture

Parametar	GP grupa (n = 18; 12,7%)	GN grupa (n = 8; 9,2%)	NC grupa (n = 61; 70,1%)	p	ukupno
Dob (mediana, IQR)	64,50 (13)	62 (41)	67,50 (23)	0,883	87 (100%)
Pol					
Muškarci (N %)	14 (77%)	6 (75%)	33 (54,1%)	0,146	53 (60,9%)
Žene (N %)	4 (22,2%)	2 (25%)	28 (45,9%)		34 (39,1%)
Skor					
SOFA (mediana, IQR)	7 (5,25)	7 (3,75)	6 (4)	0,645	87 (100%)
qSOFA 2 boda (N/%)	13 (72,2%)	5 (62,5%)	44 (72,1%)	0,862	62 (100%)
qSOFA 3 boda (N/%)	5 (27,8%)	3 (37,5%)	17 (27,9%)		25 (100%)
Kliničke kakteristike					
Inotrop (N/%)	9 (22,5%)	4 (10%)	27 (67,5%)	0,000	40 (100%)
Septički šok	11 (22%)	4 (8%)	35 (70 %)	0,000	50 (100%)
MV trajanje (±SD)	7 ±7,32	17,83 ±23,23	6,87 ±5,19	0,014	71 (81,6%)
Dani hospitalizaciju u JIL (±SD)	10,67 ±10,19	28,63 ±28,98	11,6 ±12,33	0,006	87 (100%)
Ishod (28 dana)					
Preživjeli (N%)	11 (61,1%)	5 (62,5%)	33 (54,1%)	0,832	49 (56,3%)
Umrli (N%)	7 (38,9%)	3 (37,5%)	28 (45,9%)		38 (43,7%)

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; MV - mehanička ventilacija; JIL - jedinica intenzivnog liječenja; HK - hemokultura; UK - urinokultura; BAL - bronhoalveolarni lavat; SOFA - Sequential Organ Failure Assessment; qSOFA - quick Sequential Organ Failure Assessment, GP - Gram pozitivne; GN - Gram negativne; n - broj ispitanika.

Poređenjem demografskih i kliničkih karakteristika, kao i krajnjih ishoda liječenja sa različitim grupama septičnih ispitanika analiziranih na osnovu hemokulture, potvrđena je statistički značajna razlika u upotrebi inotropne podrške, učestalosti septičkog šoka, dužini trajanja MV i dužini hospitalizacije u JIL-u. Na osnovu rezultata Z testa proporcija došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna razlika u broju ispitanika koji su bili na inotropnoj podršci.

Ispitanici iz grupe NC značajno su više koristili inotropnu podršku u poređenju sa GN grupom ($Z = 5,28$; $p = 0,000$). Slično tome, ispitanici iz grupe NC značajno su više koristili inotropnu podršku u poređenju sa ispitanicima iz GP grupe ($Z = 4,05$; $p = 0,000$). Grupe GN i GP se nisu statistički značajno razlikovale u broju ispitanika koji su bili na inotropnoj podršci ($Z = 1,515$; $p = 0,129$). Septični šok je bio statistički značajno više zastupljen u grupi NC što je potvrđeno Z testom proporcija ($Z = 4,82$; $p = 0,000$). Između GP i GN grupa nije postojala statistički značajna razlika u zastupljenosti septičkog šoka ($Z = 1,960$; $p = 0,051$). Rezultati ANOVA testa su pokazali da je postojala statistički značajna razlika između različitih grupa septičnih ispitanika analiziranih na osnovu HK (GP, GN i NC) u srednjoj vrijednosti trajanja mehaničke ventilacije ($F = 4,575$; $p = 0,014$). Dodatnom analizom, korištenjem Tukey HSD testa, došlo se do zaključka da je GN grupa imala statistički značajno duže prosječno trajanja mehaničke ventilacije u odnosu na grupe GP i NC ($p = 0,014$). Grupe GP i NC se nisu statistički značajno razlikovale u prosječnom trajanju mehaničke ventilacije ($p = 0,998$). Na osnovu rezultata, Tukey HSD testa, došlo se do zaključka da je postojala statistički značajna razlika u prosječnom trajanju hospitalizacije u JIL-u između septičnih ispitanika analiziranih na osnovu HK, tako da je GN grupa više dana boravila u JIL-u u poređenju sa GP grupom ($p = 0,005$). Takođe, GN grupa je duže boravila u JIL-u u poređenju sa grupom NC ($p = 0,010$). Za ostale posmatrane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 34.).

U Tabeli 35. prikazane su vrijednosti inflamatornih parametara u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: WBC; CRP; PCT; IL-6; TNF- α . Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 35. Vrijednosti inflamatornih parametara kod različitih grupa septičnih ispitanika analiziranih na osnovu hemokulture

Parametar	GP grupa (n = 18)	GN grupa (n = 8)	NC grupa (n = 61)	p
WBC T_1 (median, IQR)	15,77 (10,53)	13,08 (7,69)	14,91 (11,89)	0,279
WBC T_2 (median, IQR)	15,63 (8,76)	13,88 (9,98)	13,62 (13,06)	0,599
Δ WBC (median, IQR)	1,18 (6,22)	-1,29 (6,40)	-0,6 (5,42)	0,399
CRP T_1 (median, IQR)	174,55 (113)	163,3 (215,17)	199,3 (146,85)	0,913
CRP T_2 (median, IQR)	164,3 (139,93)	170,15 (179,60)	163,95 (130,58)	0,834
Δ CRP ($\pm$ SD)	5,67 $\pm$ 114,81	20,95 63,25	19,54 $\pm$ 69,03	0,799
PCT T_1 (median, IQR)	2,38 (10,26)	1,38 (49,09)	6,06 (15,72)	0,250
PCT T_2 (median, IQR)	2,63 (6,77)	6,97 (38,91)	4,04 (10,34)	0,481
Δ PCT (median, IQR)	0,09 (9,09)	-0,02 (14,41)	0,1 (3,13)	0,882
IL-6 T_1 (median, IQR)	19,5 (14,52)	24,93 (43,91)	34,62 (35,80)	0,019
IL-6 T_2 (median, IQR)	50,43 (40,37)	64,15 (48,19)	65,97 (47,59)	0,362
Δ IL-6 (median, IQR)	-26,03 (27,06)	-22,33 (54,05)	-23,16 (52,44)	0,927
TNF- α T_1 (median, IQR)	39,37 (45,19)	27,09 (28,68)	32,83 (39,09)	0,872
TNF- α T_2 (median, IQR)	52,25 (53,41)	39,69 (36,26)	48,70 (44,20)	0,426
Δ TNF- α (median, IQR)	-10,81 (39,14)	-10,63 (26,61)	-10,32 (45,54)	0,872

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T_1 - vrijeme prvog uzorkovanja; T_2 - vrijeme drugog uzorkovanja; HK - hemokultura; UK - urinokultura; BAL - bronhoalveolarni lavat; WBC - broj leukocita; CRP - C reaktivni protein; PCT - prokalcitonin; IL-6 - Interleukin 6; TNF- α – faktor nekroze tumora alfa; Δ (delta) - razlika prvog u odnosu na drugi dan; n - broj ispitanika.

Poređenjem vrijednosti inflamatornih parametara u odnosu na različite grupe septičnih ispitanika, analiziranih na osnovu hemokulture, potvrđena je statistički značajna razlika u vrijednosti IL-6 u prvom danu (T_1). Nakon provedene dodatne analize, korišćenjem Mann Whitney U testa, zaključeno je da je postojala statistički značajna razlika u medijani IL-6 prvog dana između grupe NC i GP grupe ($U = 308,000$; $p = 0,005$). Ispitanici GP grupe su imali

statistički značajno veće vrijednosti IL-6 u T₁ u poređenju sa grupom NC. Za ostale posmatrane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 35.).

U Tabeli 36. prikazane su vrijednosti Hcy i vitamina B₁₂ u dva vremena (T₁ i T₂), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena. Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 36. Vrijednosti Hcy i vitamina B₁₂ kod različitih grupa septičnih ispitanika analiziranih na osnovu hemokulture

Parametar	GP grupa (n = 18)	GN grupa (n = 8)	NC grupa (n = 61)	p
Hcy T ₁ (median, IQR)	7,95 (5,85)	13,3 (13,45)	8,65 (5,52)	0,003
Hcy T ₂ (median, IQR)	7,75 (5,55)	11,5 (12,20)	9,85 (7,30)	0,343
Δ Hcy (median, IQR)	0,30 (4,73)	0,95 (10,48)	0 (5,03)	0,593
Vitamin B ₁₂ T ₁ (median, IQR)	1013 (1223)	433,5 (2925)	963,5 (1347)	0,414
Vitamin B ₁₂ T ₂ (median, IQR)	1273 (1483)	744 (2991)	695 (1080)	0,606
Δ B ₁₂ vit. (median, IQR)	-41 (303)	-65,5 (338,75)	34,5 (504,75)	0,017

IQR - interquartile range; T₁ - vrijeme prvog uzorkovanja; T₂ - vrijeme drugog uzorkovanja; Hcy - homocistein; Δ (delta) - razlika prvog u odnosu na drugi dan; GP - Gram pozitivne, GN - Gram negativne; NC - negativna kultura; n - broj ispitanika.

Poređenjem vrijednosti Hcy i vitamina B₁₂ sa različitim grupama septičnih ispitanika, klasifikovanih na osnovu rezultata HK, potvrđena je statistički značajna razlika u vrijednostima Hcy prvog dana (T₁) kao i u razlici vitamina B₁₂ (Δ B₁₂). Na osnovu rezultata Kruskal-Wallis testa došlo se do zaključka da postojala statistički značajna razlika, u srednjem rangju Hcy prvog dana (H = 11,821; p = 0,003). Dodatnom analizom, Mann Whitney U testom, došlo se do zaključaka da su ispitanici iz GN grupe imali veće vrijednosti Hcy u prvom danu, u srednjem rangju, u poređenju sa grupom NC (U = 7500; p = 0,000) i GP grupom (U = 7500; p = 0,000). Grupe GP i NC se nisu međusobno statistički značajno razlikovale (U = 429,500; p = 0,162). Na osnovu rezultata Kruskal-Wallis testa došli smo do zaključka da je postojala statistički značajna razlika u srednjem rangju promjene nivoa B₁₂ vitamina između prvog i drugog dana (Δ B₁₂) (H = 8,113; p = 0,017). Dodatnom analizom, Mann Whitney U testom, došlo se do zaključka da su ispitanici iz GP grupe imali statistički značajnu razliku u srednjem rangju promjene B₁₂ vitamina između prvog i drugog dana (Δ B₁₂) u poređenju sa grupom NC (U = 3 62,500; p = 0,029). GN grupa je pokazala statistički značajnu razliku u srednjem rangju

promjene B₁₂ vitamina između prvog i drugog dana (ΔB_{12}) u poređenju sa grupom NC (U = 128,500; p = 0,030). Za ostale posmatrane parametre nije potvrđena statistički značajna razlika (Tabela 36.). Takođe, mjerene su vrijednosti vWF, ali statistička obrada podataka nije sprovedena jer su sve izmjerene vrijednosti bile unutar referentnog opsega, što ukazuje na odsustvo značajnih varijacija koje bi zahtijevale dalju analizu.

U Tabeli 37. prikazane su vrijednosti prooksidanata u dva vremena (T₁ i T₂), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: TBARS; NO₂⁻; H₂O₂; O₂⁻. Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 37. Biohemijske vrijednosti prooksidanata kod različitih grupa septičnih ispitanika analiziranih na osnovu hemokulture

Parametar	GP grupa (n = 18)	GN grupa (n = 8)	NC grupa (n = 61)	p
TBARS T ₁ (median, IQR)	2,57 (0,14)	2,54 (0,43)	2,59 (0,17)	0,133
TBARS T ₂ (median, IQR)	2,65 (0,15)	2,76 (0,26)	2,69 (0,17)	0,400
Δ TBARS ($\pm$ SD)	-0,14 $\pm$ 0,19	-0,34 $\pm$ 0,25	-0,12 $\pm$ 0,24	0,569
NO ₂ ⁻ T ₁ ($\pm$ SD)	3,21 $\pm$ 0,18	3,18 $\pm$ 0,19	3,13 $\pm$ 0,23	0,426
NO ₂ ⁻ T ₂ (median, IQR)	3,28 (0,18)	3,19 (0,14)	3,22 (0,21)	0,222
Δ NO ₂ ⁻ ($\pm$ SD)	-0,07 $\pm$ 0,18	-0,01 $\pm$ 0,24	-0,09 $\pm$ 0,27	0,637
H ₂ O ₂ T ₁ ($\pm$ SD)	3,18 $\pm$ 0,16	3,04 $\pm$ 0,14	3,12 $\pm$ 0,20	0,209
H ₂ O ₂ T ₂ ($\pm$ D)	3,17 $\pm$ 0,18	3,13 $\pm$ 0,14	3,15 $\pm$ 0,19	0,842
Δ H ₂ O ₂ ($\pm$ SD)	0,01 $\pm$ 0,26	-0,09 $\pm$ 0,19	-0,02 $\pm$ 0,29	0,699
O ₂ ⁻ T ₁ (median, IQR)	8,57 (1,07)	8,24 (0,91)	8,24 (1,32)	0,448
O ₂ ⁻ T ₂ (median, IQR)	8,24 (1,32)	7,91 (1,24)	8,24 (0,99)	0,674
Δ O ₂ ⁻ (median, IQR)	0 (1,48)	0,33 (1,24)	-0,33 (1,98)	0,344

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T₁ - vrijeme prvog uzorkovanja; T₂ - vrijeme drugog uzorkovanja; TBARS - reaktivne supstance tiobarbiturne kiseline; H₂O₂ - vodonik peroksid; O₂⁻ - superoksid anjon radikal; NO₂⁻ - nitriti; Δ - delta (razlika prvog u odnosu na drugi dan); GP - Gram pozitivne, GN - Gram negativne; NC - negativna kultura; n - broj ispitanika.

Poređenjem vrijednosti prooksidanata u odnosu na različite grupe septičnih ispitanika analiziranih na osnovu hemokulture, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 37.).

U Tabeli 38. prikazane su vrijednosti antioksidanasa u dva vremena (T_1 i T_2), kao i njihove razlike (Δ) u 2 posmatrana vremena i to za sljedeće parametre: SOD; CAT; GSH. Ukoliko se bilježio pozitivan predznak Δ riječ je o padu vrijednosti, a ukoliko je predznak negativan riječ je o porastu vrijednosti u drugom vremenu.

Tabela 38. Biohemijske vrijednosti antioksidanasa kod različitih grupa septičnih ispitanika analiziranih na osnovu hemokulture

Parametar	GP grupa (n = 18)	GN grupa (n = 8)	NC grupa (n = 61)	p
SOD T_1 (median, IQR)	16,28 (8,14)	24,42 (6,11)	24,42 (16,28)	0,129
SOD T_2 (median, IQR)	24,42 (8,14)	24,42 (8,14)	16,28 (8,14)	0,561
Δ SOD (median, IQR)	0 (0)	0 (8,14)	8 (14,25)	0,132
CAT T_1 ($\pm$ SD)	5,02 $\pm$ 2,07	5,96 $\pm$ 2,25	5,14 $\pm$ 2,04	0,522
CAT T_2 (median, IQR)	5,5 (4,13)	3,75 (2,94)	4 (2,75)	0,385
Δ CAT ($\pm$ SD)	-1,11 $\pm$ 2,66	1,65 $\pm$ 2,42	0,93 $\pm$ 2,61	0,212
GSH T_1 (median, IQR)	74977,4 (4483,05)	76536,72 (4353,11)	74717,51 (5392,65)	0,162
GSH T_2 (median, IQR)	72118,64 (3638,42)	72638,42 (6627,12)	72248,58 (3573,44)	0,965
Δ GSH (median, IQR)	3768,36 (6692,09)	4028,25 (4353,11)	1949,15 (5782,49)	0,133

IQR - interquartile range; SD - standardna devijacija; T_1 - vrijeme prvog uzorkovanja; T_2 - vrijeme drugog uzorkovanja; SOD - superoksid dizmutaza; CAT - katalaza; GSH - glutation; Δ ; Δ - delta (razlika prvog u odnosu na drugi dan); GP - Gram pozitivne, GN - Gram negativne; NC - negativna kultura; n - broj ispitanika.

Poređenjem vrijednosti antioksidanasa u odnosu na različite grupe septičnih ispitanika, analiziranih na osnovu hemokulture, nije potvrđena statistički značajna razlika za posmatrane parametre (Tabela 38.).

5.8. Rezultati multivarijantne logističke regresione analize za prognozu preživljavanja

U Tabeli 39. prikazani su rezultati multivarijantne logističke regresione analize značajnih prognostičkih parametara za preživljavanja ispitanika.

Tabela 39. Multivarijantna logistička regresiona analiza za prognozu preživljavanja septičnih ispitanika

Parametar	B	Std. Error	Beta	T	p
Konstanta	1,682	0,316		5,319	0,000
Dob	-0,008	0,004	-0,241	-2,250	0,027
SOFA	0,002	0,020	0,010	0,081	0,936
QSOFA	-0,178	0,124	-0,163	-1,434	0,156
T0	0,009	0,039	0,036	0,230	0,819
T3	0,030	0,057	0,099	0,523	0,602
T6	-0,142	0,062	-0,289	-2,293	0,025
T12	0,094	0,070	0,256	1,356	0,179
T24	-0,108	0,057	-0,318	-1,894	0,062
IL-6 (T ₁)	0,001	0,001	0,093	0,754	0,453
IL-6 (T ₂)	-0,001	0,001	-0,137	-0,991	0,325

SOFA - Sequential Organ Failure Assessment; qSOFA - quick Sequential Organ Failure Assessment, T0 - laktat u trenutku dijagnostikovanja sepse; T3 - laktat 3 sata nakon dijagnostikovanja sepse; T6 - laktat 6 sati nakon dijagnostikovanja sepse; T12 - laktat 12 sati nakon dijagnostikovanja sepse; T24 - laktat 24 sata nakon dijagnostikovanja sepse; IL-6 – Interleukin 6; T₁ - vrijeme prvog uzorkovanja; T₂ - vrijeme drugog uzorkovanja.

Za procjenu uticaja različitih kliničkih i laboratorijskih parametara na preživljavanje septičnih pacijenata korišćena je multivarijantna logistička regresiona analiza. Model je sadržao 10 varijabli (SOFA i qSOFA skor, starost ispitanika, vrijednosti laktata u T0, T3, T6, T12 i T24, IL-6 u T₁ i IL-6 u T₂). Rezultati analiza su pokazali da su starosna dob i vrijednosti laktata izmjerene 6 sati nakon postavljanja dijagnoze sepsa (T6) statistički značajni prediktori smrtnog ishoda. Laktat u T6 imao je najjači prediktivni značaj, sa negativnim i statistički značajnim regresionim koeficijentom ($B = -0,142$; $p = 0,025$), što ukazuje da su viši nivoi laktata u ovom vremenskom intervalu povezani sa smanjenom vjerovatnoćom preživljavanja. Starosna dob ispitanika, također, pokazuje statistički značajnu vrijednost u predviđanju smrtnog ishoda. Negativan i statistički značajan koeficijent sugerise da je viša starosna dob povezana sa smanjenom vjerovatnoćom preživljavanja septičnih ispitanika ($B = -0,008$, $p = 0,027$). Laktat

izmjeran 24h nakon postavljanju dijagnoze sepsa ima takođe negativan koeficijent i blizu je statističke značajnosti ($B = -0,108$, $p = 0,062$). SOFA skor ($B = 0,002$, $p = 0,936$), q SOFA skor ($B = -0,178$, $p = 0,156$), T0 ($B = 0,009$; $p = 0,819$), T3 ($B = 0,030$, $p = 0,602$), T12 ($B = 0,094$, $p = 0,179$), IL-6 1. dan ($B = 0,001$, $p = 0,453$) i IL-6 2.dan ($B = -0,001$, $p = 0,325$) nemaju statistički značajnu vrijednost u predviđanju smrtnog ishoda kod septičnih ispitanika.

6. DISKUSIJA

6.1 Analiza demografskih i kliničkih karakteristika u odnosu na septične ispitanike

U ovo istraživanje uključeno je 87 septična ispitanika, od toga su 53 (60,9%) muškarci i 34 (39,1%) žene. U radu Min i saradnika navodi se studija Martina i saradnika u kojoj je zaključeno da je muški pol dobro poznat mogući faktor rizika za sepsu i septički šok, pri čemu je godišnji relativni rizik oboljevanja kod muškaraca za 1,3 puta veći u odnosu na žene [147]. Veća sklonost muškaraca ka razvoju sepse i septičkog šoka uglavnom se objašnjava hormonalnim razlikama. Dostupne eksperimentalne i opservacione studije ukazuju da androgeni imaju imunodepresivno, a estrogeni imunostimulativno dejstvo. Ova saznanja dovela su do toga da se pol uzima u obzir prilikom proučavanja imunoloških i kardiovaskularnih odgovora u sepsi. Takođe, ovo je dovelo do ispitivanja mogućih terapijskih efekata baziranih na tome, poput upotrebe antagonista androgenih receptora ili preparata sa estrogenim efektima kao potencijalno dodatne terapije, mada još uvijek nema dovoljno jakih dokaza o njihovoj kliničkoj efikasnosti. Sa druge strane, hormonalne razlike ipak ne uspijevaju potpuno da objasne razliku u učestalosti sepse među polovima, s obzirom da ona postoji i u neonatalnoj i pedijatrijskoj populaciji što ukazuje na moguću genetsku osnovu polne razlike, što predstavlja dodatni istraživački izazov [148]. U aktuelnom istraživanju, najstariji ispitanik je imao 87 godina i pripadao je grupi GP, a najmlađi 22 godine i pripadao je GN grupi septičnih ispitanika. Prosječna starost ispitanika u ovom istraživanju iznosila je $62,31 \pm 14,69$ godina, što ukazuje da je analizirana populacija pretežno starije životnog doba, ali sa izraženim rasponom starosti. Ovi rezultati su u skladu sa nalazima trogodišnje studije Wenga i saradnika (2017 - 2019) gdje se ukazuje na zabrinjavajuću činjenicu da starija populacija, konkretno osobe starije od 65 godina, čine čak 57,5% slučajeva sepse. Ovaj nalaz jasno ukazuje na to da su stariji pacijenti posebno ranjivi na razvoj teških infekcija koje mogu dovesti do sepse [149]. Sepsa pogađa stariju populaciju zbog kombinacije fizioloških, imunoloških i komorbiditetnih faktora. Liječenje sepse kod starijih pacijenata je izazovnije i zahtijeva sveobuhvatno razumijevanje predisponirajućih faktora i povećanu sumnju da bi se dijagnostikovala infekcija i procijenio rizik od iznenadnog pogoršanja sepse. SOFA skor u medijani u našem istraživanju skor iznosi 6 (4). Kod septičnih ispitanika u aktuelnoj studiji, SOFA skor se kretao u rasponu od 2 do 19 bodova. Ovaj podatak ilustruje širok spektar težine organske disfunkcije među pacijentima sa sepsom. Najniži zabilježeni SOFA skor od 2 boda ukazuje na rani ili blaži oblik disfunkcije,

dok najviši SOFA skor od 19 bodova odražava ozbiljno, višesistemsko otkazivanje organa. Raspon skorova potvrđuje kliničku raznolikost sepsa i značaj SOFA skora kao objektivnog alata za praćenje progresije bolesti i donošenje terapijskih odluka. Od ukupno 87 ispitanika, većina, njih 62 (71,3%) je imalo qSOFA skor od 2 boda, dok je preostalih 25 (28,7%) ispitanika imalo maksimalan qSOFA skor od 3 boda. Ovi nalazi ukazuju na to da je kod najvećeg broja ispitanika zabilježena visoka klinička sumnja na sepsu već pri prijemu s obzirom na to da $qSOFA \geq 2$ sugerise na povećan rizik od lošeg kliničkog ishoda i potrebe za hitnom kliničkom intervencijom. Posebno je značajno to što je gotovo trećina ispitanika imala maksimalan qSOFA skor, što ukazuje na ozbiljnu kliničku sliku pri prvom kontaktu sa zdravstvenim sistemom. Ova raspodjela potvrđuje korisnost qSOFA skora kao jednostavnog i brzog alata za inicijalno prepoznavanje sepsa u vanbolničkom ili hitnom bolničkom okruženju. U posmatranom uzorku, 40 ispitanika (45,97%) je na prijemu u JIL bilo na inotropnoj podršci, što ukazuje na visoku učestalost hemodinamske nestabilnosti među našim ispitanicima. Ovaj podatak dodatno potvrđuje težinu kliničke slike, jer potreba za inotropima obično odražava prisustvo septičkog šoka ili izraziti kardiovaskularni kolaps. Takođe, čak 71 ispitanik (81,6%) je zahtijevao mehaničku ventilaciju (MV), što ukazuje na to da je većina pacijenata imala tešku respiratornu insuficijenciju kao posljedicu sepsa. Proječan broj dana provedenih na MV iznosio je $7,84 \pm 8,89$ dana. Najduži broj dana provedenih na MV je iznosio 62 dana, a najkraći 2 dana. Visok procenat ispitanika (81,6%) koji su zahtijevali MV ukazuje na teško kliničko stanje i visok stepen organske disfunkcije u ispitivanoj populaciji. Prosječna dužina hospitalizacij u JIL-u, u našem istraživanju, iznosila je $12,97 \pm 14,83$ dana. Najduži broj dana provedenih u JIL-u iznosio je 77 dana, a najkraći 2 dana. U prospektivnoj studiji rađenoj u Univerzitetskoj bolnici u Jordanu, u glavnom gradu Amanu, uključeni svi odrasli pacijenti koji su primljeni u JIL između juna 2020. do 2021. Ovom studijom ustanovljeno je da su trajanje hospitalizacije u JIL-u i stopa mortaliteta značajno veći kod pacijenata sa sepsom u poređenju sa ostalim pacijentima koji su hospitalizovani na intenzivnoj njezi [150]. Od ukupnog broja ispitivanih, septički šok je dijagnostikovao kod 50 ispitanika, što predstavlja 57,5% uzorka. Svake godine sepsa i septički šok odnesu milione života širom svijeta i predstavljaju značajan globalni zdravstveni problem. Nedostaju savremeni podaci o globalnoj epidemiologiji septičkog šoka, što onemogućava procjenu tereta septičkog šoka iz globalne perspektive. Od ukupnog broja ispitivanih, 49 (56,3%) ispitanika je preživjelo, a 38 (43,7%) je umrlo. Sepsa je i dalje glavni uzrok mortaliteta širom svijeta, uprkos poboljšanju medicinske njege i povećanju svijesti o sepsi [27]. SZO je sepsu proglasila globalnim zdravstvenim problemom i kao značajnu prijetnju javnom zdravlju. U skladu sa tim, SZO se aktivno zalaže za koordinisane mjere i strategije koje

imaju za cilj smanjenje učestalosti sepse te poboljšanja prevencije, dijagnostike i liječenja ove teške bolesti [151]. Kada je riječ o sepsi, postoje značajne regionalne razlike u incidenciji i mortalitetu. Najveće stope mortaliteta su u zemljama nižeg i srednjeg dohotka. Veća incidencija sepse u zemljama nižeg i srednjeg dohotka uzrokovana je brojnim faktorima, uključujući ograničen pristup zdravstvenoj zaštiti, odgođenu dijagnozu i liječenje, te dominaciju zaraznih bolesti [152]. Ovi nalazi su u skladu sa rezultatima našeg istraživanja, što dodatno ukazuje na izazove sa kojima se suočavamo kao zemlja u razvoju, gde je pristup zdravstvenoj zaštiti i resursima često ograničen, što može uticati na ishod bolesti. Analizirajući vrijednosti laktata najviša medijana laktata među preživjelim ispitanicima iznosila je 1,55 mmol/L, a najniža 0,9 mmol/L. Među ispitanicima sa nepovoljnim ishodom liječenja, najviša medijana laktata iznosila je 2,27 mmol/L, a najniža 1,61 mmol/L. Na osnovu dobijenih rezultata konstatujemo da su u aktuelnom istraživanju vrijednosti laktata veće u grupi umrlih u poređenju sa grupom preživjelih, što je u skladu sa rezultatima drugih studija [153,154,155]. U kliničkoj praksi, ne možemo se pretjerano oslanjati na laktate u određivanju težine sepse. Blago povišeni nivoi laktata mogu takođe napredovati u tešku sepsu ili septički šok dok pretjerano visoki nivoi laktata mogu ukazivati i na neseptičke infekcije. Ovi složeni klinički scenariji zahtijevaju fleksibilniji i nijansiraniji pristup procjeni [155].

6.2 Ispitivani parametri u odnosu na tip infekcije

Ova studija obuhvatala je 87 ispitanika, koji su na osnovu mikrobioloških analiza svrstani u četiri grupe. I grupa - Gram-pozitivne (GP) bakterije, uključivala je 30 ispitanika (34,5%). II grupa - Gram-negativne (GN) bakterije, uključivala je 35 ispitanika (40,2%), III grupa - mješovite infekcije Gram-pozitivnim i Gram-negativnim (GP/GN) bakterijama, uključivala je 3 ispitanika (3,4%) i IV grupa - negativna kultura (NC), uključivala je 19 ispitanika (21,8%). Rezultati naše studije ukazuju na veću učestalost infekcija GN bakterijama u odnosu na infekcije GP bakterijama. Prema podacima 24-satne studije prevalencije sprovedene u 1150 centara (88 zemlja) tokom 2017. godine, od ukupno 15 202 ispitanika, 5259 je imalo najmanje jednu pozitivnu mikrobiološku kulturu. Među izolovanim patogenima, 67% su činile GN bakterije, 37% GP bakterije dok je kod 16% ispitanika identifikovana gljivična infekcija [156]. Studija SOAP (*engl. Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients*), objavljena 2006. godine, sprovedena u JIL-u u 24 evropske države, pokazala je da je odnos između GP i GN izolata kod septičnih ispitanika praktično podjednak [45]. Martin i saradnici su objavili analizu najčešćih izolata u bolnicama SAD u periodu od 1979. do 2000. godine i ustanovili da su GN bakterije dominirale do 1987. godine dok je nakon toga zabilježen porast GP bakterija. Međutim,

učestalost GN bakterija ponovo se povećava od 2000. godine, pri čemu GP bakterije i dalje dominiraju izolatima [37]. Polimikrobna infekcija je scenario koji treba uzeti u obzir jer se u današnjim studijama pokazale kao faktor rizika za razvoj teške sepse [157]. Specifičnost naše studije ogleda se u pojavi mješovitih infekcija (GP/GN) koje su potvrđene samo kod 3 ispitanika (3,4%). Neke studije su uključivale samo ispitanike s jednom pozitivnom kulturom, dok su druge uključivale ispitanike sa polimikrobnom (mješanom) infekcijom, što je slučaj u našoj studiji. U ovom istraživanju kod 19 ispitanika (21,8%) mikrobiološke analize nisu identifikovale uzročnika infekcije, te su ti ispitanici svrstani u grupu sa negativnom kulturom (NC). Negativna bakterijska kultura može se objasniti optimalno započetom antimikrobnom terapijom prije uzorkovanja, što je u skladu sa literaturnim podacima prema kojima se kod jedne trećine septičnih pacijenata ne identifikuje patogen [158]. Poređenjem starosne dobi sa tipom infekcije, u našem istraživanju utvrđeno je da su ispitanici iz GN grupe imali najvišu medijanu starosne dobi (69 godina), dok su ispitanici GP/GN grupe bili najnižu medijanu starosne dobi (61 godina). Ova razlika može ukazivati na potencijalnu povezanost između starosti i mikrobiološkog profila infekcije, iako bi za preciznije zaključke bila potrebna veća studijska populacija. Mada su neka istraživanja pokazala da pol može uticati na tip infekcije i imunološki odgovor, naši rezultati nisu potvrdili statistički značajnu povezanost između pola i tipa infekcije. Retrospektivna studija, Guo sa saradnicima, analizirala je 6584 septična pacijenata i ustanovila veću učestalost sepse među osobama muškog pola, što su potvrdile i druge studije [159,160]. Četvorogodišnja studija Juliana i saradnika, sprovedena na 13 808 ispitanika, takođe je pokazala veću prevalenciju sepse među osobama muškog pola. Površni pregled literature o razlozima za veću incidenciju sepse kod muškaraca nego kod žena otkriva da su uzroci vjerovatno višefaktorni, iako će faktori, a među njima ponašanje, fiziološki i imunološki faktori, vjerojatno igrati ulogu [160,161,162]. Rezultati našeg istraživanja nisu u potpunosti u skladu sa ovim nalazima, što može biti posljedica različitih metodoloških pristupa, veličine uzorka, komorbiditeta i dr. U našem istraživanju, vrijednosti SOFA skora analizirane su korišćenjem medijane kao mere centralne tendencije, s obzirom na asimetričnu raspodjelu podataka. Medijanski SOFA skor bio je veći u grupi pacijenata sa mješovitom infekcijom (GP/GN), dok je manji zabilježen u GN grupi. Ovi nalazi ukazuju na potencijalnu razliku u težini kliničke slike između grupa, iako statistički značajna povezanost nije potvrđena. Suprotno tome, metaanaliza koju su sproveli Tang i saradnici, pokazala je da je SOFA skor značajno viši u GN grupi nego u GP grupi ispitanika [163]. Takođe, poredeći qSOFA 2 i qSOFA 3 boda sa tipom infekcije, nije potvrđena statistički značajna razlika u našem istraživanju. Odsustvo statističke značajnosti sugerise da se težina kliničke slike ne može predvidjeti samo na osnovu tipa

infekcije. Na temelju analize demografskih i kliničkih karakteristika, kao i krajnjih ishoda liječenja u odnosu na tip infekcije, potvrđena je statistički značajna razlika u pogledu septičkog šoka i dužine hospitalizacije u JIL-u. Analiza rezultata je pokazala da je GP/GN grupa imala najmanje ispitanika sa dijagnozom septičkog šoka ($p = 0,001$). Međutim, treba napomenuti da je broj ispitanika u ovoj grupi bio izuzetno mali ($n = 3$), što značajno ograničava mogućnost donošenja čvrstih zaključaka. U retrospektivnoj studiji Guo i saradnici ispitivani su septični pacijenti hospitalizovani u tercijarnom akademskom medicinskom centru u Bostonu i ustanovljena je duža hospitalizacija ispitanika iz GN grupe u poređenju sa GP grupom [159]. U metaanalizi Tang i saradnici, ustanovljena je veća incidencija septičkog šoka kod pacijenata sa GN infekcijama u poređenju sa onima koji imaju GP infekcije, što je dijelom u skladu sa rezultatima našeg istraživanja (36% vs. 38%) [163]. Od ukupno 87 ispitanika, 71 ispitanik (81,6%) je mehanički ventiliran. Najduže trajanje MV zabilježeno je kod ispitanika iz GN grupe (62 dana), a najkraće kod ispitanika GP/GN grupe (4 dana). Iz ovih podataka može naslutiti da infekcije izazvane GN bakterijama mogu dovesti do težeg i dugotrajnijeg respiratornog oštećenja. Ove nalaze potrebno je interpretirati sa oprezom, s obzirom na mogući uticaj drugih faktora kao što su komorbiditeti, početno stanje pacijenta, brzina uvođenja terapije i dr. Kada se analizira prosječno trajanje MV po grupama, najduže su mehanički ventilirani ispitanici iz GN grupe ($9,53 \pm 11,28$), a najkraće ispitanici iz GP/GN grupe ($2,33 \pm 1,53$). Iako ove razlike sugerišu na potencijalno teži respiratorni tok kod pacijenata sa GN infekcijama, u našem istraživanju nije potvrđena statistički značajna povezanost između tipa infekcije i trajanja MV. Ovo ukazuje na to da trajanje MV zavisi od niza kliničkih faktora, a ne isključivo od mikrobiološke etiologije. Najduža hospitalizacija u JIL-u trajala je 77 dana i to kod ispitanika sa polimikrobnom infekcijom (GP/GN), dok je najkraća hospitalizacija trajala 2 dana, što se odnosilo na sve ispitivane grupe. Analizirajući prosječno trajanje hospitalizacije u JIL-u, GP/GN grupa je hospitalizovana $27,67 \pm 42,74$ dana, GN grupa $16,51 \pm 16,61$ dana, GP/GN grupu $27,67 \pm 42,74$ i NC grupu $7,47 \pm 7,21$ dana. Analizom navedenih rezultata potvrđeno je postojanje statistički značajne razlike između navedenih grupa (GP, GN, GP/GN i NC) i to kada je u pitanju broj dana provedenih u JIL-u ($p = 0,045$). *Post hoc* analizom ustanovljeno je da su ispitanici GN grupe statistički značajno duži period proveli u JIL-u u odnosu na ispitanike iz grupe NC ($p = 0,005$). Ovaj nalaz sugerise da infekcije izazvane GN mikroorganizmima mogu biti povezane sa težim kliničkim tokom i produženom potrebom za intenzivnim nadzorom, što je u skladu sa prethodnim istraživanjima koja ukazuju na agresivniji klinički profil GN patogena. Tako je istraživanje sprovedeno u tercijarnom akademskom medicinskom centru u Bostonu potvrdilo da ispitanici sa GN infekcijama imaju najdužu hospitalizaciju u JIL-u [159].

Metaanaliza koju su sproveli Tang i saradnici (2003), obuhvatajući kineske i engleske studije, konstatovala je da ne postoji značajna razlika u stopi preživljavanja i dužine hospitalizacije u JIL-u između pacijenata sa sepsom uzrokovanim GN i GP bakterijama [163]. Kada smo poredili GP, GN, GP/GN i NC grupe ispitanika sa 28-dnevnim ishodom liječenja, naše istraživanje nije potvrdilo statistički značajnu razliku u stopi preživljavanja. Među preživjelim podjednako su zastupljeni ispitanici iz GP i GN grupe, po 18 ispitanika u obe grupe (36,7%). Nasuprot tome, među umrlima, najzastupljeniji su ispitanici iz GN grupe (17 ispitanika ili 44,7%), što može ukazivati na potencijalnu povezanost GN infekcija sa lošijim kliničkim ishodom, iako ta razlika nije dostigla statističku značajnost. Ovi nalazi ukazuju na potrebu za dodatnim istraživanjima sa većim uzorkom, kako bi se jasnije sagledala uloga mikrobiološke etiologije u predikciji kratkoročnog ishoda liječenja kod sepse. Retrospektivna studija zasnovana na podacima iz online baze pacijenata hospitalizovanih u tercijarnom akademskom medicinskom centru u Bostonu konstatovala je da je 28-dnevna stopa smrtnosti viša kod pacijenata sa GP nego kod pacijenata sa GN infekcijama što nije u skladu sa rezultatima naše studije [159]. S druge strane, u istraživanju Tanga i saradnika, ustanovljeno je da u sepsi uzrokovanoj GN i GP bakterijama nema statistički značajne razlike kada je u pitanju stopa preživljavanja [163]. Lipopolisaharidi (LPS) su važne komponente vanjske membrane GN bakterija koje uzrokuju bolesti i disfunkciju organa. GP patogeni mogu uzrokovati oštećenje organa oslobađanjem egzotoksina i drugih bakterijskih komponenti, kao što su peptidoglikani i lipoteihoične kiseline, koje takođe mogu uzrokovati sistemsku upalu. GP i GN bakterije su različite vrste bakterija i njihovi patogeni toksini su različiti, ali obje vrste bakterija mogu izazvati upalu u tijelu i na kraju dovesti do disfunkcije organa i smrti. Uprkos tome, rezultati kineskih studija sprovedenih u periodu od 2013. do 2020. godine ukazuju da je mešovita infekcija (GP/GN) povezana sa većom smrtnošću u poređenju sa GP i GN infekcijama. Naši nalazi delimično su u skladu sa ovim rezultatima, ali zbog izuzetno malog broja ispitanika u GP/GN grupi (3 ispitanika), ne možemo sa sigurnošću ovo potvrditi. Potrebna su dodatna istraživanja na većem uzorku kako bi se bolje razumjela povezanost između mešovitih infekcija i ishoda liječenja [164]. U našem istraživanju analizirajući vrijednosti IL-6 u odnosu na tip infekcije, potvrđena je statistički značajna razlika u medijani IL-6 u prvom danu (T_1) ($p = 0,001$) i IL-6 u drugom danu (T_2) ($p = 0,040$). *Post hoc* analizom potvrđena je statistički značajna razlika tako da su vrijednosti IL-6 u prvom danu bile veće u GN grupi u poređenju sa GP grupom (48,94 vs. 20,96; $p = 0,001$). Takođe, vrijednosti IL-6 drugog dana bile su statistički značajno veće u GN grupi nego u GP grupi ispitanika (71,91 vs. 51,50; $p = 0,013$), što ukazuje na intenzivniji inflamatorni odgovor kod pacijenata sa GN infekcijama. Ostale grupe se ne razlikuju u vrijednosti IL-6 u prvom i drugom

danu. U studiji Vivasa i saradnika, ustanovljeno je da su nivoi IL-6 viši kod septičnih ispitanika sa GN infekcijom u poređenju sa septičnim ispitanicima sa GP infekcijom, što je u skladu sa rezultatima naše studije [115]. Metaanaliza Tang i saradnici, potvrdila je da su serumske koncentracije CRP-a, PCT-a, IL-6, i TNF- α više u GN grupi septičnih ispitanika nego u GP grupi septičnih ispitanika [163]. Međutim, u našem istraživanju, poredeći vrijednosti WBC, CRP-a, PCT-a i TNF- α sa grupama septičnih ispitanika kalifikovanih u grupe prema tipu infekcije, nije potvrđena statistički značajna razlika. Ovi rezultati sugerišu da iako metaanalize i prethodna istraživanja ukazuju na moguću povezanost između tipa infekcije i nivoa inflamatornih biomarkera, u našem istraživanju to nije bio slučaj. Naš istražen i uzorak možda nije imao dovoljan broj ispitanika niti statističku snagu potrebnu za uočavanje tih razlika. Poredeći vrijednosti prooksidanata sa ispitivanim grupama septičnih ispitanika, kalifikovanih u grupe prema tipu infekcije (GP, GN, GP/GN i NC), potvrđena je statistički značajna razlika u vrijednosti ΔO_2^- ($p = 0,029$). *Post hoc* analizom potvrđeno je da su ispitanici GN grupe imali značajnije povećanje nivoa O_2^- (ΔO_2^-) u odnosu na GP (0,33 vs. 0; $p = 0,034$) i GP/GN grupu (0,33 vs. 1,32; $p = 0,029$). Grupa ispitanika NC imala je značajnije povećanje nivoa O_2^- (ΔO_2^-) u odnosu na GP grupu (-0,82 vs. 0; $p = 0,041$) i GP/GN grupu (-0,82 vs. 1,32; $p = 0,048$). Jači oksidativni stres, koji je zabilježen u GN i NC grupama, može ukazivati na veći stepen oštećenja organizma izazvan infekcijom, što bi moglo biti povezano s lošijim ishodima liječenja ili potrebom za intenzivnijim terapijskim intervencijama. Dodatna istraživanja mogla bi pomoći u boljem razumjevanju mehanizama oksidativnog stresa i njegovoj povezanosti sa tipovima infekcija. Sepsa je kompleksan patofiziološki proces koji uključuje disbalans između prooksidanata i antioksidanasa. Poredeći vrijednosti antioksidanasa sa GP, GN, GP/GN i NC grupama septičnih ispitanika, u našem istraživanju, nije potvrđena statistički značajna razlika, što sugerise da oksidativni stres može biti globalno prisutan kod svih ispitanika, bez obzira na specifičnu etiologiju infekcije. Međutim, činjenica da su vrijednosti antioksidanasa prvog dana bile više u GN grupi ispitanika, može ukazivati na specifične odgovore organizma na GN infekcije, koje su poznate po izraženijem inflamatornom odgovoru i intenzivnom stvaranju ROS-a. Kada govorimo o dinamici antioksidanasa, najveći pad vrijednosti se uočava u GN grupi za antioksidanse CAT i GSH, dok se vrijednosti antioksidansa SOD nisu mijenjale u ovoj grupi. Slično, u grupi GP, vrijednosti analiziranih antioksidanasa (SOD, CAT i GSH) drugog dana pokazivale su opadajući trend, također bez statistički značajne razlike. Dinamika pada SOD uočena je u grupama GP, GP/GN i NC. SOD je ključni enzim potreban za održavanje redoks potencijala ćelija. Ima vitalnu ulogu u zaštiti normalnih ćelija od ROS-a proizvedenih tokom mnogih infekcija intracelularnih patogena. SOD, kao što smo ranije napomenuli, uklanja

višak O_2^- pretvarajući ih u H_2O_2 i O_2 [134]. U grupi GP sepse, porast nivoa je zabilježen za parametre TBARS, NO_2^- i H_2O_2 , a pad nivoa O_2^- , međutim, nijedna od navedenih promjena nivoa (Δ) nije imala statističku značajnost. U GN grupi ispitanika, povećanje vrijednosti prooksidanasa TBARS i NO_2^- izmjereno je drugog dana u odnosu na prvi ali bez statističke značajnosti. Vrijednosti O_2^- i H_2O_2 su ostale nepromijenjene i takođe, bez statističke značajnosti. U istraživanju Mihaljević i saradnici pronađeni su povišeni nivoi prooksidanata i značajno smanjene antioksidativne aktivnost, posebno SOD, kod kritično bolesnih septičkih ispitanika u poređenju sa kontrolnom grupom [165]. Ovi podaci se djelimično poklapaju sa rezultatima naše studije. Idealne okolnosti i u ovom istraživanju bi bile da su vrijednosti prooksidanata i antioksidanasa mjerene za svakog pacijenta prije početka sepse, što bi omogućilo da se sa utvrđenim vrijednostima uporedi redoks stanje tokom sepse. Međutim, ovo je bilo neizvodljivo, jer je teško predvidjeti koji će ispitanik razviti inflamatorni odgovor.

6.3 Ispitivani parametri u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja

Poredeći demografske i kliničke karakteristike u odnosu na krajnji ishod liječenja, potvrđena je statistički značajna razlika u starosnoj dobi i SOFA skor. Analizom dobijenih rezultata potvrđeno je da je medijana starosne dobi veća u grupi umrlih u poređenju sa grupom preživjelih ispitanika (69,50 vs. 58,50; $p = 0,001$). Korišćenje medijane kao mjere centralne tendencije omogućilo je preciznije sagledavanje raspodjele starosne dobi, posebno u slučajevima sa asimetričnom raspodjelom podataka. Rezultati našeg istraživanja u skladu su sa rezultatima drugih istraživanja [166,167,168]. U našoj studiji nije uočena statistički značajna razlika poredeći pol i ishoda liječenja. Pojedine eksperimentalne studije stalno su pokazivale prednost u preživljavanju i zaštitni efekat polnih hormona kod osoba ženskog pola. Kod ljudi, međutim, izvještaji o polu i mortalitetu pokazali su oprečne rezultate. Neka istraživanja bilježe višu stopu mortaliteta kod osoba ženskog pola [169,170]. Druga istraživanja ukazuju na višu stopu mortaliteta kod osoba muškog pola [147]. Međutim, pojedine studije nisu ustanovile razliku u stopi preživljavanja poredeći osobe muškog i ženskog pola [171]. Rezultati naše studije pokazali su statističku značajnost poredeći vrijednosti SOFA skor sa krajnjim ishodom liječenja. Medijana vrijednost SOFA skora bila je veća u grupe umrlih u poređenju sa grupom preživjelih ispitanika (8 vs. 6; $p = 0,035$). Ovaj nalaz potvrđuje da je viši SOFA skor, koji odražava ozbiljnost organskog oštećenja, povezan sa lošijim ishodom liječenja pacijenata sa sepsom. Viši SOFA skor se obično koristi kao pokazatelj težine sepse i često se koristi za procjenu prognoze, a naši rezultati podržavaju njegove prediktivne sposobnosti. Ove informacije mogu biti korisne u klinici, jer pomažu u identifikaciji pacijenata sa većim rizikom

od mortaliteta, omogućujući pravovremeno prilagođavanje terapije. Rezultati našeg istraživanja u skladu su sa nalazima drugih istraživača [172,173]. Kada smo poredili qSOFA skor sa grupama preživjelih i umrlih ispitanika, rezultati naše studije blizu su statističke značajnosti ($p = 0,06$). Veći procenat ispitanika bodovan sa qSOFA 2 boda nalazi se u grupi preživjelih, što se može tumačiti činjenicom da ova grupa ima lakšu kliničku sliku i povoljniji ishod liječenja (79,6% vs. 20,4 %). Upotrebu qSOFA su odobrila mnoga naučna društva, a mnoge studije su qSOFA skor identifikovale kao snažan prediktor smrtnosti i otkazivanja organa [174,175,176]. Kada smo poredili upotrebu inotropa, trajanje MV i dužinu hospitalizacije u JIL-u sa 28-dnevnim ishodom liječenja, u našem istraživanju nije uočena statistički značajna razlika. Kada smo poredili vrijednosti zapaljenskih parametara u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja zabilježena je statistički značajna razlika u vrijednosti IL-6 u drugom danu (T_2) i Δ IL-6. Vrijednosti medijane IL-6 drugog dana su značajno veće u grupi umrlih u poređenju sa grupom preživjelih ispitanika (70,48 vs. 50,43; $p = 0,003$). Poredeći medijane razlike IL-6 prvi u odnosu na drugi dan (Δ IL-6), u našem istraživanju zabilježen je značajniji porast IL-6 u grupi umrlih ispitanika (-32,57 vs. -14,45; $p = 0,012$). Ovi rezultati dodatno podržavaju upotrebu IL-6 kao biomarkera za procjenu ozbiljnosti bolesti i praćenje terapijskog odgovora u ranim fazama liječenja. Prospektivna studija Vivasa i saradnika potvrdila je značajne razlike u koncentraciji IL-6 u krvi tokom prvih 48 sati boravka u JIL-u kod ispitanika sa sepsom. Kod preživjelih septičnih ispitanika, koncentracija IL-6 se smanjivala tako da su 2. dana nivoi IL-6 dosegli smanjenje od 89,7 % u odnosu na početne nivoe. Stopa mortaliteta je bila viša kod ispitanika sa visokim nivoima IL-6 na prijemu u odnosu na pacijente sa niskim nivoima IL-6 na prijemu u JIL, ali bez statističke značajnosti [115]. Slični rezultati ustanovljeni su u studiji Liu i saradnici gdje su nivoi IL-6 značajno viši kod umrlih ispitanika u poređenju sa preživjelima [177]. Posmatrano sa stanovišta kliničke prakse, ovo sugerisa da bi monitoring nivoa IL-6 mogao pružiti dodatne informacije o evoluciji bolesti i odgovoru na liječenje, posebno u ranijim fazama bolesti. Poređenjem vrijednosti WBC, PCT i $TNF-\alpha$ u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja nije potvrđena statistički značajna razlika u aktuelnom istraživanju. Takođe, ni razlike u njihovim promjenama (Δ) nisu bile značajne. S druge strane, vrijednosti WBC, CRP-a i IL-6 bile su više kod umrlih ispitanika, i prvog i drugog dana, u poređenju sa preživjelima. Pored toga, izraženiji porast Δ IL-6 i Δ TNF- α zabilježen je u grupi umrlih, dok je veće smanjenje nivoa CRP-a i PCT-a uočeno kod preživjelih ispitanika. U studiji Singh i saradnici utvrđeno je da vWF ima važnu ulogu u patofiziologiji sepse. Istraživanje je pokazalo da su nivoi vWF antigena značajno viši kod septičkih pacijenata u poređenju s neseptičkim pacijentima i zdravim osobama. Najviše vrijednosti zabilježene su kod septičkih pacijenata koji nisu preživjeli, što

ukazuje na moguću povezanost povišenog vWF-a s nepovoljnim kliničkim ishodom [178]. Metaanaliza Lu i saradnici uključivala je 9 kohortnih studija (ukupno 771 ispitanika), procijenjujući povezanost nivoa Hcy u plazmi sa smrtnosti kod odraslih septičnih ispitanika i nije uočena statistička značajnost u koncentraciji Hcy između preživjelih i umrlih ispitanika [143]. Rezultati ove studije u skladu su sa našim rezultatima. Poredeći vrijednosti vitamina B₁₂ sa grupama preživjelih i umrlih septičnih ispitanika, u našem istraživanju primjećene su manje medijane vrijednosti ovog vitamina u grupi preživjelih ali bez statističke značajnosti (1. dan 777,5 vs. 1077,5; 2.dan: 670,5 vs. 975,5). Takođe, veći pad nivoa vitamina B₁₂ između prvog i drugog dana zabilježen je kod preživjelih ispitanika u poređenju sa grupom umrlih (9 vs. 6,5). Iako razlike u nivoima vitamina B₁₂ nisu dostigle statističku značajnost, primjetne su tendencije, koje sugerišu da bi niži nivoi vitamina B₁₂ mogli imati ulogu u poboljšanju ishoda kod sepsa. Ovaj nalaz može djelovati kontradiktorno, ali može odražavati adaptivni odgovor organizma preživjelih, koji možda koristi više vitamina B₁₂ za regeneraciju ćelija i jaču imunu reakciju. S obzirom na to da vitamin B₁₂ učestvuje u sintezi DNK i pravilnom funkcionisanju imunog sistema, njegova upotreba u borbi protiv teških infekcija može objašnjavati brži pad kod preživjelih, dok kod umrlih pacijenata smanjivanje ovih nivoa može biti manje izraženo zbog teže sposobnosti organizma da mobilizuje zalihe ovog vitamina. Ipak, u svijetlu ovih nalaza, važno je napomenuti da su potrebna dodatna istraživanja kako bi se utvrdila tačna uloga vitamina B₁₂ u sepsi i potencijalni mehanizmi kroz koje bi ovaj vitamin mogao uticati na ishod bolesti. Ukoliko se potvrdi da manje promjene nivoa vitamina B₁₂ doprinose težim ishodima, to bi moglo otvoriti nove mogućnosti za dijagnostiku i terapiju u klinici, uključujući praćenje i eventualnu modulaciju nivoa vitamina B₁₂ kod pacijenata sa sepsom. Sviri i saradnici 2011. godine sprovedli su studiju za procjenu nivoa vitamina B₁₂ kao nezavisnog faktora rizika ili markera za ishod kod kritično bolesnih pacijenata. U navedenoj studiji umrli pacijenti su imali više vrijednosti vitamina B₁₂ od preživjelih što je u skladu sa rezultatima našeg istraživanja [179]. Vitamin B₁₂ ima antiinflamatorne i antioksidativne osobine i igra brojne ključne uloge relevantne za sepsu. Ovi ključni efekti uključuju: 1) selektivnu inhibiciju iNOS i redukciju NO 2) smanjenu proizvodnju ROS-a kroz efekte koji štede glutacion, 3) povećanu sintezu acetilholina i poboljšanje holinergičkog antiinflamatornog puta, 4) stimulacija oksidativne fosforilacije, 5) pojačanje bakteriostaza i 6) kontrola aktivacije nuklearnog faktora-kapa B. Osim toga, vitamin B₁₂ ispoljava antivazoplegične efekte kroz vezivanje sumporovodika (endogeni vazodilatator) i povezan je sa smanjenim potrebama za vazopresorima u višestrukim izvještajima. Nivoi vitamina B₁₂ u pozitivnoj su korelaciji sa povećanim inflamatornim markerima, višim rezultatima disfunkcije organa i povećanom smrtnošću u opservacionim

studijama [180]. Naše istraživanje nije pokazalo statističku značajnu razliku u vrijednostima bazalnog profila prooksidanata (TBARS, NO_2^- , H_2O_2 i O_2^-) i antioksidanasa (SOD, CAT i GSH) poredeći grupe preživjelih i umrlih ispitanika. Ipak drugog dana veća dinamika porasta vrijednosti prooksidanata (TBARS, NO_2^- i H_2O_2) izraženija je u grupi umrlih. U našem istraživanju zabilježeno je da u grupi umrlih nije bilo dinamike za O_2^- , dok je u grupi preživjelih došlo do opadanja nivoa O_2^- . Ovaj nalaz može ukazivati na različite mehanizme oksidativnog stresa u zavisnosti od ishoda bolesti. Dok opadanje O_2^- u grupi preživjelih može ukazivati na smanjenje oksidativnog stresa ili bolji odgovor na terapiju, odsustvo promjene u grupi umrlih može ukazivati na nemogućnost regulacije oksidativnog stresa i slabiji odgovor organizma na terapijske intervencije. Istovremeno, u obe grupe, došlo je do smanjenja vrijednosti antioksidanasa (CAT i GSH), pri čemu je veći pad zabilježen u grupi umrlih. Veće smanjenje nivoa SOD zabilježeno je u grupi preživjelih. Ovi rezultati sugerisu da su septični ispitanici sa fatalnim ishodom bili izloženi većem oksidativnom stresu. Ipak, iako su svi ispitanici pokazali određenu dinamiku prooksidanata i antioksidanasa, određivanje ovih parametara u kontekstu sepse i preživljavanja nema prognostički značaj. U tom smislu, markeri oksidativnog stresa imaju prvenstveno akademski, ali ne i klinički značaj. Nasuprot tome, rezultati prospektivne studije sprovedene na Tajvanu tokom trogodišnjeg perioda ukazuju na to da nivo TBARS-a na prijemu može biti snažniji prognostički pokazatelj mortaliteta septičnih pacijenata u poređenju sa konvencionalnim biomarkerima infekcije [181]. U prospektivnoj studiji Ayala i saradnici ustanovljeno je da je povećanje nivoa ROS, uglavnom O_2^- , u prva 24h od prijema u JIL, predstavlja snažan prediktor dugotrajne smrtnosti [182].

6.4 Uticaj laktata i klirensa laktata na preživljavanje

Jedna od karakteristika kritične bolesti je upravo povišena koncentracija laktata u krvi. Najznačajnije savremene studije koje proučavaju septične pacijente, nedvosmisleno dokazuju da su povišene koncentracije laktata u krvi visoko udružene sa bolničkim mortalitetom [155,183,184]. U smjernicama Kampanje za preživljavanje od sepse iz 2016. godine naglašena je važnost praćenja laktata radi optimizacije terapije i poboljšanja ishoda liječenja septičnog pacijenta [29]. Analizom nivoa laktata u različitim vremenskim tačkama u odnosu na 28-dnevni ishod liječenja, uočena je statistički značajna razlika u vrijednosti laktata tokom praćenja u četiri vremenske tačke (T3, T6, T12 i T24). Izuzetak predstavlja vrijednost laktata izmjerena neposredno nakon dijagnostikovanja sepse (T0) kada nije potvrđena statistička značajnost. U našem istraživanju potvrđena je statistički značajna razlika u vrijednosti laktata izmjerenih 3 sata ($p = 0,016$), 6 sati ($p = 0,001$), 12 sati ($p = 0,004$) i 24 sata ($p = 0,000$) nakon

dijagnostikovanja sepse. Iz svega navedenog se zaključuje da je laktat veoma dobar prognostički biomarker mortaliteta u sepsi te da njegovo rano mjerenje omogućava pravovremeno prepoznavanje kritično oboljelih pacijenata. Poznavanje njegove vrijednosti, kako inicijalne tako i promjene koncentracije tokom vremena, pomaže u donošenju adekvatnih terapijskih odluka. Vincent i saradnici su velikom metaanalizom potvrdili da veza između smanjenja koncentracije laktata tokom vremena i preživljavanja nije ograničena samo na pacijente sa sepsom, već i na druge grupe kritično bolesnih pacijenata [185]. Optimalno vrijeme mjerenja laktata za septičke pacijente u JIL-u ostaje kontroverzno. Iako pojedine studije sugerišu da rano i ponovljeno mjerenje laktata može pomoći u razlikovanju septičnih pacijenata sa lošom prognozom od onih sa boljim preživljavanjem, još uvijek ne postoji konsenzus o učestalosti potrebnih mjerenja [186]. U studiji Tejaswini i saradnici zaključeno je da trend serumskog laktata u prvih 12, 24 i 48 sati ima statističku značajnost u predviđanju konačnog ishoda liječenja septičnih pacijenata [187]. Rezultati drugih studija takođe naglašavaju značaj praćenja laktata u kliničkoj procjeni ishoda sepse [185,188,189]. U studiji Lee i saradnici konstatovano je da 6-satni nivoi laktata imaju bolju prognostičku vrijednost od početnih nivoa laktata kod pacijenata sa sepsom i septičkim šokom. Rezultati navedene studije sugerišu da je naknadno mjerenje nivoa laktata ključno za liječenje sepse na bazi laktata, što je u skladu sa rezultatima naše studije [190]. Jedan od ciljeva ove studije je bio da se u svjetlu prethodnih saznanja o prognostičkom značaju laktata ispita, kako mjerenje vrijednosti laktata u pet različitih vremenskih tačaka tokom liječenja sepse, utiče na krajnji ishod liječenja. Na taj način se nastoji produbiti razumijevanje dinamike promjena koncentracije laktata kod kritično oboljelih, s posebnim fokusom na njegovu prognostičku vrijednost u krajnjem ishodu liječenja. Cilj nam je bio i da ispitamo uticaj klirensa laktata na krajnji ishod liječenja. Iako su nivoi serumskog laktata pokazali statistički značajnu povezanost sa 28-dnevnim ishodom liječenja, klirensi laktata nisu pokazali statistički značajnu povezanost u odnosu na krajnji ishod liječenja. Jedan od mogućih razloga za ovo može biti varijabilnost u individualnim odgovorima pacijenata na terapiju i različiti faktori koji utiču na eliminaciju laktata, poput funkcije jetre i mikrocirkulatornih poremećaja. Dok su povišeni nivoi laktata direktno povezani sa hipoperfuzijom i tkivnom hipoksijom, klirens laktata može zavisiti od mnogo šireg spektra faktora što može smanjiti njegovu pouzdanost kao izolovanog prognostičkog parametra. U studiji Lee i saradnici ustanovljeno je da 6-satni nivoi laktata imaju bolju prognostičku vrijednost od 6-satnog klirensa laktata, što dodatno naglašava značaj pravovremenog i ciljano usmjerenog praćenja ovog biomarkera. Za dalju validaciju ovih nalaza i bolju procjenu kliničke vrijednosti klirensa laktata, neophodno je sprovesti dodatne studije sa većim brojem ispitanika,

uz kontrolu većeg broja faktora koji mogu uticati na rezultate, kako bi se jasnije definisala njegova prognostička vrijednost za preživljavanje kod septičnih pacijenata. Ovo dodatno ukazuje na potrebu za opreznom interpretacijom ovog parametra u kliničkoj praksi [190].

6.5 Ispitivani parametri u odnosu na sepsu i septički šok

Poredeći demografske i kliničke karakteristike kao i krajnje ishode liječenja sa grupama sepsa i septički šok, potvrđena je statistički značajna razlika u vrijednosti SOFA i qSOFA skora kao i u krajnjem ishodu liječenja. Poredeći starosnu dob ispitanika sa grupama sepsa i septički šok, veća medijana starosne dobi zabilježena je u grupi septički šok (68 godina) u poređenju sa grupom sepsa (64 godine), međutim, nije potvrđena statistički značajna razlika. U eksperimentalnoj studiji na štakorima, Rani i saradnici su zaključili da starenje usporava oporavak od sepse, posebno kod mužjaka. Mlade ženke pacova imale su brži oporavak [191]. Važno je napomenuti da životinjski modeli imaju određena ograničenja u istraživanju sepse. Prvo, nijedan model ne može u potpunosti mogao odraziti složenost i raznolikost kliničku prezentaciju ovog sindroma. Stoga je pri dizajniranju istraživačkih protokola za sepsu na životinjskim modelima neophodno pažljivo planiranje. Smanjenje fiziološke varijabilnosti omogućava precizniju interpretaciju rezultata, što doprinosi boljem razumijevanju [192]. U našem istraživanju nije utvrđena statistički značajna razlika u distribuciji pola između grupa sepsa i septički šok, iako je zastupljenost muškaraca u obe grupe bila veća. Studija Rudd i saradnici (2020), objavljena u Lancetu, pruža najobuhvatniji pregled globalne, regionalne i nacionalne incidencije i mortaliteta od sepse u periodu od 1990. do 2017. godine. Jedan od ključnih nalaza jeste da iako je incidencija sepse bila nešto viša kod žena, mortalitet od sepse izraženiji je kod muškaraca [27]. Razlozi za to mogu biti višestruki, uključujući razlike u imunološkom odgovoru, veću zastupljenost komorbiditeta kod muškaraca, kao i potencijalne razlike u pristupu zdravstvenoj zaštiti. Rezultati našeg istraživanja potvrđuju statistički značajno veće vrijednosti medijane SOFA skora u grupi septički šok u odnosu na grupu sepsa (8 vs. 5; $p = 0,000$). Ove razlike ukazuju na ozbiljnost stanja pacijenata sa septičkim šokom u poređenju sa pacijentima koji imaju samo sepsu, što je u skladu sa prethodnim istraživanjima. Studija Schupp i saradnici, takođe, potvrđuje značajno više vrijednosti SOFA skora kod ispitanika sa septičkim šokom [193]. Rezultati našeg istraživanja potvrdili su statistički značajnu razliku u qSOFA skor. QSOFA skor od 2 boda bio je prisutan kod 35 ispitanika u grupi sepsa, dok je u grupi septički šok bio prisutan kod 27 ispitanika. S druge strane, qSOFA skor od 3 boda bio je prisutan samo kod 2 ispitanika u grupi sepsa, dok je u grupi septički šok bio prisutan kod 23 ispitanika ($p = 0,000$). Ovi nalazi ukazuju na veću učestalost qSOFA skora

od 3 boda u grupi septički šok, što sugerise ozbiljniji oblik bolesti i potrebu za intenzivnijim praćenjem i terapijom kod ovih pacijenata. U našem istraživanju, prosječna dužina hospitalizacije u JIL-u, izražena u danima, pokazuje dužu hospitalizaciju kod ispitanika iz grupe sepsa nego kod ispitanika iz grupe septički šok, međutim, bez statističke značajnosti (14,27 vs. 12,02). Ovo je možda i neočekivano jer je septički šok teže stanje i zahtijeva dugotrajniji intenzivni tretman. Studija Vivas i saradnici potvrdila je duži boravak u JIL-u kod ispitanika sa kliničkom slikom septičkog šoka u poređenju sa ispitanicima koji nemaju septički šok. Takođe, navedeno istraživanje konstatuje višu starosnu dob pacijenata iz grupe septički šok [115]. Ovaj nalaz je djelimično u skladu sa rezultatima našeg istraživanja. U našem istraživanju, veća medijana starosne dobi je zabilježena u grupi septički šok, ali pacijenti iz grupe sepsa su imali duži prosječnu dužinu boravka u JIL-u. Retrospektivna kohortna studija sprovedena u Francuskoj, koja je obuhvatila 737 147 pacijenata sa sepsom i 492 902 pacijenata sa septičkim šokom, pokazala je da je prosječno trajanje hospitalizacije u JIL-u u obje grupe iznosilo 8 dana [194]. U našem istraživanju, prosječno trajanje MV u danima bilo je duže u grupi sepsa nego u grupi septički šok ali bez statističke značajnosti (9,54 vs. 6,84). S druge strane, u studiji Shupp i saradnici, ustanovljena je statistički značajnu razliku u trajanju MV, pri čemu su ispitanici iz grupe septički šok duže zahtijevali MV u poređenju sa ispitanicima iz grupe sepsa [193]. U našem istraživanju nije uočena razlika pri poređenju GN i GP bakterije sa grupama sepsa i septički šok, mada je u obe grupe bila veća zastupljenost GN bakterija. Metaanaliza, Tang i saradnici potvrđuje višu incidenciju septičkog šoka u GN grupi u poređenju sa GP grupom septičnih ispitanika [163]. Rezultati aktuelnog istraživanja potvrdili su statistički značajnu razliku u krajnjem ishodu liječenja, poredeći ispitanike sa sepsom i ispitanike sa septičkim šokom ($p = 0,030$). Na osnovu dobijenih rezultata, veća stopa smrtnost zabilježena je u grupi septički šok. Smrtnost od sepse iznosila je 29,7%, a od septičnog šoka 54%. Visoku stopu smrtnosti od septičkog šoka potvrđuju i rezultati studije rađene u Republici Srbiji u periodu od 2017. do 2019. godine gdje je smrtnost iznosila 66,7% u odnosu na ukupni uzorak ispitanika [188]. Metaanaliza sprovedena od 2009. do 2019. godine, koja je obuhvatala 4500 septična ispitanika, procjenjivala je 30- i 90-dnevnu stopu smrtnosti od sepsa i septičkog šoka, pri čemu su stope stratifikovane po regijama. Prosječna 30-dnevna smrtnost od septičkog šoka iznosila je 34%, a od sepse 24,4%. Stope smrtnosti su varirale između regiona kada je u pitanju 30-dnevni mortalitet od septičkog šoka, tako da je smrtnost u Sjevernoj Americi iznosila 33,7%, u Evropi 32,5% i u Australiji 26,4% [5]. Sistematski pregled koji istražuje epidemiologiju sepse u Kini u periodu od 1992. do 2020. izvještava o učestalosti i smrtnosti od sepse, pokazujući da je u JIL-u kod 33,6% pacijenata dijagnostikovana sepsa. Ukupna 28-30-dnevna smrtnost od

sepsa iznosila je 29,0%, a od septičkog šoka 37,3% [195]. S druge strane, metaanaliza Li i saradnika pokazuje da nema statistički značajne razlike u preživljavanju poredeći grupe sepsa i septički šok [196]. Veća smrtnost kod pacijenata sa septičkim šokom u poređenju sa onima koji imaju sepsu povezana je sa intenzivnijim inflamatornim odgovorom na infekciju. Rezultati našeg istraživanja potvrdili su statistički značajnu razliku u medijani vrijednosti Δ WBC, tako da je smanjenje nivoa WBC veće u grupi sepsa nego u grupi septički šok ($p = 0,016$). Ovo može odražavati bolji odgovor na terapiju u ranim fazama bolesti. Naše istraživanje nije pokazalo statistički značajnu razliku u bazalnim vrijednostima CRP-a između pacijenata sa sepsom i onih sa septičkim šokom (204,7 vs. 173,5). Međutim, uočena je statistički značajna razlika u promjeni vrijednosti CRP-a između prvog i drugog dana (Δ CRP), pri čemu su ispitanici sa septičkim šokom pokazali značajnije povećanje nivoa CRP-a u odnosu na ispitanike sa sepsom, kod kojih je zabilježen pad ($p = 0,004$). Ovi nalazi sugerišu da perzistentno povišen CRP kod pacijenata sa septičkim šokom može ukazivati na kontinuiranu i nekontrolisanu inflamatornu reakciju organizma, što je karakteristika težih oblika infekcije i lošijeg odgovora na terapiju. Nasuprot tome, opadanje CRP-a kod pacijenata sa sepsom može biti pokazatelj efikasne kontrole infekcije i adekvatnog odgovora na terapiju. Naši rezultati su djelimično u skladu sa nalazima studije Schupp i saradnika, gdje je ustanovljeno da se početne vrijednosti CRP-a nisu značajno razlikovale između pacijenata sa sepsom i onih sa septičkim šokom. Ipak, autori su pratili trend CRP-a duži vremenski period i pokazali da se u grupi sa sepsom vrijednosti CRP-a smanjuju nakon drugog dana, dok se u grupi sa septičkim šokom vrijednosti CRP-a nastavljaju povećavati i do desetog dana boravka u JIL-u. Iako naše istraživanje obuhvata kraći vremenski okvir (prvi i drugi dan od dijagnoze sepsa), sličan trend porasta CRP-a kod pacijenata sa septičnim šokom podržava nalaze prethodno pomenute studije i ukazuje na potencijalnu vrijednost ranog praćenja promjene nivoa CRP (Δ CRP) kao prognostičkog pokazatelja [193]. Takođe, na osnovu analize rezultata inflamatornih biomarkera, potvrđena je statistički značajna razlika u vrijednosti medijane PCT-a u prvom danu (T_1) poredeći grupe sepsa i septički šok ($p = 0,035$). Vrijednosti PCT u drugom danu (T_2) blizu su statističke značajnosti ($p = 0,067$). Kod ispitanika sa septičkim šokom vrijednosti PCT u prvom i drugom danu bile su znatno veće nego u grupi sepsa. Kod pacijenata sa sepsom bez šoka, inflamatorni odgovor je prisutan, ali manje intenzivan, što rezultuje nižim vrijednostima PCT. Rezultati istraživanja Schupp i saradnici pokazuju više vrijednosti CRP-a i PCT-a u grupi pacijenata sa septičkim šokom u odnosu na grupu pacijenata sa sepsom i ovi biomarkeri imaju lošu prediktivnu vrijednost u pogledu 30-dnevnog ishoda liječenja [193]. U našem istraživanju vrijednosti IL-6 više rastu u grupi sepsa u poređenju sa grupom septički šok ali bez statističke značajnosti (-26,07 vs. -21,11; $p = 0,674$).

Takođe, nije bilo značajne razlike u vrijednostima bazalnog profila IL-6 u T₁ i T₂, kao ni u razlici IL-6 prvog u odnosu na drugi dan (Δ IL-6). S druge strane, u studiji Vivas i saradnici primjećeno je da ispitanici sa sepsom imaju značajan pad nivoa IL-6, dok nivo ovog citokina ostaje povišen kod pacijenata sa septičkim šokom [115]. Nasuprot tome, naši nalazi pokazuju da se nivo IL-6 brže smanjuje u grupi sa sepsom u poređenju sa grupom sa septičkim šokom, što je u suprotnosti sa rezultatima pomenute studije. Ova razlika može ukazivati na potencijalne razlike u dinamici inflamatornog odgovora između različitih stadijuma bolesti ili na metodološke razlike u praćenju nivoa IL-6. Poredeći vrijednosti Hcy i vitamina B₁₂ sa grupama sepsa i septički šok, u našem istraživanju nije potvrđena statistički značajna razlika. Uočava se dinamika porasta Hcy u obe pomenute grupe ispitanika s tim da je porast Hcy veći u grupi septički šok. Prospektivna studija Campos i saradnici sprovedena na pacijentima koji su primljeni u JIL pod kliničkom slikom septičkog šoka, ustanovila je da su vrijednosti Hcy visoke kod septičnih pacijenata i povezane su sa većom smrtnošću. Hcy igra bitnu ulogu kod septičnih pacijenata zbog svojih proinflammatoryh i prokoagulantnih efekata [197]. Kada je riječ o vitaminu B₁₂, nije potvrđena statističku značajnu razliku u vrijednostima bazalnog profila. Poredeći faktore oksidativnog stresa sa ispitanicima grupa sepsa i septički šok, potvrđena je statistički značajna razlika u vrijednosti O₂⁻ u prvom danu (T₁) (p = 0,047). Septički šok je teže kliničko stanje i u našem istraživanju uočen je značajniji porast nivoa O₂⁻ u grupi septički šok u poređenju sa grupom sepsa. O₂⁻ kao dio ROS-a, proizvodi se tokom sepse zbog pretjeranog imunološkog odgovora i mitohondrijske disfunkcije. Iako ROS igraju ključnu ulogu u uništenju patogena, njihova prekomjerna proizvodnja može izazvati oksidativno oštećenje i disfunkciju organa. Postoje dokazi da nivoi ROS-a, uključujući O₂⁻, zavise od intenziteta inflamatornog odgovora i sistemske oksidativne ravnoteže [198]. U doktorskoj disertaciji Petrović (2020.) ispitivana je povezanost PCT i parametara oksidativnog stresa kod pacijenata sa sepsom. Nivoi O₂⁻ su značajno niži u grupi ispitanika sa septičkim šokom u poređenju sa grupom sepsa što nije u skladu sa rezultatima našeg istraživanja [132]. Analizirajući vrijednosti prooksidanata sa grupama sepsa i septički šok, u našem istraživanju uočava se dinamika porasta svih prooksidanata (TRBARS, NO₂⁻, H₂O₂ i O₂⁻). Na osnovu svega iznesenog možemo konstatovati da je u grupi septički šok jači i inflamatorni i oksidativni odgovor organizma.

6.6 Ispitivani parametri u odnosu na izvore sepse

Analizom demografskih i kliničkih karakteristike septičnih ispitanika u odnosu na izvore sepse, infekcija porijeklom iz krvi (HK) potvrđena je kod 16 ispitanika (18,4%), iz urinarnog trakta (UK) kod 10 ispitanika (11,5%), dok je respiratorni sistem kao izvor infekcije (BAL)

identifikovan kod 16 ispitanika (18,4%). Infekcija iz brisa rane/apscesa potvrđene su kod 13 ispitanika (14,9%), dok je kod 20 ispitanika (23%) izvor infekcije ostao nepoznat (sterilno). Višestruki izvori infekcije identifikovan je kod 12 ispitanika (13,8%). U aktuelnoj studiji, najčešći izvor sepse ostao je nepoznat i to u 23% slučajeva (20 ispitanika), dok su među identifikovanim izvorima najzastupljeniji krvotok i respiratorni sistem. U studiji Peters-Sengers i saradnici tokom prijema u JIL ispitivan je odgovor domaćina na sepsu analizom 16 biomarkera odgovornih za patogenezu sepse. Od ukupno 621 ispitanika, sepsa respiratornog porijekla bila je najzastupljenija i registrovana je kod 334 ispitanika (53,8%). Abdominalna sepsa identifikovana je kod 159 (25,6%), urinarna kod 44 (7,1%), kardiovaskularna kod 68 (3,4%), sepsa porijeklom iz CNS kod 18 (2,9%), dok je koža bila izvor infekcije kod 25 pacijenata (4%). Kod 74 pacijenta (3,7%) izvor sepse nije identifikovan. Višestruki izvori infekcije prilikom prijema u JIL identifikovani su kod 373 pacijenta (18,5%) [199]. Studije Liua i Sugimota sa saradnicima ukazuju da je najčešći izvor sepse respiratorni sistem, zatim infekcije urinarnog sistema, intraabdominalne infekcije i na kraju infekcije kože i mekih tkiva [177, 200]. Rezultati navedenih istraživanja, djelimično su u skladu sa našim rezultatima. Poređenjem demografskih i kliničkih karakteristika, vrsta infekcije (GP; GN) i krajnjih ishoda lečenja sa septičnim ispitanicima koji su klasifikovani u grupe na osnovu izvora infekcije (HK, UK, BAL, višestruki izvor infekcije i sterilno), statistički značajna razlika potvrđena je u prosječnoj dužini trajanja hospitalizacije u JIL-u i tipu infekcije (GP; GN). Ispitanici sa višestrukim izvorima infekcije proveli su značajno duže vrijeme u JIL-u u poređenju sa ispitanicima iz sterilne grupe (24,8 dana vs. 8,78 dana; $p = 0,010$), kao i u poređenju sa onima kod kojih je infekcija potvrđena urinokulturom (24,8 dana vs. 8,2 dana; $p = 0,030$). Studija Peters-Sengers i saradnika pokazala je da pacijenti sa respiratornim infekcijama najduže borave u JIL-u, što se razlikuje od nalaza našeg istraživanja [199]. Studije Lia i Sugimota sa saradnicima, takođe su pokazale da je najčešći etiološki izvor sepse respiratorni sistem, a zatim slijede infekcije urinarnog sistema, intraabdominalne infekcije i na kraju infekcije kože i mekih tkiva [177,200]. Rezultati ovih studija djelimično su u skladu sa nalazima našeg istraživanja. Na osnovu dobijenih rezultata u našem istraživanju uočen je viši procenat infekcija izazvanih GN bakterijama kod ispitanika sa sepsom respiratornog porijekla, kao i kod onih sa višestrukim izvorima infekcije. S druge strane, GP bakterije bile su najzastupljenije u grupi ispitanika kod kojih je izvor infekcije identifikovan putem HK, pri čemu je utvrđena statistički značajna razlika ($p = 0,030$). Ovakvi nalazi su u skladu sa prethodnim kliničkim studijama koje ukazuju na jasnu povezanost GN bakterija sa određenim izvorima sepse, pri čemu je respiratorni trakt najčešće identifikovan kao primarno izvoriste kod oboljelih od sepse [201]. Analizom povezanosti starosne dobi ispitanika

sa izvorima sepse, u našem istraživanju, nije uočena statistički značajna razlika, što je u skladu sa rezultatima prethodnih studija [199]. Ovaj nalaz sugerirše da starosna dob, iako često razmatrana kao faktor rizika, u ovom kontekstu ne predstavlja determinantu etiološkog izvora infekcije kod pacijenata sa sepsom. Iako nismo potvrdili statistički značajnu razliku između polova i grupa ispitanika klasifikovanih u grupe na osnovu izvora sepse, uočili smo da kod muškaraca sepsa češće vodi porijeklo iz HK i BAL-a, dok žene češće razvijaju sepsu porijeklom iz urinarnog sistema. Kada je riječ o povezanosti muškog pola sa infekcijama koje vode porijeklo iz respiratornog sistema, naši rezultati su u skladu sa drugim literaturnim izvorima [148,202]. Bez obzira na tip infekcije, distribucija SOFA skora među našim ispitanicima nije pokazala značajne varijacije. Ovaj nalaz je u suprotnosti sa rezultatima studije Peters-Sengers i saradnika, u kojoj je ustanovljena statistički značajna povezanost između vrijednosti SOFA skora i izvora infekcije, pri čemu su najviše vrijednosti SOFA skora zabilježene kod pacijenata sa intraabdominalnim infekcijama [199]. Poređenjem vrijednosti zapaljenskih parametara sa izvorom sepse, u našem istraživanju nije zabilježena statistički značajna razlika. Ovaj nalaz ukazuje na to da intenzitet zapaljenskog odgovora, mjeren preko parametara poput WBC, CRP-a, PCT-a te citokina IL-6 i TNF- α , ne mora zavisiti od lokalizacije infekcije. Ipak, s obzirom na kompleksnost patofiziologije sepse, potrebna su dodatna istraživanja kako bi se detaljnije ispitala povezanost između lokalizacije infekcije i intenziteta zapaljenskog odgovora. Poređenjem vrijednosti antioksidativnih parametara u odnosu na izvore sepse, u našem istraživanju, potvrđena je statistički značajna razlika u medijani SOD u prvom danu (T_1) ($p = 0,006$) kao i u medijani promjene nivoa SOD između prvog i drugog dana (ΔSOD) ($p = 0,015$). Posebno se izdvajaju ispitanici kod kojih je izvor infekcije BAL, pri čemu su vrijednosti SOD bile značajno veće u ovoj grupi ispitanika u poređenju sa ostalim grupama ispitanika. Naime, *post hoc* analiza je pokazala da su veće vrijednosti SOD u prvom danu zabilježene kod ispitanika sa BAL-om kao izvorom sepse, u poređenju sa NC (32,56 vs. 24,42; $p = 0,015$), pozitivnim HK (32,56 vs. 24,42; $p = 0,003$), pozitivnim UK (32,56 vs. 24,42; $p = 0,013$) i grupom višestruki izvori infekcije (32,56 vs 20,5; $p = 0,004$). *Post hoc* analiza je pokazala da su veće vrijednosti SOD u T_1 zabilježene kod ispitanika bris rane/apscesa u poređenju sa grupom sterilni uzorci ($p = 0,044$) i u poređenju sa grupom višestruki izvor infekcije ($p = 0,032$). Ova razlika može ukazivati na izraženiji oksidativni odgovor kod plućnog izvora sepse i pozitivnih briseva rane što potencijalno ima klinički značaj. Dobijeni rezultati ukazuju na potrebu za dodatnim istraživanjima uloge oksidativnog stresa u patogenezi sepse, sa posebnim fokusom na različite izvore infekcije. Kada govorimo o statističkoj značajnosti ΔSOD u našem istraživanju, *post hoc* analizom utvrđen je značajniji pad nivoa SOD u grupi ispitanika kod kojih

je izvor sepse BAL, u poređenju sa onim ispitanicima kod kojih je izvor sepse HK ($p = 0,003$), višestruki izvori sepse ($p = 0,002$) i sterilni uzorci ($p = 0,015$). Takođe, *post hoc* analizom je utvrđen i značajniji pad nivoa SOD u grupi ispitanika sa sepsom čiji je izvor bio bris rane/apscas, u poređenju sa ispitanicima sa višestrukim izvorima infekcije ($p = 0,039$). Iako su dostupne brojne studije koje se bave ulogom SOD u oksidativnom stresu i patofiziologiji sepse, u literaturi nije pronađena studija koja direktno poredi vrijednosti SOD sa različitim izvorima infekcije. Odsustvo ovakvih podataka otežava interpretaciju i poređenje rezultata našeg istraživanja, koje se bavi upravo tom temom. Nedostatak prethodnih komparativnih analiza ukazuje na potrebu za daljim istraživanjima kako bi se bolje razumjela potencijalna veza između lokalizacije infekcije i intenziteta oksidativnog stresa kod septičnih pacijenata. U okviru našeg istraživanja, potvrđena je statistički značajna razlika u promjeni nivoa vitamina B₁₂ između prvog i drugog dana (ΔB_{12}) u zavisnosti od izvora infekcije ($p = 0,018$). Dodatna *post hoc* analiza je utvrdila da su ispitanici kod kojih je izvor infekcije identifikovan na osnovu brisa rane/apscasa imali značajno veći pad nivoa vitamina B₁₂ u poređenju sa ispitanicima iz grupe sa neidentifikovanim izvorima infekcije ($p = 0,013$), onima sa višestrukim izvorima infekcije ($p = 0,016$), kao i u odnosu na ispitanike kod kojih je infekcija potvrđena hemokulturom ($p = 0,013$). Sličan obrazac je uočen i kod ispitanika kod kojih je izvor infekcije bio respiratorni trakt, potvrđen BAL-om. Ova grupa je, takođe, pokazala značajniji pad nivoa vitamina B₁₂ u odnosu na grupe NC ($p = 0,026$) i HK ($p = 0,023$). Ovi rezultati ukazuju na moguću povezanost između izvora infekcije i razlike vitamina B₁₂ prvog u odnosu na drugi dan (ΔB_{12}) tokom sepse, što bi moglo imati dijagnostičke i prognostičke implikacije. Međutim, zbog ograničenog broja dostupnih studija koje se bave ovom temom, posebno u kontekstu različitih izvorišta infekcije, neophodna su dalja istraživanja kako bi se ovi nalazi potvrdili i detaljnije objasnili potencijalne mehanizme koji stoje iza ovih promjena. Hipovitaminoza vitamina B₁₂ direktno utiče na metabolizam homocisteina (Hcy), što može dovesti do njegove akumulacije u plazmi i tkivima. Kritično bolesni pacijenti su skloniji hiperhomocisteinemiji (H-Hcy) zbog hipermetabolizma i ubrzane sinteze koju proizvode ROS. Zbog toga se može potvrditi da određivanje i praćenje nivoa Hcy u plazmi može biti od interesa za optimizaciju terapije kritično bolesnih pacijenata. Štaviše, kontrolisanjem nivoa Hcy i implicitno esencijalnih kofaktora koji intervenišu specifičnim biohemijskim putevima, kao što su vitamin B₆, vitamin B₁₂ i folna kiselina, može da obezbijede raznovrsan i personaliziran tretman za svakog pacijenta [203]. Međutim, poređenjem vrijednosti Hcy sa izvorima sepse u našem istraživanju nije utvrđena statistički značajna razlika. Slične nalaze donosi i prospektivna portugalska studija iz 2010. godine koja zaključuje da nije bilo povezanosti u nivoima Hcy i težine kliničke slike kod septičnih

pacijenata [204]. Kontrola izvora infekcije je važna u liječenju sepse. Rana kontrola izvora infekcije (sepse) može poboljšati zdravstveno stanje septičnog pacijenata, tako da su oni koji su imali odgođenu kontrolu izvora infekcije, imali su dužu i bolničku hospitalizaciju i hospitalizaciju u JIL-u [205]. Isto tako, rana kontrola izvora infekcije povezana je sa smanjenim rizikom od 90-dnevnog mortaliteta [153].

6.7 Ispitivani parametri u odnosu na hemokulturu

U našem istraživanju, HK je bila pozitivna kod 26 ispitanika (29,9). Ovakav rezultat je u skladu s podacima iz literature, koji navode da je pozitivan nalaz HK prisutan u otprilike trećini slučajeva kod pacijenata sa sumnjom na sepsu [158]. Kod 61 ispitanika (70,1%) HK je bila negativna, što može ukazivati na odsustvo sistemske infekcije u tim slučajevima, ali može biti i posljedica prethodne antibiotske terapije, niske koncentracije bakterija u krvi ili tehničkih faktora koji utiču na osjetljivost testa. Od ukupnog broja ispitanika iz HK su kod 18 ispitanika (12,7%) izolovane Gram-pozitivne (GP) bakterije, a kod 8 ispitanika (9,2%) Gram-negativne (GN) bakterije. Ovaj nalaz sugerše blagu dominaciju GP uzročnika među pozitivnim HK. Ipak, prisustvo GN bakterija, iako u manjem broju, ne treba zanemariti. Zanimljivo je da ni jedan uzorak nije ukazivao na polimikrobnu infekciju, odnosno istovremenu prisutnost GP i GN bakterija u istoj HK. U istraživanju koje su sproveli Nejtek i saradnici, obuhvaćeno je 258 pacijenata sa sepsom, od kojih je kod 180 (69,8%) HK bila negativna. Kod preostalih 78 (30,2%) pacijenata izolovan je patogen, pri čemu su GP bakterije pronađene kod 34 (43,6 %), GN bakterije kod 35 (44,9%) ispitanika, polimikrobna infekcija kod 5 (6,4%), a gljivice kod 4 (5,1%) pacijenta [206]. Metaanalizom koju su sproveli Li i saradnici identifikovano je 235 studija, koje su obuhvatile ukupno 22 655 pacijenata. Pozitivna HK zabilježena je kod 40,1% pacijenata sa sepsom [196]. U tricentričnoj kohortnoj studiji Lui i saradnika, analizirano je 1405 pacijenata sa sepsom. Od toga, kod 1189 (85,9%) pacijenata HK je bila negativna, dok je kod 216 (15,4%) bila pozitivna [207]. Rezultati našeg istraživanja djelimično se poklapaju sa navedenim studijama. Međutim, neophodna su dalja istraživanja kako bi se rasvijetlila uloga faktora kao što su vrijeme uzorkovanja, prethodna primjena antibiotika, kao i uticaj varijacija na različite laboratorijske metode koje utiču na pozitivanost HK. Kulturološki negativna sepsa postavlja posebne dijagnostičke izazove kliničarima i mikrobiolozima. Zašto bi pacijenti sa sepsom imali negativnu kulturu? Pet je glavnih razloga za to. Prvo, HK može imati ograničenu osjetljivost za detekciju svih bakterija, greške pri uzorkovanju, nedovoljan volumen uzorka, neadekvatne uslove transporta i sporo rastuće bakterije. Drugo, pacijentima su možda propisani empirijski antibiotici u lokalnim klinikama prije nego što se razvila sepsa. Treće, udio sepse ili

septičkog šoka uzrokovanih atipičnim patogenima, uključujući gljivične, parazitske i virusne infekcije, može biti povećan kod pacijenata i uobičajene mikrobiološke metode često ne uspijevaju identifikovati mikroorganizme. Četvrto, kod nekih pacijenata sa negativnom HK, klinička slika slična sepsi mogla je biti izazvana neinfektivnim uzrocima, kao što su metabolički poremećaji, povrede tkiva, sistemske upalne bolesti, neželjene reakcije na lijekove, maligni tumori ili subarahnoidalna krvarenja. Peto, određene infekcije su manje uobičajene kod pacijenata sa negativnom HK nego kod pacijenata sa pozitivnom HK. To je dijelom zbog prirode nekih infekcija, na primjer, manje je vjerovatno da će apscesi biti negativni. Obećavajuća istraživanja korištenjem metoda lančane reakcije polimeraze (PCR) pokazala su da se mikrobna deoksiribonukleinska kiselina (DNK) može brzo otkriti u krvi septičnih pacijenata kao i da može otkriti potencijalno značajne gljivice i bakterije koje nisu izolovane iz HK [208]. Gotovo 60% primarnih infekcija krvotoka uzrokovano je GP kokama. Gram-pozitivne bakterije dobijaju pristup krvotoku putem invazivnih procedura i različite opreme za njegu pacijenata kao što su kateteri, intravenske linije i mehanički ventilatori [209]. Poređenjem medijane starosne dobi različitih grupa septičnih ispitanika, definisanih prema rezultatima hemokulture, u našem istraživanju najviša medijana zabilježena je u NC grupi (67,50 godina), dok je najniža bila u GN grupi (62 godine). Ipak, statistički značajna razlika nije potvrđena. Studija koju su sprovedi Julijan i saradnici pokazala je najveću učestalost bakterijemije u dobi od 50 do 69 godina, što je u skladu sa rezultatima našeg istraživanja [161]. To implicira da ova starosna grupa zahtijeva posebnu pažnju i preventivne strategije kako bi se smanjila incidencija sepse. U retrospektivnoj multicentričnoj kohortnoj studiji, Liu i saradnici su ustanovili da ispitanici sa pozitivnom HK češće pripadaju starijoj populaciji u poređenju sa ispitanicima sa negativnom HK [207]. Poređenjem pola sa različitim grupama septičnih ispitanika, analiziranih na osnovu hemokulture, nije potvrđena statistički značajna razlika u našem istraživanju. Analiza povezanosti pola sa prisustvom GP i GN patogena u hemokulturama septičnih ispitanika ukazuje na to da je trenutno dostupna literatura na ovu temu ograničena. Većina dostupnih studija fokusira se na poređenje pozitivnih i negativnih hemokultura, dok nedostatak istraživanja koja sistematski ispituju ovu povezanost otežava donošenje pouzdanih zaključaka. U našem istraživanju, medijan SOFA skora u GP i GN grupi septičnih ispitanika, analiziranih na osnovu HK, iznosio je 7, dok je u grupi NC iznosio 6 bodova. Poredeći qSOFA skor sa različitim grupama septičnih ispitanika, analiziranih na osnovu hemokulture, nije potvrđena statistički značajna razlika. Odsustvo statističke značajnosti u našem istraživanju sugerise da se težina kliničke slike ne može jednostavno predvidjeti samo na osnovu tipa infekcije. S druge strane, Jang i saradnici u svojoj studiji ističu da je SOFA skor viši kod pacijenata sa pozitivnom

HK u odnosu na one sa negativnom HK, odnosno kod kojih mikrobiološki patogen nije potvrđen, što je u skladu sa rezultatima našeg istraživanja [208]. U našem istraživanju konstatovano je da su ispitanici grupe NC znatno više koristili inotropnu podršku u poređenju sa ispitanicima GP ($p = 0,000$) i GN grupe ($p = 0,000$), dok se GP i GN grupe nisu razlikovale u upotrebi inotropne podrške. Takođe, u našem istraživanju, septički šok procentualno je najzastupljeni u grupi NC ($p = 0,000$). Razlika između GP i GN (22% vs 8%) blizu je statističke značajnosti ($p = 0,051$). Međutim, treba uzeti u obzir značajnu razliku u veličini ispitivanih grupa. Veći broj ispitanika u grupi negativa HK ($n = 61$) mogao bi doprinijeti detekciji statistički značajnih razlika, dok su manje veličine uzoraka u GP ($n = 18$) i GN grupi ($n = 8$) potencijalno ograničavajući u mogućnosti preciznog poređenja između ovih grupa. Ovi rezultati ukazuju na potrebu za daljim istraživanjima sa uravnoteženim veličinama uzoraka kako bi se preciznije procijenila povezanost vrsta. Trenutna istraživanja uglavnom se fokusiraju na poređenje pacijenata sa pozitivnim i negativnim HK, dok specifična povezanost između vrste patogena (GP ili GN) i dužine boravke u JIL-u nije dovoljno istražena. Ovo otežava donošenje pouzdanih zaključaka i može predstavljati prepreku za optimizaciju terapijskih protokola. Li i saradnici, analizirajući podatke metaanalize, nisu ustanovili razliku u trajanju MV poredeći pozitivne i negativne kulture [196]. Rezultati ove studije nisu u skladu sa rezultatima naše studije. Kada smo poredili trajanje MV sa različitim grupama septičnih ispitanika, dobijenih na osnovu nalaza HK, potvrđeno je da su ispitanici iz GN grupe najduže boravili na MV ($p = 0,014$). Ispitanici iz GN grupe bili su na mehaničkoj ventilaciji (17,83 dana), u poređenju sa GP grupom (7 dana) i grupom NC (6,87 dana), što ukazuje na težu kliničku sliku kod infekcija izazvanih GN bakterijama. Poređenjem grupa septičnih ispitanika (klasifikovanih na osnovu nalaza hemokulture) sa dužinom kospitalizacije u JIL-u, potvrđena je statistički značajna razlika ($p = 0,014$). *Post hoc* analizom je utvrđeno da su ispitanici iz GN grupe provodili duže vremena u JIL-u u poređenju sa ispitanicima iz GP grupe ($p = 0,005$), kao i u poređenju sa ispitanicima iz grupe NC ($p = 0,010$). Ispitanici iz GN grupe imali su najdužu prosječnu dužinu boravka u JIL-u (28,63 dana), u odnosu na GP grupu (10,67 dana) i NC grupu (11,6 dana). Studija Liu i saradnici je konstatovala da su ispitanici sa pozitivnom HK statistički duže hospitalizovani u JIL-u u poređenju sa ispitanicima sa negativnom HK [207]. Studija koja je ispitivala 258 septična ispitanika koji su liječeni u JIL-u u bolnici tercijarnog centra u Pragu, analizirala je ispitanike sa pozitivnom i negativnom HK. Hemokulture kod kojih je mikrobiološki dokazan patogen povezane su sa dužim boravkom u JIL-u u poređenju sa hemokulturama kod kojih nije izolovan patogen, ali ova razlika nije pokazala statistički značaj [206]. Rezultati ovih studija dijelom su u skladu sa rezultatima našeg istraživanja. Poredeći krajnji ishod liječenja sa različitim grupama

septičnih ispitanika, dobijenih na osnovu nalaza HK, u našem istraživanju nije uočena statistička značajnost, što je u skladu sa rezultatima drugih studija [196,208]. Poredeći vrijednosti inflamatornih biomarkera sa različitim grupama septičnih ispitanika, dobijenih na osnovu HK, nije uočena statistička značajnost u našem istraživanju. Ovaj nalaz može biti iznenađujući, s obzirom na to da se očekivano povišeni biomarkeri inflamacije često koriste za dijagnostikovanje sepse i praćenje odgovora na terapiju. Studija Yang i saradnici analizirala je 640 septična ispitanika u Pekingu od 2017. do 2019 godine. Cilj ovog istraživanja je bio uporediti karakteristike i ishode pozitivnih i negativnih hemokultura. Kulturološki pozitivni ispitanici imali su više vrijednosti biomarkera inflamacije u broju WBC i vrijednosti PCT [208]. Studija Peetermans i saradnika, istraživala je ulogu von Willebrandovog faktora (vWF) i enzima ADAMTS13 (*engl. A Disintegrin and Metalloprotease with Thrombospondin type 1 motif, member 13*), koji fiziološki cijepa ultravelike multimerne vWF-a, u kontekstu sepse izazvane bakterijom *Staphylococcus aureus*. Ova bakterija, kao jedan od najčešćih uzročnika infekcija krvotoka, pokazuje izraženu sposobnost interakcije sa vaskularnim endotelom i vWF-om, što može dovesti do razvoja ozbiljnih vaskularnih komplikacija. U navedenoj studiji, vWF i ADAMTS13 su analizirani kod pacijenata sa sepsom izazvanom *Staphylococcus aureus*-om, kao i u eksperimentalnom modelu sepse na miševima. Rezultati pokazuju značajnu deregulaciju ova dva faktora kod pacijenata - povišene vrijednosti vWF-a uz istovremeno snižene koncentracije ADAMTS13 - što je bilo povezano s težim kliničkim stanjem i izraženim inflamatornim odgovorom. Eksperimenti na miševima dodatno su potvrdili patofiziološku važnost ove osovine. Miševi sa nižim nivoima vWF-a pokazali su manju stopu smrtnosti tokom sepse izazvane *Staphylococcus aureus*-om, vjerovatno zbog smanjene mikrovaskularne tromboze u organima. Suprotno tome, nedostatak ADAMTS13 doveo je do povećane smrtnosti i učestalijih mikrotromboza. Značajno je da bi primjena rekombinantnog ADAMTS13 djelimično ublažila ove štetne efekte, što ukazuje na njegov potencijal kao terapijskog agensa [210]. Dok su rezultati studije Peetermans i saradnika ukazivali na značajne promene u nivou vWF-a tokom sepse. Naši nalazi sugerišu da kod septičnih ispitanika nije bilo značajnih fluktuacija u vrijednostima vWF-a. Ove razlike mogu biti posljedica različitih faza sepse, specifičnosti uzročnika, metodoloških pristupa ili terapija koje su naši ispitanici primali, što može uticati na stabilnost vrijednosti vWF-a u našem uzorku. Poredeći vrijednosti Hcy i B₁₂ vitamina sa različitim grupama septičnih ispitanika, dobijenih na osnovu HK, u našem istraživanju potvrđene su statistički značajno više vrijednosti u srednjem rangju Hcy u prvom danu (T₁) ($p = 0,003$) i ΔB_{12} vitamina ($p = 0,017$). *Post hoc* analizom nalaza HK potvrđeno je da su naši ispitanici iz GN grupe imali značajno veće vrijednosti Hcy u prvom danu u poređenju

sa GP ($p = 0,000$) i NC grupom septičnih ispitanika ($p = 0,000$). Vrijednosti Hcy u T_1 bile su najveće u GN grupi (13,3), u poređenju sa GP grupom (7,95) i grupom NC (8,65). Veće vrijednosti Hcy u GN grupi u odnosu na GN i NC grupu najvjerovatnije proizilaze iz snažnijeg inflamatornog odgovora i intenzivnijeg oštećenja endotela koji je izraženiji u ovoj grupi ispitanika. U našem istraživanju potvrđena je statistički značajna razlika u srednjem rangju ΔB_{12} vitamina između septičnih ispitanika analiziranih na osnovu HK ($p = 0,017$). *Pos hoc* analizom potvrđeno je da su ispitanici iz grupe sa negativnom HK (grupa NC) imali veći pad nivoa vitamina B_{12} (ΔB_{12}) u poređenju sa GP (34,5 vs. - 41; $p = 0,029$) i GN grupom septičnih ispitanika (34,5 vs. - 65,5; $p = 0,030$). GP i GN grupe se nisu statistički razlikovale, što ukazuje na sličan obrazac promjene nivoa vitamina B_{12} kod ovih ispitanika. Vrijedno je napomenuti da u ovom istraživanju ΔB_{12} predstavlja razliku u nivou vitamina B_{12} između prvog i drugog dana, pri čemu negativna vrijednost označava porast, a pozitivna vrijednost pad nivoa vitamina. Trenutno, prema dostupnim podacima, ne postoje specifične domaće i međunarodne studije koje direktno upoređuju nivoe Hcy i vitamina B_{12} kod septičnih pacijenata sa pozitivnom i negativnom HK. Međutim, poznato je da sepsa može dovesti do različitih metaboličkih poremećaja, uključujući promjene u nivoima Hcy i vitamina B_{12} . Za precizne informacije i zaključke na ovu temu, potrebna su dodatna istraživanja. Naše istraživanje nije potvrdilo statistički značajnu razliku u vrijednostima bazalnog profila prooksidanata (TBARS, NO_2^- , H_2O_2 i O_2^-) i antioksidanasa (SOD, CAT i GSH) između grupa ispitanika definisanih na osnovu HK (GP, GN, NC). Ipak, dinamično praćenje ovih parametara ukazuje na to da je najveća amplituda promjena - porast prooksidanata i pad antioksidanasa - zabilježena u GN grupi, što se može povezati sa prisustvom endotoksina (LPS) i intenzivnijim inflamatornim odgovorom. Ovi nalazi ukazuju na potencijalnu ulogu oksidativnog stresa u GN sepsi, ali su neophodna dodatna istraživanja kako bi se ova povezanost preciznije razumjela i potvrdila.

6.8 Multivarijantna logistička regresiona analiza za prognozu preživljavanja septičnih ispitanika

Sprovedena regresiona analiza imala je za cilj da identifikuje značajne prognostičke biomarkere preživljavanja kod septičnih ispitanika, uzimajući u obzir više varijabli istovremeno kao što su: starost, qSOFA skor, SOFA skor, laktati izmjereni u pet vremenskih tačaka (T_0 , T_3 , T_6 , T_{12} , T_{24}), IL-6 u 1. i u 2. danu (T_1 i T_2). U ovoj studiji klirens laktata nije uključen u multivarijantnu logističku regresionu analizu jer ni jedna izračunata vrijednost klirensa laktata, a računati su u četiri vremenska intervala (0h - 3h; 0h - 6h; 0h - 12h; 0h - 24h), nije pokazala statistički značajnu povezanost sa ishodima liječenja u univarijantnoj analizi. S obzirom na

odsustvo statističke značajnosti, smatrano je da bi uključivanje klirensa laktata u dalju regresionu analizu bilo metodološki neopravdano i moglo bi dovesti do prenaplašavanja varijabli koje nemaju relevantan uticaj na ishod. Rana identifikacija prognostičkih biomarkera mortaliteta trebala bi nam omogućiti da uradimo neophodne intervencije kako bi pacijenti preživjeli sepsu. Rezultati naše studije pokazuju da nivo laktata izmeren šest sati nakon dijagnostikovanja sepse (T6) ima statistički značajnu vrijednost kao prognostički biomarker preživljavanja. Viši nivoi laktata izmjereni u ovom periodu povezani su sa smanjenom vjerovatnoćom preživljavanja ($B = -0,142$, $p = 0,025$). Slične nalaze bilježi i studija Jansena i saradnika, koja je pokazala da terapija vođena laktatom kod pacijenata primljenih u JIL sa hiperlaktatemijom značajno smanjuje bolnički mortalitet. Ovi rezultati dodatno potvrđuju kliničku vrijednost praćenja nivoa laktata ne samo u prognostičke svrhe, već i u optimizaciji terapijskog pristupa kod pacijenata sa sepsom [211]. Iako naši nalazi potvrđuju značaj laktata kao prognostičkog biomarkera, potrebno je dodatno istražiti optimalne strategije za njegovu primjenu u kliničkoj praksi. Dalja istraživanja bi mogla pomoći u razjašnjavanju dugoročnog uticaja terapije vođene laktatom na krajnje ishode liječenja septičnih pacijenata. Pored laktata T6, u našoj studiji, starost ispitanika takođe se pokazala kao značajan biomarker preživljavanja od sepse. Rezultati su pokazali da sa porastom starosne dobi opada vjerovatnoća preživljavanja ($B = -0,008$, $p = 0,027$). Rezultati naše studije su u skladu sa rezultatima studije Li i saradnici koja je pokazala da su stariji pacijenti u većem riziku od nepovoljnog ishoda liječenja od sepse [212]. Ostale varijable nisu pokazale statističku značajnost u ovom modelu, iako je laktat izmjeran 24 sata nakon dijagnostikovanja sepse (T24) imao graničnu vrijednost ($B = -0,108$, $p = 0,062$). Ovaj nalaz može ukazivati na potencijalnu prognostičku vrijednost ove varijable na većim uzorcima ili u kombinaciji sa dodatnim kliničkim parametrima. Multivarijantni logistički regresijski model, studije Hayashi i saradnici, identifikovao je da je laktat 24 sata nakon prijema u JIL značajan prognostički biomarker bolničkog mortaliteta [213]. Suprotno očekivanjima, inicijalne vrijednosti laktata (T0), kao i vrijednosti nakon 3 i 12 sati (T3, T12), nisu pokazale statistički prediktivni značaj na krajnji ishod liječenja. Ovo sugerše da sam početni status perfuzije nije dovoljan za predviđanje mortaliteta, već da je ključna promjena u vrijednostima laktata tokom vremena, što je ranije takođe isticano [211]. U našem istraživanju, vrijednosti IL-6 u T₁ ($B = 0,001$; $p = 0,453$) i T₂ ($B = -0,001$; $p = 0,325$), nisu pokazale statistički značajnu povezanost u predikciji preživljavanja. Iako su koeficijenti regresije pozitivni u T₁, odnosno negativni u T₂, visoke p-vrijednosti ukazuju da ove promjene nisu statistički značajne. To sugerše da IL-6 nije bio pouzdan marker u tim vremenskim tačkama u okviru naše populacije. Rezultati naše studije se podudaraju sa rezultatima studije Bozza i saradnika u kojoj

multivarijantnom regresionom analizom nije ustanovljena povezanost IL-6 sa mortalitetom septičnih pacijenata [214]. Moguće objašnjenje leži u različitim vremenskim tačkama mjerenja, veličini uzorka ili heterogenosti ispitivane populacije. SOFA i qSOFA skorovi, iako se široko koriste za procjenu težine bolesti i rizika od lošeg ishoda, također nisu pokazali statističku značajnost u ovom modelu (SOFA: $B = 0,02$, $p = 0,936$; qSOFA: $B = -0,178$, $p = 0,156$). U studiji Wu i saradnici, razvijeni su modeli logističke regresije i Random Forest (RF) algoritma za predviđanje mortaliteta kod odraslih septičnih pacijenata. Oba modela su identifikovala dosljedne faktore rizika, što potvrđuje njihovu kliničku relevantnost i korisnost u predviđanju ishoda lečenja. Međutim, RF model je pokazao superiornost u odnosu na tradicionalnu logističku regresiju, kao i u poređenju sa konvencionalnim sistemima bodovanja, poput SOFA i APACHE skora. Ovi rezultati ukazuju na potencijal RF modela kao efikasnijeg alata u identifikaciji pacijenata sa visokim rizikom od mortaliteta, što može značajno doprinijeti unaprjeđenju kliničke prakse i donošenju boljih odluka u liječenju septičnih pacijenata [214]. U cjelini, rezultati ove analize ističu značaj serijskog praćenja laktata, pri čemu je posebno važan nivo laktata izmjeren 6 sati nakon dijagnostikovanja sepse posebno važan kao klinički relevantan i statistički značajan pokazatelj lošeg ishoda. Starosna dob ispitanika, također je značajan pokazatelj lošeg ishoda. Nasuprot tome, biomarkeri inflamacije poput IL-6 i scoring sistemi (SOFA i qSOFA skor) pokazali su ograničenu prognostičku vrijednost u okviru ovog modela, što ukazuje na potrebu za dodatnim istraživanjima i razmatranjem kompleksnijih prognostičkih pristupa.

7. ZAKLJUČAK

Na osnovu postavljenih ciljeva istraživanja i dobijenih rezultata izvedeni su sljedeći zaključci:

1. Koncentracija laktata mjerena šest sati nakon dijagnostikovanja sepse (T6) predstavlja značajan i nezavisan prediktor smrtnog ishoda, dok scoring sistemi SOFA i qSOFA, kao i klirens laktata, nisu pokazali prediktivni značaj u ovom istraživanju.
2. Profil IL-6 pokazao je statistički značajne razlike između Gram-negativne (GN) i Gram-pozitivne (GP) sepse, pri čemu su vrijednosti IL-6 bile značajno više u grupi GN sepse. Nasuprot tome, TNF- α nije pokazao statistički značajne razlike između GN i GP sepse. Vrijednosti IL-6 drugog dana bile su statistički značajno više kod pacijenata koji nisu preživjeli u poređenju sa onima koji su preživjeli. Pored toga, u grupi umrlih zabilježen je značajniji porast nivoa IL-6 (Δ IL-6), što ukazuje na važnost praćenja dinamike IL-6 kao potencijalnog prognostičkog markera ishoda kod sepse. TNF- α nije imao prognostički značaj u praćenju krajnjeg ishoda liječenja septičnih ispitanika.
3. Ispitivanjem koncentracije prokalcitonina utvrđeno je da ovaj parametar nije relevantan za razlikovanje Gram-negativne i Gram-pozitivne sepse. Takođe, koncentracija PCT nije pokazala značaj u predviđanju ishoda liječenja septičnih pacijenata. Ovi rezultati ukazuju da PCT nije pouzdan biomarker za razlikovanje tipa sepse niti za prognozu krajnjeg ishoda liječenja.
4. GN grupa septičnih pacijenata pokazala je statistički značajno veći porast nivoa superoksid anjona (Δ O₂⁻) u GN u odnosu na GP grupu. Ostali parametri oksidativnog stresa, endotelne disfunkcije, homocisteina i vitamina B₁₂ nisu pokazali značajne razlike između GN i GP sepse, niti su imali uticaj na ishod liječenja. Dinamika nivoa O₂⁻ može predstavljati potencijalni biomarker za razlikovanje tipa sepse, dok ostali parametri nisu bili korisni ni u razlikovanju GN i GP sepse ni u predviđanju krajnjeg ishoda liječenja.

8. LITERATURA

1. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, Brunkhorst FM, Rea TD, Scherag A, et al. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016 Feb 23;315(8):762–74.
2. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003 Apr;31(4):1250–6.
3. Bidart JPM, Rosa RG, Bessel M, Pedrotti LG, Goldani LZ. Mortality predictors in patients with suspected sepsis in the emergency department of a tertiary care hospital: a retrospective cohort study. *Int J Emerg Med*. 2024 Jun 17;17(1):74.
4. Fleischmann-Struzek C, Rudd K. Challenges of assessing the burden of sepsis. *Med Klin - Intensivmed Notfallmedizin*. 2023 Dec 1;118(2):68–74.
5. Bauer M, Gerlach H, Vogelmann T, Preissing F, Stiefel J, Adam D. Mortality in sepsis and septic shock in Europe, North America and Australia between 2009 and 2019- results from a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Lond Engl*. 2020 May 19;24(1):239.
6. Rhee C, Klompas M. Sepsis trends: increasing incidence and decreasing mortality, or changing denominator? *J Thorac Dis*. 2020 Feb;12(Suppl 1):S89–100.
7. Kovacevic P, Meyer FJ, Gajic O. Challenges, obstacles, and unknowns in implementing principles of modern intensive care medicine in low-resource settings: an insider's perspective. *Intensive Care Med*. 2024 Jan;50(1):141–3.
8. Guarino M, Perna B, Cesaro AE, Maritati M, Spampinato MD, Contini C, et al. 2023 Update on Sepsis and Septic Shock in Adult Patients: Management in the Emergency Department. *J Clin Med*. 2023 Jan;12(9):3188.
9. Yang Z, Gao Y, Zhao L, Lv X, Du Y. Molecular mechanisms of Sepsis attacking the immune system and solid organs. *Front Med (Lausanne)*. 2024 Aug 29;11:1429370. doi: 10.3389/fmed.2024.1429370. PMID: 39267971; PMCID: PMC11390691.

10. Majno G. The ancient riddle of sigma eta psi iota sigma (sepsis). *J Infect Dis.* 1991 May;163(5):937–45.
11. Hippocrates. *Hippocrate / texte établi et traduit par Robert Joly. Jouanna J, Duminil MP, Joly R, editors.* Paris: Les Belles Lettres; 1967. (Collection des universités de France, 0184-7155.).
12. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin.* 2009 Jan;25(1):83–101, viii.
13. Fracastoro G. *Hieronymi Fracastorii De Contagione Et Contagiosis Morbis Et Eorum Curatione, Libri III ; Translation and Notes by Wilmer Cave Wright.* Putnam; 1930. 356 p.
14. Cavaillon JM, Chrétien F. From septicemia to sepsis 3.0-from Ignaz Semmelweis to Louis Pasteur. *Genes Immun.* 2019 May;20(5):371–82.
15. Hernandez Botero JS, Florian Perez MC. The History of Sepsis from Ancient Egypt to the XIX Century. In: *Sepsis - An Ongoing and Significant Challenge.* InTech; 2012. p. 3–32.
16. Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, Seymour CW, Liu VX, Deutschman CS, et al. Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock. *JAMA.* 2016 Feb 23;315(8):775–87.
17. Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annu Rev Immunol.* 1994;12:991–1045.
18. Vincent JL, Opal SM, Marshall JC, Tracey KJ. Sepsis definitions: time for change. *Lancet Lond Engl.* 2013 Mar 2;381(9868):774–5.
19. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest.* 1992 Jun;101(6):1644–55.
20. Poeze M, Ramsay G, Gerlach H, Rubulotta F, Levy M. An international sepsis survey: a study of doctors' knowledge and perception about sepsis. *Crit Care Lond Engl.* 2004 Dec;8(6):R409-413.

21. Zhao H, Heard SO, Mullen MT, Crawford S, Goldberg RJ, Frendl G, et al. An evaluation of the diagnostic accuracy of the 1991 American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine and the 2001 Society of Critical Care Medicine/European Society of Intensive Care Medicine/American College of Chest Physicians/American Thoracic Society/Surgical Infection Society sepsis definition. *Crit Care Med*. 2012 Jun;40(6):1700–6.
22. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016 Feb 23;315(8):801–10.
23. Kaukonen KM, Bailey M, Suzuki S, Pilcher D, Bellomo R. Mortality related to severe sepsis and septic shock among critically ill patients in Australia and New Zealand, 2000-2012. *JAMA*. 2014 Apr 2;311(13):1308–16.
24. Simpson SQ. New Sepsis Criteria: A Change We Should Not Make. *Chest*. 2016 May;149(5):1117–8.
25. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med*. 1996 Jul;22(7):707–10.
26. Cecconi M, Evans L, Levy M, Rhodes A. Sepsis and septic shock. *Lancet Lond Engl*. 2018 Jul 7;392(10141):75–87.
27. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Lond Engl*. 2020 Jan 18;395(10219):200–11.
28. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NKJ, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016 Feb 1;193(3):259–72.
29. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med*. 2017 Mar;43(3):304–77.

30. Vincent JL, Jones G, David S, Olariu E, Cadwell KK. Frequency and mortality of septic shock in Europe and North America: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Lond Engl*. 2019 May 31;23(1):196.
31. Shrestha GS, Kwizera A, Lundeg G, Baelani JI, Azevedo LCP, Pattnaik R, et al. International Surviving Sepsis Campaign guidelines 2016: the perspective from low-income and middle-income countries. *Lancet Infect Dis*. 2017 Sep;17(9):893–5.
32. Barnato AE, Alexander SL, Linde-Zwirble WT, Angus DC. Racial variation in the incidence, care, and outcomes of severe sepsis: analysis of population, patient, and hospital characteristics. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Feb 1;177(3):279–84.
33. Sakr Y, Jaschinski U, Wittebole X, Szakmany T, Lipman J, Namendys-Silva SA, et al. Sepsis in Intensive Care Unit Patients: Worldwide Data From the Intensive Care over Nations Audit. *Open Forum Infect Dis*. 2018 Dec;5(12):ofy313.
34. Liu V, Escobar GJ, Greene JD, Soule J, Whippy A, Angus DC, et al. Hospital deaths in patients with sepsis from 2 independent cohorts. *JAMA*. 2014 Jul 2;312(1):90–2.
35. Reinhart K, Daniels R, Kissoon N, Machado FR, Schachter RD, Finfer S. Recognizing Sepsis as a Global Health Priority - A WHO Resolution. *N Engl J Med*. 2017 Aug 3;37(5):414–7.
36. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001 Jul;29(7):1303–10.
37. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med*. 2003 Apr 17;348(16):1546–54.
38. Moss M. Epidemiology of sepsis: race, sex, and chronic alcohol abuse. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2005 Nov 15;41 Suppl 7:S490-497.
39. Wood KA, Angus DC. Genetic epidemiology of sepsis and septic shock. *Semin Respir Crit Care Med*. 2004 Dec;25(6):611–8.

40. Sørensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, Teasdale TW. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Engl J Med*. 1988 Mar 24;318(12):727-32. doi: 10.1056/NEJM198803243181202. PMID: 3347221.
41. Biehl M, Takahashi PY, Cha SS, Chaudhry R, Gajic O, Thorsteinsdottir B. Prediction of critical illness in elderly outpatients using elder risk assessment: a population-based study. *Clin Interv Aging*. 2016;11:829–34.
42. Paoli CJ, Reynolds MA, Sinha M, Gitlin M, Crouser E. Epidemiology and Costs of Sepsis in the United States-An Analysis Based on Timing of Diagnosis and Severity Level. *Crit Care Med*. 2018 Dec;46(12):1889–97.
43. Arabi YM, Dara SI, Tamim HM, Rishu AH, Bouchama A, Khedr MK, et al. Clinical characteristics, sepsis interventions and outcomes in the obese patients with septic shock: an international multicenter cohort study. *Crit Care Lond Engl*. 2013 Apr 17;17(2):R72.
44. Kalani C, Venigalla T, Bailey J, Udeani G, Surani S. Sepsis Patients in Critical Care Units with Obesity: Is Obesity Protective? *Cureus*. 2020 Feb 10;12(2):e6929.
45. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med*. 2006 Feb;34(2):344–53.
46. Vincent JL, Lefrant JY, Kotfis K, Nanchal R, Martin-Loeches I, Wittebole X, et al. Comparison of European ICU patients in 2012 (ICON) versus 2002 (SOAP). *Intensive Care Med*. 2018 Mar;44(3):337–44.
47. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*. 2013 Aug 29;369(9):840–51.
48. Takeuchi O, Akira S. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell*. 2010 Mar 19;140(6):805–20.
49. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science*. 2002 Apr 12;296(5566):301–5.
50. Bianchi ME. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol*. 2007 Jan;81(1):1–5.

51. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Basic immunology: functions and disorders of the immune system [Internet]. 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2023 [cited 2024 Nov 26]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog?cmd=PureSearch&term=101312426%5Bnlmid%5D>
52. Stearns-Kurosawa DJ, Osuchowski MF, Valentine C, Kurosawa S, Remick DG. The pathogenesis of sepsis. *Annu Rev Pathol.* 2011;6:19-48. doi: 10.1146/annurev-pathol-011110-130327. PMID: 20887193; PMCID: PMC3684427.
53. Burkovskiy I, Sardinha J, Zhou J, Lehmann C. Cytokine release in sepsis. *Adv Biosci Biotechnol.* 2013 Aug 26;4(9):860–5.
54. Aikawa N. [Cytokine storm in the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome associated with surgical insults]. *Nihon Geka Gakkai Zasshi.* 1996 Sep;97(9):771–7.
55. Marchant A, Devière J, Byl B, De Groote D, Vincent JL, Goldman M. Interleukin-10 production during septicaemia. *Lancet Lond Engl.* 1994 Mar 19;343(8899):707–8.
56. Gårdlund B, Sjölin J, Nilsson A, Roll M, Wickerts CJ, Wretling B. Plasma levels of cytokines in primary septic shock in humans: correlation with disease severity. *J Infect Dis.* 1995 Jul;172(1):296–301.
57. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *Lancet Infect Dis.* 2013 Mar;13(3):260–8.
58. Bosmann M, Ward PA. The inflammatory response in sepsis. *Trends Immunol.* 2013 Mar;34(3):129–36.
59. King EG, Bauzá GJ, Mella JR, Remick DG. Pathophysiologic mechanisms in septic shock. *Lab Invest J Tech Methods Pathol.* 2014 Jan;94(1):4–12.
60. Vincent JL. The rise and fall of drotrecogin alfa (activated). *Lancet Infect Dis.* 2012 Sep;12(9):649–51.
61. Esmon CT. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol.* 2005 Nov;131(4):417–30.

62. Hunt BJ. Bleeding and coagulopathies in critical care. *N Engl J Med*. 2014 Feb 27;370(9):847–59.
63. Venet F, Monneret G. Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression. *Nat Rev Nephrol*. 2018 Feb;14(2):121–37.
64. Seymour CW, Rosengart MR. Septic Shock: Advances in Diagnosis and Treatment. *JAMA*. 2015 Aug 18;314(7):708–17.
65. De Backer D, Orbegozo Cortes D, Donadello K, Vincent JL. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. *Virulence*. 2014 Jan 1;5(1):73–9.
66. Singer M. The role of mitochondrial dysfunction in sepsis-induced multi-organ failure. *Virulence*. 2014 Jan 1;5(1):66–72.
67. Chiu C, Legrand M. Epidemiology of sepsis and septic shock. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2021 Apr 1;34(2):71–6.
68. Basodan N, Al Mehmadi AE, Al Mehmadi AE, Aldawood SM, Hawsawi A, Fatini F, et al. Septic Shock: Management and Outcomes. *Cureus*. 2022 Dec;14(12):e32158.
69. Pool R, Gomez H, Kellum JA. Mechanisms of Organ Dysfunction in Sepsis. *Crit Care Clin*. 2018 Jan;34(1):63–80.
70. Shi R, Hamzaoui O, De Vita N, Monnet X, Teboul JL. Vasopressors in septic shock: which, when, and how much? *Ann Transl Med*. 2020 Jun;8(12):794.
71. Atterton B, Paulino MC, Pova P, Martin-Loeches I. Sepsis Associated Delirium. *Medicina (Mex)*. 2020 May 18;56(5):240.
72. Arnold RC, Shapiro NI, Jones AE, Schorr C, Pope J, Casner E, et al. Multicenter study of early lactate clearance as a determinant of survival in patients with presumed sepsis. *Shock* Augusta Ga. 2009 Jul;32(1):35–9.
73. Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management. *BMJ*. 2016 May 23;353:i1585.

74. James JH, Luchette FA, McCarter FD, Fischer JE. Lactate is an unreliable indicator of tissue hypoxia in injury or sepsis. *Lancet Lond Engl*. 1999 Aug 7;354(9177):505–8.
75. Marikar D, Babu P, Fine-Goulden M. How to interpret lactate. *Arch Dis Child - Educ. Pract*. 2021 jun;106(3):167-71.
76. Levy B. Lactate and shock state: the metabolic view. *Curr Opin Crit Care*. 2006 Aug;12(4):315–21.
77. Connett RJ, Honig CR, Gayeski TE, Brooks GA. Defining hypoxia: a systems view of VO₂, glycolysis, energetics, and intracellular PO₂. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 1990 Mar;68(3):833–42.
78. Hameed SM, Aird WC, Cohn SM. Oxygen delivery. *Crit Care Med*. 2003 Dec;31(12 Suppl):S658-667.
79. Levy B, Perez P, Gibot S, Gerard A. Increased muscle-to-serum lactate gradient predicts progression towards septic shock in septic patients. *Intensive Care Med*. 2010 Oct;36(10):1703–9.
80. Spiegel R, Gordon D, Marik PE. The origins of the Lacto-Bolo reflex: the mythology of lactate in sepsis. *J Thorac Dis*. 2020 Feb;12(Suppl 1):S48-S53. doi: 10.21037/jtd.2019.11.48. PMID: 32148925; PMCID: PMC7024759.
81. Losser MR, Damoisel C, Payen D. Bench-to-bedside review: Glucose and stress conditions in the intensive care unit. *Crit Care*. 2010;14(4):231.
82. Fink MP. Cytopathic hypoxia. Mitochondrial dysfunction as mechanism contributing to organ dysfunction in sepsis. *Crit Care Clin*. 2001 Jan;17(1):219–37.
83. Levy B, Desebbe O, Montemont C, Gibot S. Increased aerobic glycolysis through beta2 stimulation is a common mechanism involved in lactate formation during shock states. *Shock Augusta Ga*. 2008 Oct;30(4):417–21.
84. Gore DC, Jahoor F, Hibbert JM, DeMaria EJ. Lactic acidosis during sepsis is related to increased pyruvate production, not deficits in tissue oxygen availability. *Ann Surg*. 1996 Jul;224(1):97–102.

85. Wutrich Y, Barraud D, Conrad M, Cravoisy-Popovic A, Nace L, Bollaert PE, et al. Early increase in arterial lactate concentration under epinephrine infusion is associated with a better prognosis during shock. *Shock* Augusta Ga. 2010 Jul;34(1):4–9.
86. Lewis LM, Ferguson I, House SL, Aubuchon K, Schneider J, Johnson K, et al. Albuterol administration is commonly associated with increases in serum lactate in patients with asthma treated for acute exacerbation of asthma. *Chest*. 2014 Jan;145(1):53–9.
87. Pham D, Ward H, Yong B, Mahendra Raj J, Awad M, Harvey M, et al. Is lactate lower in septic patients who are prescribed beta blockers? Retrospective cohort study of an intensive care population. *Emerg Med Australas EMA*. 2021 Feb;33(1):82–7.
88. Sterling SA, Puskarich MA, Jones AE. The effect of liver disease on lactate normalization in severe sepsis and septic shock: a cohort study. *Clin Exp Emerg Med*. 2015 Dec;2(4):197–202.
89. Andersen LW, Mackenhauer J, Roberts JC, Berg KM, Cocchi MN, Donnino MW. Etiology and therapeutic approach to elevated lactate levels. *Mayo Clin Proc*. 2013 Oct;88(10):1127–40.
90. Levy MM, Evans LE, Rhodes A. The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 Update. *Crit Care Med*. 2018 Jun 1;46(6):997–1000.
91. Gül F, Arslantaş MK, Cinel İ, Kumar A. Changing Definitions of Sepsis. *Turk J Anaesthesiol Reanim*. 2017 Jun;45(3):129–38.
92. Hotchkiss RS, Moldawer LL, Opal SM, Reinhart K, Turnbull IR, Vincent JL. Sepsis and septic shock. *Nat Rev Dis Primer*. 2016 Jun 30;2:16045.
93. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, et al. Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2016 Sep 1;63(5):e61–111.
94. Metlay JP, Waterer GW, Long AC, Anzueto A, Brozek J, Crothers K, et al. Diagnosis and Treatment of Adults with Community-acquired Pneumonia. An Official Clinical Practice

Guideline of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Oct 1;200(7):e45–67.

95. Penack O, Becker C, Buchheidt D, Christopeit M, Kiehl M, von Lilienfeld-Toal M, et al. Management of sepsis in neutropenic patients: 2014 updated guidelines from the Infectious Diseases Working Party of the German Society of Hematology and Medical Oncology (AGIHO). *Ann Hematol*. 2014 Jul;93(7):1083–95.
96. Liang SY, Kumar A. Empiric antimicrobial therapy in severe sepsis and septic shock: optimizing pathogen clearance. *Curr Infect Dis Rep*. 2015 Jul;17(7):493.
97. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Herrera-Melero I, Aldabó-Pallás T, Cayuela-Dominguez A, Marquez-Vacaro JA, et al. Mortality and morbidity attributable to inadequate empirical antimicrobial therapy in patients admitted to the ICU with sepsis: a matched cohort study. *J Antimicrob Chemother*. 2008 Feb;61(2):436–41.
98. Wittayachamnankul B, Chentanakij B, Sruamsiri K, Chattipakorn N. The role of central venous oxygen saturation, blood lactate, and central venous-to-arterial carbon dioxide partial pressure difference as a goal and prognosis of sepsis treatment. *J Crit Care*. 2016 Dec;36:223–9.
99. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*. 2006 Jun;34(6):1589–96.
100. Roberts JA, Abdul-Aziz MH, Lipman J, Mouton JW, Vinks AA, Felton TW, et al. Individualised antibiotic dosing for patients who are critically ill: challenges and potential solutions. *Lancet Infect Dis*. 2014 Jun;14(6):498–509.
101. Matijašević J, Gavrilović S, Andrijević I, Andrijević A, Milić S, Vukoja M. Inhalatory and intravenous colistin in treating ventilator-associated pneumonia due to acinetobacter species: Should we combine them? *Vojnosanit Pregl*. 2020;77(8):832–8.
102. Roberts JA, Abdul-Aziz MH, Davis JS, Dulhunty JM, Cotta MO, Myburgh J, et al. Continuous versus Intermittent β -Lactam Infusion in Severe Sepsis. A Meta-analysis of Individual Patient Data from Randomized Trials. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016 Sep 15;194(6):681–91.

103. Kim MH, Choi JH. An Update on Sepsis Biomarkers. *Infect Chemother*. 2020 Mar;52(1):1–18.
104. Jekarl DW, Lee S, Kim M, Kim Y, Woo SH, Lee WJ. Procalcitonin as a prognostic marker for sepsis based on SEPSIS-3. *J Clin Lab Anal*. 2019 Aug 16;33(9):e22996.
105. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003 Jun;111(12):1805–12.
106. Habib S, Sheikh A, Ansar W. Role of C-Reactive Protein (CRP) in sepsis: severity and outcome. In: Wani IA, editor. *Clinical biomarkers in sepsis and septic shock* [Internet]. Singapore: Springer; 2020. p. [chapter pagination if known] [cited 2025 Apr 11]. Available from: https://doi.org/10.1007/978-981-15-6787-2_9
107. Koozi H, Lengquist M, Frigyesi A. C-reactive protein as a prognostic factor in intensive care admissions for sepsis: A Swedish multicenter study. *J Crit Care*. 2020 Apr;56:73–9.
108. Müller B, White JC, Nylén ES, Snider RH, Becker KL, Habener JF. Ubiquitous expression of the calcitonin-i gene in multiple tissues in response to sepsis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Jan;86(1):396–404.
109. Clinical Laboratory Diagnostics [Internet]. [cited 2024 Nov 27]. Available from: <https://www.clinical-laboratory-diagnostics.com/>
110. Hassan J, Khan S, Zahra R, Razaq A, Zain A, Razaq L, et al. Role of Procalcitonin and C-reactive Protein as Predictors of Sepsis and in Managing Sepsis in Postoperative Patients: A Systematic Review. *Cureus*. 2022 Nov;14(11):e31067.
111. Kopterides P, Siempos II, Tsangaris I, Tsantes A, Armaganidis A. Procalcitonin-guided algorithms of antibiotic therapy in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit Care Med*. 2010 Nov;38(11):2229–41.
112. Wirz Y, Meier MA, Bouadma L, Luyt CE, Wolff M, Chastre J, et al. Effect of procalcitonin-guided antibiotic treatment on clinical outcomes in intensive care unit patients with infection and sepsis patients: a patient-level meta-analysis of randomized trials. *Crit Care Lond Engl*. 2018 Aug 15;22(1):191.

113. Jain S, Sinha S, Sharma SK, Samantaray JC, Aggrawal P, Vikram NK, et al. Procalcitonin as a prognostic marker for sepsis: a prospective observational study. *BMC Res Notes*. 2014 Jul 17;7:458.
114. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014 Sep 4;6(10):a016295.
115. Vivas MC, Villamarin Guerrero HF, Tascon AJ, Valderrama-Aguirre A. Plasma interleukin-6 levels correlate with survival in patients with bacterial sepsis and septic shock. *Interv Med Appl Sci*. 2021 Aug;11(4):224–30.
116. Šahinović I. Endokanabinoidi anandamid i 2-arahidonoilglicerol kao čimbenici rizika za ishod sepse (doktorska disertacija). Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek; 2023.
117. Damas P, Reuter A, Gysen P, Demonty J, Lamy M, Franchimont P. Tumor necrosis factor and interleukin-1 serum levels during severe sepsis in humans. *Crit Care Med*. 1989 Oct;17(10):975–8.
118. Surbatovic M, Popovic N, Vojvodic D, Milosevic I, Acimovic G, Stojicic M, et al. Cytokine profile in severe Gram-positive and Gram-negative abdominal sepsis. *Sci Rep*. 2015 Jun 16;5:11355.
119. Nohl H, Kozlov AV, Gille L, Staniek K. Cell respiration and formation of reactive oxygen species: facts and artefacts. *Biochem Soc Trans*. 2003 Dec;31(Pt 6):1308–11.
120. Đukić M, Ninković M, Jovanović M. Oxidative stress: Clinical diagnostic significance. *J Med Biochem*. 2008; 27(4):409-25.
121. Li R, Jia Z, Trush MA. Defining ROS in Biology and Medicine. *React Oxyg Species Apex NC*. 2016;1(1):9–21.
122. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem IJCB*. 2015 Jan;30(1):11–26.
123. Kotsonis P, Frey A, Fröhlich LG, Hofmann H, Reif A, Wink DA, et al. Autoinhibition of neuronal nitric oxide synthase: distinct effects of reactive nitrogen and oxygen species on enzyme activity. *Biochem J*. 1999 Jun 15;340(Pt 3):745–52.

124. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr.* 1996;16:33–50.
125. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 2006 Jun;141(2):312–22.
126. Galley HF. Bench-to-bedside review: Targeting antioxidants to mitochondria in sepsis. *Crit Care.* 2010;14(4):230.
127. Hydrogen peroxide and disease: Towards a unified system of pathogenesis and therapeutics [Internet]. ResearchGate; 2024 Oct 22 [cited 2025 Jan 31]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/341218644_Hydrogen_peroxide_and_disease_Towards_a_unified_system_of_pathogenesis_and_therapeutics
128. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett.* 2000 Dec 1;486(1):10–3.
129. Lismont C, Revenco I, Fransen M. Peroxisomal Hydrogen Peroxide Metabolism and Signaling in Health and Disease. *Int J Mol Sci.* 2019 Jul 26;20(15):3673.
130. Pregernig A, Held U, Schläpfer M, Beck-Schimmer B. Vitamin B12 status and the risk of developing sepsis in patients with bacterial infection: a prospective observational cohort study. *BMC Med.* 2024 Aug 13;22:330.
131. Kıran TR, Otlı O, Karabulut AB. Oxidative stress and antioxidants in health and disease. *J Lab Med.* 2023 Feb 1;47(1):1–11.
132. Petrović J. Povezanost vrednosti prokalcitonina i parametara oksidacionog stresa kod pacijenta sa sepsom (doktorska disertacija). Kragujevac: Univerzitet u Kragujevcu; 2021.
133. Noor R, Mittal S, Iqbal J. Superoxide dismutase--applications and relevance to human diseases. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.* 2002 Sep;8(9):RA210-215.
134. Rosa AC, Corsi D, Cavi N, Bruni N, Dosio F. Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses. *Mol Basel Switz.* 2021 Mar 25;26(7):1844.
135. 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.

136. Glutation. Hravatska enciklopedija [Internet]. Zagreb:Leksigografski zavod Miroslav Krleža;2021[citirano 2025-04-17]:<https://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=23164>
137. Abelli J, Méndez-Valdés G, Gómez-Hevia F, Bragato MC, Chichiarelli S, Saso L, et al. Potential Antioxidant Multitherapy against Complications Occurring in Sepsis. *Biomedicines*. 2022 Dec 1;10(12):3088.
138. Sahoo DK, Wong D, Patani A, Paital B, Yadav VK, Patel A, Jergens AE. Exploring the role of antioxidants in sepsis-associated oxidative stress: a comprehensive review. *Front Cell Infect Microbiol*. 2024 Mar 6;14:1348713. doi: 10.3389/fcimb.2024.1348713. PMID: 38510969; PMCID: PMC10952105.
139. Beleslin B, Ostojić M, Kanjuh V. *Kardiologija* [Internet]. Beograd: Zavod za udžbenike; [cited 2025 Feb 5]. Available from: <https://www.knjiga.ba/kardjiologija-m9603.html>
140. Wang L, Cheng CK, Yi M, Lui KO, Huang Y. Targeting endothelial dysfunction and inflammation. *J Mol Cell Cardiol*. 2022 Jul;168:58–67.
141. Ćurko-Cofek B, Batinac T, Laškarin G, Rakić M, Knežević D, Šustić A, et al. Endotelna disfunkcija u sepsi. *Liječnički Vjesn*. 2023 Nov 20;145(Supp 4):24–34.
142. Kawecki C, Lenting PJ, Denis CV. von Willebrand factor and inflammation. *J Thromb Haemost*. 2017 Jul 1;15(7):1285–94.
143. Lu X, Yuan X, Chao Y, Wu X, Liu A. The association of plasma homocysteine levels with short-term mortality in sepsis patients: A meta-analysis. *Biomol Biomed*. 2025 Mar 7;25(4):786–97.
144. Fan R, Zhang A, Zhong F. Association between Homocysteine Levels and All-cause Mortality: A Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Studies. *Sci Rep*. 2017 Jul 6;7(1):4769.
145. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), World Health Organization (WHO). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023 - 2021 data. Stockholm: ECDC and WHO; 2023. Available from: <http://apps.who.int/iris>
146. Lee TR, Kang MJ, Cha WC, Shin TG, Sim MS, Jo IJ, et al. Better lactate clearance associated with good neurologic outcome in survivors who treated with therapeutic

- hypothermia after out-of-hospital cardiac arrest. *Crit Care Lond Engl*. 2013 Oct 31;17(5):R260.
147. Min SY, Yong HJ, Kim D. Sex or gender differences in treatment outcomes of sepsis and septic shock. *Acute Crit Care*. 2024 May;39(2):207–13.
 148. Lakbar I, Einav S, Lalevée N, Martin-Loeches I, Pastene B, Leone M. Interactions between Gender and Sepsis—Implications for the Future. *Microorganisms*. 2023 Mar 14;11(3):746.
 149. Dong R, Liu W, Weng L, Yin P, Peng J, Chen Y, et al. Temporal trends of sepsis-related mortality in China, 2006–2020: a population-based study. *Ann Intensive Care*. 2023 Aug 14;13:71.
 150. Abu-Humaidan AHA, Ahmad FM, Al-Binni MA, Bani Hani A, Abu Abeeleh M. Characteristics of Adult Sepsis Patients in the Intensive Care Units in a Tertiary Hospital in Jordan: An Observational Study. *Crit Care Res Pract*. 2021 Dec 30;2021:2741271.
 151. Rudd KE, Kissoon N, Limmathurotsakul D, Bory S, Mutahunga B, Seymour CW, et al. The global burden of sepsis: barriers and potential solutions. *Crit Care Lond Engl*. 2018 Sep 23;22(1):232.
 152. La Via L, Sangiorgio G, Stefani S, Marino A, Nunnari G, Cocuzza S, et al. The Global Burden of Sepsis and Septic Shock. *Epidemiol Basel Switz*. 2024 Jul 25;5(3):456–78.
 153. Reitz KM, Kennedy J, Li SR, Handzel R, Tonetti DA, Neal MD, et al. Association Between Time to Source Control in Sepsis and 90-Day Mortality. *JAMA Surg*. 2022 Sep;157(9):817–26.
 154. Andersson M, Fröderberg Schooner K, Karlsson Werther V, Karlsson T, De Geer L, Wilhelms DB, et al. Prehospital lactate analysis in suspected sepsis improves detection of patients with increased mortality risk: an observational study. *Crit Care*. 2025 Jan 21;29(1):38.
 155. Zhu B, Zhou R, Qin J, Li Y. Hierarchical Capability in Distinguishing Severities of Sepsis via Serum Lactate: A Network Meta-Analysis. *Biomedicines*. 2024 Feb 17;12(2):447.

156. Vincent JL, Sakr Y, Singer M, Martin-Loeches I, Machado FR, Marshall JC, et al. Prevalence and Outcomes of Infection Among Patients in Intensive Care Units in 2017. *JAMA*. 2020 Apr 21;323(15):1478–87.
157. Montull B, Menéndez R, Torres A, Reyes S, Méndez R, Zalacaín R, et al. Predictors of Severe Sepsis among Patients Hospitalized for Community-Acquired Pneumonia. *PloS One*. 2016;11(1):e0145929.
158. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, et al. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest*. 2009 Nov;136(5):1237–48.
159. Guo Q, Qu P, Cui W, Liu M, Zhu H, Chen W, et al. Organism type of infection is associated with prognosis in sepsis: an analysis from the MIMIC-IV database. *BMC Infect Dis*. 2023 Jun 26;23(1):431.
160. Santella B, Folliero V, Pirofalo GM, Serretiello E, Zannella C, Moccia G, et al. Sepsis-A Retrospective Cohort Study of Bloodstream Infections. *Antibiot Basel Switz*. 2020 Nov 28;9(12):851.
161. Juliana A, Leela KV, Gopinathan A, Sujith R. Occurrence and Resistance Pattern of Gram-Negative Bacteremia and Sepsis in A Tertiary Care Hospital-A Four-Year Study. *J Pure Appl Microbiol*. 2022;16(1):655-662. doi: 10.22207/JPAM.16.1.67.
162. Vasudeva N, Nirwan PS, Shrivastava P. Bloodstream infections and antimicrobial sensitivity patterns in a tertiary care hospital of India. *Ther Adv Infect Dis*. 2016 Oct;3(5):119–27.
163. Tang A, Shi Y, Dong Q, Wang S, Ge Y, Wang C, et al. Prognostic differences in sepsis caused by gram-negative bacteria and gram-positive bacteria: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Lond Engl*. 2023 Nov 30;27(1):467.
164. Tian S, Li K, Tang H, Peng Y, Xia L, Wang X, et al. Clinical characteristics of Gram-negative and Gram-positive bacterial infection in acute cholangitis: a retrospective observational study. *BMC Infect Dis*. 2022 Mar 20;22(1):269.

165. Mihaljevic O, Zivancevic-Simonovic S, Jovanovic D, Drakulic SM, Vukajlovic JT, Markovic A, et al. Oxidative stress and DNA damage in critically ill patients with sepsis. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2023 Jul;889:503655.
166. Prabhudev P, Ramamoorthi K, Acharya RV. A Clinical and Demographic Profile of Elderly (>65 Years) in the Medical Intensive Care Units of a Tertiary Care Center. *Indian J Crit Care Med Peer-Rev Off Publ Indian Soc Crit Care Med*. 2023 Mar;27(3):166–75.
167. Mankowski RT, Anton SD, Ghita GL, Brumback B, Cox MC, Mohr AM, et al. Older Sepsis Survivors Suffer Persistent Disability Burden and Poor Long-Term Survival. *J Am Geriatr Soc*. 2020 Sep;68(9):1962–9.
168. Artero A, López-Cruz I, Alberola J, Eiros JM, Resa E, Piles L, et al. Influence of Sepsis on the Middle-Term Outcomes for Urinary Tract Infections in Elderly People. *Microorganisms*. 2023 Jul 31;11(8):1959.
169. Antequera A, Lopez-Alcalde J, Stallings E, Muriel A, Fernández Félix B, Del Campo R, et al. Sex as a prognostic factor for mortality in critically ill adults with sepsis: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2021 Sep 22;11(9):e048982.
170. Sunden-Cullberg J, Nilsson A, Inghammar M. Sex-based differences in ED management of critically ill patients with sepsis: a nationwide cohort study. *Intensive Care Med*. 2020 Apr;46(4):727–736. doi: 10.1007/s00134-019-05910-9. Epub 2020 Jan 23. PMID: 31974918; PMCID: PMC7103003.
171. van Vught LA, Scicluna BP, Wiewel MA, Hoogendijk AJ, Klein Klouwenberg PMC, Ong DSY, et al. Association of Gender With Outcome and Host Response in Critically Ill Sepsis Patients. *Crit Care Med*. 2017 Nov;45(11):1854–62.
172. Li Y, Yan C, Gan Z, Xi X, Tan Z, Li J, et al. Prognostic values of SOFA score, qSOFA score, and LODS score for patients with sepsis. *Ann Palliat Med*. 2020 May;9(3):1037044–1031044.
173. Qiu X, Lei YP, Zhou RX. SIRS, SOFA, qSOFA, and NEWS in the diagnosis of sepsis and prediction of adverse outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2023;21(8):891–900.

174. Waligora G, Gaddis G, Church A, Mills L. Rapid Systematic Review: The Appropriate Use of Quick Sequential Organ Failure Assessment (qSOFA) in the Emergency Department. *J Emerg Med*. 2020 Dec 1;59(6):977–83.
175. Günaydın YK, Kocaşaban DÜ, Güler S, Demirtaş E, Çövüt Y, Öztürk MC, et al. Importance of qSOFA Score in Terms of Prognosis and Mortality in Critical Care Patients. *Yonago Acta Med*. 2024 Aug 27;67(3):225.
176. Abdullah SMOB, Grand J, Sijapati A, Puri PR, Nielsen FE. qSOFA is a useful prognostic factor for 30-day mortality in infected patients fulfilling the SIRS criteria for sepsis. *Am J Emerg Med*. 2020 Mar 1;38(3):512–6.
177. Liu J, Bai C, Li B, Shan A, Shi F, Yao C, et al. Mortality prediction using a novel combination of biomarkers in the first day of sepsis in intensive care units. *Sci Rep*. 2021 Jan 14;11:1275.
178. Singh K, Kwong AC, Madarati H, Kunasekaran S, Sparring T, Fox-Robichaud AE, Liaw PC, Kretz CA. Characterization of ADAMTS13 and von Willebrand factor levels in septic and non-septic ICU patients. *PLoS One*. 2021 Feb 19;16(2):e0247017. doi: 10.1371/journal.pone.0247017. PMID: 33606732; PMCID: PMC7894828.
179. Svirid S, Khalaila R, Daher S, Bayya A, Linton DM, Stav I, et al. Increased Vitamin B12 levels are associated with mortality in critically ill medical patients. *Clin Nutr Edinb Scotl*. 2012 Feb;31(1):53–9.
180. Wald EL, Badke CM, Hintz LK, Spewak M, Sanchez-Pinto LN. Vitamin therapy in sepsis. *Pediatr Res*. 2022 Jan;91(2):328–36.
181. Hsiao SY, Kung CT, Su CM, Lai YR, Huang CC, Tsai NW, et al. Impact of oxidative stress on treatment outcomes in adult patients with sepsis: A prospective study. *Medicine (Baltimore)*. 2020 Jun 26;99(26):e20872.
182. Ayala JC, Grismaldo A, Sequeda-Castañeda LG, Aristizábal-Pachón AF, Morales L. Oxidative Stress in ICU Patients: ROS as Mortality Long-Term Predictor. *Antioxidants*. 2021 Dec;10(12):1912.

183. Espinosa K, Brown SR. Serum Lactate Testing to Predict Mortality in Patients with Sepsis. *Am Fam Physician*. 2021 Mar 1;103(5):309-310. PMID: 33630558.
184. Charoentanyarak S, Sawunyavisuth B, Deepai S, Sawanyawisuth K. A Point-of-Care Serum Lactate Level and Mortality in Adult Sepsis Patients: A Community Hospital Setting. *J Prim Care Community Health*. 2021 Jan 1;12:21501327211000233.
185. Vincent JL, Quintairos E Silva A, Couto L, Taccone FS. The value of blood lactate kinetics in critically ill patients: a systematic review. *Crit Care Lond Engl*. 2016 Aug 13;20(1):257.
186. Chen H, Zhao C, Wei Y, Jin J. Early lactate measurement is associated with better outcomes in septic patients with an elevated serum lactate level. *Crit Care Lond Engl*. 2019 Nov 11;23(1):351.
187. Tejaswini P, Singhai A, Pawar A, Joshi R, Saigal S, Pakhare AP. Study on Assessing Serum Lactate as an Early Prognostic Determinant in Sepsis Outcome. *Cureus*. 2024 Jan;16(1):e52186.
188. Gavrilović S. Nezavisni prediktori mortaliteta kod pacijenata u sepsi (doktorska disertacija). Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu; 2021.
189. Nada M, Mehrez M, Abdelhameed S, Saad A. Study between lactate clearance and APACHE II score as predictor prognosis of septic patients. *Al-Azhar Int Med J*. 2022 Aug 1;3(8):113–7.
190. Lee SG, Song J, Park DW, Moon S, Cho H jin, Kim JY, et al. Prognostic value of lactate levels and lactate clearance in sepsis and septic shock with initial hyperlactatemia. *Medicine (Baltimore)*. 2021 Feb 19;100(7):e24835.
191. Rani A, Barter J, Kumar A, Stortz JA, Hollen M, Nacionales D, et al. Influence of age and sex on microRNA response and recovery in the hippocampus following sepsis. *Aging*. 2022 Jan 30;14(2):728–46.
192. Nandi M, Jackson SK, Macrae D, Shankar-Hari M, Tremoleda JL, Lilley E. Rethinking animal models of sepsis – working towards improved clinical translation whilst integrating the 3Rs. *Clin Sci*. 2020 Jul 10;134(13):1715–34.

193. Schupp T, Weidner K, Rusnak J, Jawhar S, Forner J, Dulatahu F, et al. C-reactive protein and procalcitonin during course of sepsis and septic shock. *Ir J Med Sci*. 2024 Feb;193(1):457–68.
194. Dupuis C, Bouadma L, Ruckly S, Perozziello A, Van-Gysel D, Mageau A, et al. Sepsis and septic shock in France: incidences, outcomes and costs of care. *Ann Intensive Care*. 2020 Oct 20;10(1):145.
195. Liu YC, Yao Y, Yu MM, Gao YL, Qi AL, Jiang TY, et al. Frequency and mortality of sepsis and septic shock in China: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2022 Jun 21;22(1):564.
196. Li Y, Guo J, Yang H, Li H, Shen Y, Zhang D. Comparison of culture-negative and culture-positive sepsis or septic shock: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Lond Engl*. 2021 May 8;25(1):167.
197. Mateu Campos L, Galarza Barrachina L, Arlandis Tomas M, Sanchez Morán F, Belenguer Muncharaz A, Ferrándiz Sellés D, et al. Homocysteine levels in septic shock. *Intensive Care Med Exp*. 2015 Oct 1;3(Suppl 1):A305.
198. Catalanotto FR, Ippolito M, Mirasola A, Catalisano G, Milazzo M, Giarratano A, et al. Hyperoxia in critically ill patients with sepsis and septic shock: a systematic review. *J Anesth Analg Crit Care*. 2023 May 3;3(1):12.
199. Peters-Sengers H, Butler JM, Uhel F, Schultz MJ, Bonten MJ, Cremer OL, et al. Source-specific host response and outcomes in critically ill patients with sepsis: a prospective cohort study. *Intensive Care Med*. 2022 Jan;48(1):92–102.
200. Sugimoto M, Takayama W, Murata K, Otomo Y. The impact of lactate clearance on outcomes according to infection sites in patients with sepsis: a retrospective observational study. *Sci Rep*. 2021 Nov 17;11(1):22394.
201. Kumar NR, Balraj TA, Kempegowda SN, Prashant A. Multidrug-Resistant Sepsis: A Critical Healthcare Challenge. *Antibiot Basel Switz*. 2024 Jan 4;13(1):46.
202. López-de-Andrés A, Albaladejo-Vicente R, de Miguel-Diez J, Hernández-Barrera V, Ji Z, Zamorano-León JJ, et al. Gender differences in incidence and in-hospital outcomes of

- community-acquired, ventilator-associated and nonventilator hospital-acquired pneumonia in Spain. *Int J Clin Pract*. 2021 Mar;75(3):e13762.
203. Tsantes A, Tsangaris I, Nikolopoulos G, Bagos P, Kopterides P, Antonakos G, et al. The effect of homocysteine on the clinical outcomes of ventilated patients with severe sepsis. *Minerva Anesthesiol*. 2010 Oct;76(10):787–94.
204. Coelho Neto A, Azevedo RP, Santos MBP, Galdieri L de C, D’Almeida V, Amaral JLG do, et al. Homocysteine plasma levels as a marker of clinical severity in septic patients. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2010 Dec;22(4):327–32.
205. Naqvi F, Jain P, Umer A, Rana B, Hadique S. Outcomes of Patients With Sepsis and Septic Shock Requiring Source Control: A Prospective Observational Single-Center Study. *Crit Care Explor*. 2022 Dec;4(12):e0807.
206. Nejtek T, Müller M, Moravec M, Průcha M, Zazula R. Bacteremia in Patients with Sepsis in the ICU: Does It Make a Difference? *Microorganisms*. 2023 Sep 20;11(9):2357.
207. Liu A, Yo CH, Nie L, Yu H, Wu K, Tong HS, et al. Comparing mortality between positive and negative blood culture results: an inverse probability of treatment weighting analysis of a multicenter cohort. *BMC Infect Dis*. 2021 Feb 17;21:182.
208. Yang L, Lin Y, Wang J, Song J, Wei B, Zhang X, et al. Comparison of Clinical Characteristics and Outcomes Between Positive and Negative Blood Culture Septic Patients: A Retrospective Cohort Study. *Infect Drug Resist*. 2021;14:4191–205.
209. Singh N, Puri S, Anshul null, Kumar S, Pahuja H, Kalia R, et al. Risk Factors and Outcome Analysis of Gram-Positive Bacteremia in Critically Ill Patients. *Cureus*. 2023 Mar;15(3):e36585.
210. Peetermans M, Meyers S, Liesenborghs L, Vanhoorelbeke K, De Meyer SF, Vandenbriele C, et al. Von Willebrand factor and ADAMTS13 impact on the outcome of *Staphylococcus aureus* sepsis. *J Thromb Haemost JTH*. 2020 Mar;18(3):722–31.
211. Jansen TC, van Bommel J, Schoonderbeek FJ, Sleswijk Visser SJ, van der Klooster JM, Lima AP, et al. Early Lactate-Guided Therapy in Intensive Care Unit Patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Sep 15;182(6):752–61.

212. Li M, Huang P, Xu W, Zhou Z, Xie Y, Chen C, et al. Risk factors and a prediction model for sepsis: A multicenter retrospective study in China. *J Intensive Med.* 2022 Apr 19;2(3):183–8.
213. Hayashi Y, Endoh H, Kamimura N, Tamakawa T, Nitta M. Lactate indices as predictors of in-hospital mortality or 90-day survival after admission to an intensive care unit in unselected critically ill patients. *PLoS ONE.* 2020 Mar 9;15(3):e0229135.
214. Bozza FA, Salluh JJ, Japiassu AM, Soares M, Assis EF, Gomes RN, et al. Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis. *Crit Care.* 2007;11(2):R49.
215. Wu H, Liao B, Ji T, Ma K, Luo Y, Zhang S. Comparison between traditional logistic regression and machine learning for predicting mortality in adult sepsis patients. *Front Med.* 2024;11:1496869.

9. BIOGRAFIJA

Milana Stanić je rođena 10. 04. 1974. u Jajcu. Osnovnu i srednju Medicinsku školu završila u Banjoj Luci. Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci upisala 1992. godine, a završila 1999. godine. Od 2000. godine do 2002. radila u Doma zdravlja Čelinac. Od 2002. godine zaposlena u Univerzitetskom kliničkom centru Republike Srpske u Klinici za anesteziju i intenzivno liječenje. Specijalizaciju anesteziologije i reanimatologije završila 2009. godine. Doktorske akademske studije je upisala 2017. godine. Član je doktorske komore Republike Srpske i Udruženja anesteziologa, reanimatologa i intenzivista Republike Srpske. Autor i koautor više članaka u domaćim i stranim časopisima. Udata je i majka je dvoje djece.

Изјављујем
да је докторска дисертација

Наслов рада „Значај параметара оксидативног стреса, инфламације и ендотелне дисфункције у сепси и њихова улога у диферентовању Грам негативне и Грам позитивне сепсе“.

Наслов рада на енглеском језику: „The Significance of Oxidative Stress, Inflammation, and Endothelial Dysfunction in Sepsis and Their Role in Differentiating Gram-Negative and Gram-Positive Sepsis“.

- резултати сопственог истраживачког рада,
- да докторска дисертација, у цјелини и 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.

Потпис докторанта

Милана Станић, с.р.



Бања Лука 15.04.2025.

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 параметара оксидативног стреса, инфламације и ендотелне дисфункције у сепси и њихова улога у диферентовању Грам негативне и Грам позитивне сепсе“

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. Ауторства – некомерцијално
3. Ауторства – некомерцијално – дијелити под истим условима
4. Ауторство – без прераде
5. Ауторство – дијелити под истим условима

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

Потпис докторанта

Милана Станић, с.р.

Бања Лука 15.04.2025.

Изјава 3

Изјава о идентичности штампане и електронске верзије докторске дисертације

Име и презиме аутора: Милана Станић

Наслов рада: „Значај параметара оксидативног стреса, инфламације и ендотелне дисфункције у сепси и њихова улога у диферентовању Грам негативне и Грам позитивне сепсе“

Ментор: Проф. др Пеђа Ковачевић

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

Потпис докторанта

Милана Станић, с.р.



Бања Лука, 15.04.2025.