

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Miljana Ž. Jovandarić

**Uticaj hipoksije na koncentracije elektrolita i
lipida terminske novorođenčadi**

doktorska disertacija

Beograd, 2017

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Miljana Ž. Jovandarić

**Effect of hypoxia on electrolyte and lipid
levels in term newborns**

doctoral dissertation

Belgrade, 2017

Mentor:

Prof. dr Miloš Ješić, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Komentor:

Prof. dr Petar Ivanovski, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Članovi komisije:

1. Prof. dr Silvija Sajić, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet
2. Doc. dr Dragana Bogićević, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet
3. Prof. dr Slobodan Obradović, Fakultet Medicinskih Nauka, Univerzitet u Kragujevcu

Datum odbrane:

Zahvaljujem se:

- **Mentoru, prof. dr Milošu Ješiću** na izuzetnom entuzijazmu i nesebičnoj stručnoj pomoći, prilikom izbora i izrade teze
- **Komentoru, prof. dr Petru Ivanovskom**, na podršci i saradnji tokom izrade teze
- **Mojim kolegama doktorima, medicinskim sestrama i laborantima na Klinici za Ginekologiju i akušerstvo KCS**, koji su mi pomagali prilikom izrade teze
- **Poštovanim ispitanicima**, koji su uzeli učešće u istraživanju
- **Prijateljima**, koji su me podržavali u trenucima gubitka optimizma

Posvećeno

Mojim roditeljima

Uticaj hipoksije na koncentracije elektrolita i lipida termiske novorođenčadi

Sažetak

U uslovima hipoksije dolazi do intracelularne akumulacije jona kalcijuma kao i narušene ravnoteže drugih jona (K^+ , Na^+ i Cl^-). Hipoksija sprečava protok kalijuma kroz ćelijsku membranu. Akumulacija natrijuma u ćeliji tokom hipoksije je neposredan uzrok intracelularnog nagomilavanja vode, a joni hlora pasivno slede jone natrijuma. Hipoksija dovodi do oksidacije lipoproteina. Lipidna peroksidacija je oksidaciono oštećenje koje zahvata ćelijske membrane, odnosno lipide membranskih lipoproteina kao i slobodnu frakciju plazmatskih lipida.

Cilj ove studije je bio da ispita uticaj hipoksije na koncentracije elektrolita Na^+ , K^+ , jonizovanog Ca^{++} , u prvom i drugom satu života iz arterijalizovane kapilarne krvi, koncentracije Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Cl^- u plazmi novorođenčadi u drugom danu života, kao i koncentracije ukupnog holesterola (TC), lipoproteina niske gustine (LDL), lipoproteina visoke gustine (HDL), triglicerida (TG) u plazmi novorođenčadi u drugom danu života.

U studiju je uključeno 50 novorođenčadi sa hipoksijom, rođenih u terminu, prirodnim putem ili carskim rezom koja su izložena terapiji kiseonikom nakon rođenja, zbog razvoja respiratornog distres sindroma, sa Apgar skorom (AS) manjim od 7 (opseg 1-10) i pH manji od 7,20. Kontrolna grupa se sastojala od 50 zdrave novorođenčadi, rođene u terminu, prirodnim putem ili carskim rezom bez potrebe za primenom kiseonične terapije. Iz arterijalizovane kapilarne krvi u prvom i drugom satu života kod obe grupe novorođenčadi određivani su pH, pCO_2 , pO_2 , HCO_3^- , BE, Na^+ , K^+ , jonizovani Ca^{++} . U drugom danu života iz venske krvi određivani su Na^+ , K^+ , ukupni Ca^{++} , Cl^- , i biohemijski parametri: ukupni holesterol (TC), lipoproteini niske gustine –LDL, lipoproteini visoke gustine –HDL, i trigliceridi (TG).

Rezultati: Poređenjem vrednosti pH, pCO₂, pO₂, HCO₃ i BE u prvom satu života kod novorođenčadi sa hipoksijom dobijene su niže vrednosti pH, više pCO₂, niže pO₂, niže HCO₃, i više BE (p<0,01). U drugom satu života kod novorođenčadi sa hipoksijom dobijene su niže vrednosti pH, više pCO₂, niže pO₂, i više BE (p<0,01), kao i niže vrednosti HCO₃ bez statistički značajne razlike (p>0,05).

Poređenjem koncentracije Na⁺ u prvom satu života iz arterijalizovane kapilarne krvi kod hipoksične novorođenčadi dobijene su niže vrednosti (p<0,01), u drugom satu života nađene su niže koncentracije Na⁺, ali bez statistički značajne razlike (p>0,05). Poređenjem koncentracije K⁺ u prvom satu i drugom danu života dobijena je viša vrednost (p< 0,01), u drugom satu života nađena je viša vrednost K⁺, ali bez statistički značajne razlike (p>0,05). Poređenjem koncentracije jonizovanog Ca⁺⁺ u prvom i drugom satu posle rođenja (arterijalizovana kapilarna krv), kao i koncentracije Na⁺, ukupnog Ca⁺⁺, Cl⁻ u plazmi drugog dana života, dobijene su niže koncentracije (p<0,01). Ispitivanjem koncentracije TC, LDL, TG u plazmi u drugom danu života dobijene su niže vrednosti u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji (p<0,01), kao i HDL (p<0,05).

Zaključak: Statistički značajno odstupanje koncentracije elektrolita i lipida kod novorođenčadi sa hipoksijom otvara mogućnost upotrebe novih markera perinatalne asfiksije.

Ključne reči: hipoksija, elektroliti, lipidi, novorođenče

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Neonatologija

The effect of hypoxia on electrolyte and lipid levels in term newborns

Abstract

Under hypoxia conditions, intracellular accumulation of calcium ions occurs as well as disturbed balance of other ions (K^+ , Na^+ and Cl^-). Hypoxia prevents the flow of potassium through the cell membrane. Sodium accumulation in the cell during hypoxia is the immediate cause of intracellular accumulation of water, and chlorine ions passively follow sodium ions. Hypoxia leads to oxidation of lipoprotein. Lipid peroxidation is an oxidative damage affecting cell membranes, i.e. lipid membrane lipoproteins, as well as a free fraction of plasma lipids.

The aim of this study was to investigate the effect of hypoxia on the concentrations of Na^+ , K^+ electrolytes, ionized Ca^{++} , in the first and second hours of life from arterialized capillary blood, the Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Cl^- plasma levels in newborns on the second day of life, as well as total cholesterol (TC) concentration, low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), triglycerides (TG) in the plasma of neonates in the second day of life.

The study included 50 term newborns with hypoxia, delivered naturally or by caesarean section who were exposed to oxygen therapy after birth due to the development of respiratory distress syndrome with Apgar score (AS) of less than 7 (range 1-10) and pH less from 7.20. The control group consisted of 50 healthy term newborn babies, delivered naturally or by caesarean section with no need for oxygen therapy. In the first and second hours of life in both groups of neonates pH, pCO_2 , pO_2 , HCO_3^- , BE, Na^+ , K^+ , ionized Ca^{++} were determined from arterialized capillary blood. On the second day of life, Na^+ , K^+ total Ca^{++} , Cl^- and biochemical parameters: total cholesterol (TC), low density lipoprotein -LDL, high density lipoprotein -HDL, and triglycerides (TG) were determined from the venous blood.

Results: Comparison of pH, pCO₂, pO₂, HCO₃ and BE in the first hour of life in the newborn with hypoxia showed lower pH, higher pCO₂, lower pO₂, lower HCO₃, and higher BE (p<0.01). In the second hour of life in newborns with hypoxia, lower pH, higher pCO₂, lower pO₂, and higher BE (p<0.01), as well as lower HCO₃ values were obtained without statistically significant difference (p>0.05).

By comparing Na⁺ concentration in the first hour of life from arterialized capillary blood in the hypoxic newborn, lower values of (p<0.01) were obtained, lower concentrations of Na⁺ were found in the second hour of life, but without statistically significant difference (p>0.05). By comparing the K⁺ concentration in the first hour and the second day of life, a higher (p<0.01) was obtained, in the second hour of life a higher K⁺ value was found, but without statistically significant difference (p>0.05). By comparing the concentration of ionized Ca⁺⁺ in the first and second hours after birth (arterialized capillary blood), as well as Na⁺, total Ca⁺⁺, Cl plasma levels on the second day of life, lower concentrations (p<0.01) were obtained. By examination of the concentration of TC, LDL, TG in plasma on the second day of life, lower values in the neonate group with hypoxia on oxygen therapy (p<0.01), and HDL (p<0.05) were found.

Conclusion: A statistically significant difference in the concentration of electrolytes and lipids in neonates with hypoxia opens the possibility of using new markers of perinatal asphyxia.

Keywords: hypoxia, electrolytes, lipids, newborn

Scientific area: Medicine

Special scientific area: Neonatology

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. DEFINICIJA PERINATALNE ASFIKSIJE, HIPOKSIJE I ISHEMIJE	2
1.2. UČESTALOST PERINATALNE ASFIKSIJE (HIPOKSIJE)	4
1.3. UZROCI PERINATALNE ASFIKSIJE (HIPOKSIJE)	4
1.3.1. HIPOKSIJA MAJČINOG POREKLA	5
1.3.2. HIPOKSIJA PLACENTNOG POREKLA	5
1.3.3. HIPOKSIJA U TOKU POROĐAJA	5
1.3.4. HIPOKSIJA FETUSNOG POREKLA	6
1.3.5. HIPOKSIJA NOVOROĐENČETA	6
1.4. PODELA ASFIKSIJE (HIPOKSIJE) PREMA DUŽINI TRAJANJA	7
1.4.1. AKUTNA ASFIKSIJA	7
1.4.2. HRONIČNA ASFIKSIJA	8
1.5. PODELA ASFIKSIJE (HIPOKSIJE) NA OSNOVU APGAR SCORA	8
1.5.1. KLINIČKA SLIKA ASFIKSIJE/HIPOKSIJE	9
1.5.2. REANIMACIJA NOVOROĐENČETA U ODNOSU NA APGAR SCORE	10
1.5.3. SOBNI VAZDUH U REANIMACIJI NOVOROĐENČETA	11
1.6. PATOFIZIOLOGIJA ASFIKSIJE	12
1.6.1. NEPOSREDNI EFEKTI HIPOKSIJE/ISHEMIJE	13
1.6.1.1. Slobodni radikali	14
1.6.2. ODLOŽENI ĆELIJSKI EFEKTI HIPOKSIJE/ISHEMIJE	16
1.6.3. MULTIORGANSKO POSTASFIKTIČNO OŠTEĆENJE	21
1.6.4. NEUROLOŠKA SIMPTOMATOLOGIJA ASFIKSIJE/HIPOKSIJE	22
1.6.5. PATOGENEZA ISHEMIJSKO-REPERFUZIONOG OŠTEĆENJA MOZGA	25
1.7. DEFINICIJA LIPIDA	27
1.7.1. MASNE KISELINE	28
1.7.2. HOLESTEROL	28
1.7.3. TRIGLICERIDI	29
1.7.4. HEMIJSKA STRUKTURA FOSFOLIPIDA	29
1.7.5. LIPOPROTEINI	30

1.7.6. APOLIPOPROTEINI	32
1.7.6.1. Apolipoprotein A-I	32
1.7.6.2. Apolipoprotein A-II	33
1.7.6.3. Apolipoprotein B	33
1.7.6.4. Apolipoprotein C	33
1.7.6.5. Apolipoprotein E	34
1.7.6.6. Apolipoprotein (A)	34
1.8. UTICAJ HIPOKSIJE/ISHEMIJE NA LIPIDE	34
1.8.1. PEROKSIDACIJA MEMBRANSKIH LIPIDA	35
1.8.2. PATOFIZIOLOŠKI ZNAČAJ OKSIDISANE LDL ČESTICE	36
<u>2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</u>	40
<u>3. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA</u>	41
3.1. PACIJENTI	41
3.2. SAKUPLJANJE UZORAKA KRVI	42
3.3. BIOHEMIJSKE ANALIZE	42
3.4. STATISTIČKA ANALIZA	43
<u>4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA</u>	44
4.1. DEMOGRAFSKE KARAKTERISTIKE ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI	44
4.1.1. GESTACIJSKA ZRELOST ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI	45
4.1.2. UČESTALOST POLA ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI	46
4.1.3. NAČIN ZAVRŠETKA POROĐAJA ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI	47
4.1.4. APGAR SCORE ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI	48
4.1.5. UZROCI HIPOKSIJE NOVOROĐENČADI SA OKSIGENOTERAPIJOM	49
4.2. ACIDOBAZNI STATUS ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U PRVOM I DRUGOM SATU ŽIVOTA	50
4.3. KONCENTRACIJE ELEKTROLITA ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI IZ ARTERIJALIZOVANE KAPILARNE KRVU U PRVOM I DRUGOM SATU POSLE ROĐENJA	52

4.3.1. KONCENTRACIJE NATRIJUMA (Na ⁺) ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U PRVOM I DRUGOM SATU ŽIVOTA	52
4.3.2. KONCENTRACIJE KALIJUMA (K ⁺) ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U PRVOM I DRUGOM SATU ŽIVOTA	53
4.3.3. KONCENTRACIJE JONIZOVANOG CALCIJUMA (JON Ca ⁺⁺) ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U PRVOM I DRUGOM SATU ŽIVOTA	54
4.4. KONCENTRACIJE ELEKTROLITA VENSKE KRVI ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U DRUGOM DANU ŽIVOTA	55
4.4.1. KONCENTRACIJE SERUMSKOG NATRIJUMA (Na ⁺) ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U DRUGOM DANU ŽIVOTA	55
4.4.2. KONCENTRACIJE SERUMSKOG KALIJUMA (K ⁺) ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U DRUGOM DANU ŽIVOTA	57
4.4.3. KONCENTRACIJE SERUMSKOG CALCIJUMA (Ca ⁺⁺) ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U DRUGOM DANU ŽIVOTA	58
4.4.4. KONCENTRACIJE SERUMSKOG HLORA (Cl ⁻) ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U DRUGOM DANU ŽIVOTA	60
4.5. KONCENTRACIJE LIPIDA VENSKE KRVI ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U DRUGOM DANU ŽIVOTA	61
4.5.1. KONCENTRACIJE UKUPNOG HOLESTEROLA ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U DRUGOM DANU ŽIVOTA	61
4.5.2. KONCENTRACIJE LDL HOLESTEROLA ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U DRUGOM DANU ŽIVOTA	63
4.5.3. KONCENTRACIJE HDL HOLESTEROLA ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U DRUGOM DANU ŽIVOTA	64
4.5.4. KONCENTRACIJE TRIGLICERIDA (TG) ISPITIVANIH GRUPA NOVOROĐENČADI U DRUGOM DANU ŽIVOTA	66
5. DISKUSIJA	68
6. ZAKLJUČCI	75
7. LITERATURA	77

1. UVOD

Hipoksija (lat. hypoxia) je stanje smanjene količine kiseonika u ćelijama i tkivima, što ima za posledicu poremećaj u funkcionisanju organa, sistema i ćelija (1).

U uslovima hipoksije dolazi do intracelularne akumulacije jona kalcijuma kao i narušene ravnoteže drugih jona (K^+ , Na^+ i Cl^-). Hipoksija sprečava protok kalijuma kroz ćelijsku membranu redukujući njegov neto fluks, a takodje menja funkciju nekoliko tipova K^+ kanala naročito u nervnim ćelijama (1,2).

Transport Cl^- se odvija preko Cl^- stimulisane ATP-aze. U uslovima hipoksije moguće je povećanje intracelularne vode i pojava edema u organima koji su zavisni od produkcije ATP-a, pri čemu je glavni uzrok nepotpuna aktivnost $Na^+ K^+$ - ATP- aze. Akumulacija natrijuma u ćeliji tokom hipoksije je neposredan uzrok intracelularnog nagomilavanja vode, a joni hlora pasivno slede jone natrijuma (3).

Nedostatak kiseonika izaziva niz poremećaja organa i sistema organa, a razvija se u tkivima metabolička acidoza. Inicijalni metabolički odgovor na nedostatak kiseonika u tkivima je aktivacija anaerobne glikolize u tkivima, potrošnja glukoze i porast koncentracije laktata (4, 5, 6, 7).

Hipoksija dovodi do oksidacije lipoproteina, pri čemu postoji međuzavisnost koncentracije lipidnih hidroperoksida u plazmi sa težim stepenom hipoksije, odnosno ispoljavanjem posledica hipoksije (8).

Lipidna peroksidacija je oksidaciono oštećenje koje zahvata ćelijske membrane, odnosno lipide membranskih lipoproteina kao i slobodnu frakciju plazmatskih lipida (9). U toku peroksidacije masnih kiselina, fosfolipida, triglicerida i holesterola dolazi do razlaganja masno - kiselinskih ostataka i oslobađanja malondialdehida i drugih produkata, ali i lizolecitina koji je hemotaksički agens za monocite i T- limfocite (7, 9).

Najčešće oksidisani lipidi su u lipoproteinima niske gustine (LDL), a LDL je glavni izvor lipida koji se nakuplja tokom ishemije (8).

Najveći deo holesterola nalazi se u mijelinu. Navedena činjenica ukazuje da je holesterol bitan za sazrevanje moždanih ćelija (9).

Izvesno je da gubitak funkcije ćelijske membrane predstavlja primarni događaj u nastanku ćelijskih oštećenja u uslovima hipoksije, ali definitivna osnova mehanizama zbog kojih nastaje membranska disfunkcija ostaje još uvek nejasna. Potrebno je naglasiti postojanje sledećih potencijalnih mehanizama: poremećaj jonske homeostaze, peroksidacija membranskih lipida, unakrsno povezivanje membranskih proteina i povećana razgradnja fosfolipida (1).

Pretpostavlja se da i cirkulišući lipidi plazme, odnosno serumski lipidi podležu procesima oksidacije, peroksidacije i uklanjanju iz cirkulacije. Snižene koncentracije lipida u hipoksične novorođenčadi mogu biti dodatni parametar praćenja ishemičnog oštećenja ove novorođenčadi.

1.1. Definicija perinatalne asfiksije, hipoksije i ishemije

Perinatalna asfiksija je složen klinički problem koji se najčešće definiše kao poremećaj razmene respiratornih gasova u posteljici fetusa tokom porođaja ili u plućima novorođenčeta posle rođenja (10). Iako sama reč asfiksija znači "bez pulsa" (grčki: a - ne; sfygmos - kucanje pulsa, ugušenje, prividna smrt), asfiksija u kliničkom smislu znači stanje novorođenčeta posle rođenja, praćeno prestankom disanja (apneja), očuvanim ili oslabljenim pulsom. Pojam asfiksija u medicinskoj terminologiji predstavlja stanje neonatalnog respiratornog distresa sa kratkotrajnim i dugotrajnim uticajima na organizam. Takođe se asfiksija može definisati i kao stanje narušene razmene gasova, koje je praćeno porastom laktata, ugljen dioksida i drugih otpadnih produkata, kao i značajnim smanjenjem koncentracije kiseonika u krvi (11).

Dok je pojam asfiksija rezervisan za udruženo stanje hipoksije, hiperkapnije i acidoze, hipoksija (grč. hypo + lat. oxygenium + grč. haima - krv) se odnosi na stanja nedostatka kiseonika bez prateće acidoze (12).

Hipoksija znači smanjeno snabdevanje tkiva kiseonikom, a posledica je smanjenog pritiska kiseonika u krvi (hipoksemična hipoksija), smanjenog krvnog protoka (ishemična hipoksija) ili smanjenog kapaciteta krvi za snabdevanje kiseonikom (anemična hipoksija).

Ishemija je smanjenje krvnog protoka, sa posledičnim smanjenjem kiseonika i glukoze u potrebnim količinama koje dovode do organskog oštećenja.

Hipoksija kao fiziološko-patofiziološki događaj ima važno značenje pri normalnom i pri patološkom porođaju. Za vreme početne dilatacije cerviksa, pH fetalne krvi pada od 7,37 na 7,27 pri potpunoj dilataciji. Tokom normalnog porođaja prisutan je izvestan stepen hipoksije i acidoze. Promenljivost gasova u arterijskoj krvi su blaga i reverzibilna pa se veruje da ova "tranzitorna asfiksija" ima fiziološku ulogu u pripremi fetusa za početak normalnog disanja (13).

Većina dece (više od 95%) prevaziđe ovo stanje bez većih problema. Samo manji broj zahteva aktivnu pomoć pri prvom udahu i početku alveolarne ventilacije (što je zapravo uslov za opstanak). Ako je početak disanja neuspešan, stimulacija disanja brzo će sprečiti patološku inverziju gasova u krvi novorođenčeta i uspostaviti ekstracelularnu i intracelularnu homeostazu. Tako će primarna reanimacija skraćivanjem perioda hipoksije, hiperkapnije i acidoze sprečiti perinatalno hipoksično oštećenje tkiva od kojih je najteže oštećenje mozga. Asfiksiju zbog svega ovoga treba shvatiti kao medicinski pojam za kliničku manifestaciju (dete ne diše!) koja je posledica različitog stepena hipoksije (14).

Iako se u istraživanjima na životinjskim modelima mogu posebno simulirati i ispitivati patofiziološki mehanizmi nastanka teške asfiksije, hipoksije ili ishemije (fokalne ili globalne), u kliničkoj stvarnosti je gotovo nemoguće odvojiti ta stanja, pa se označavaju kao hipoksično-ishemična oštećenja. Kod humanog novorođenčeta je često vrlo teško odrediti trajanje hipoksije i njen intenzitet u toku samog porođaja. Takođe se pokušava meriti dejstvo anoksije (hipoksije) stepenom asfiksije u novorođenčeta čiji je potencijal samo delimično poznat (npr. gestacijska dob) i čija je otpornost ili osetljivost na različite stepene hipoksije

različita od deteta do deteta (15). Sva složenost definicije asfiksije / hipoksije / ishemije najbolje se ogleda u preporukama brojnih autora u preciznijoj dijagnozi asfiksije / hipoksije povezanošću kliničkih znakata i biohemijskih parametara (16).

Dosadašnji termin hipoksično-ishemična encefalopatija postao je nedovoljno precizan. Pošto se ne radi samo o hipoksiji i ishemiji, adekvatniji termin na osnovu aktuelnih saznanja je hipoksično – ishemična – reperfuziono – reoksigenaciona lezija mozga.

1.2. Učestalost perinatalne asfiksije (hipoksije)

Postoji nedostatak podataka o učestalosti perinatalne asfiksije / hipoksije.

U razvijenim zemljama sa dobro organizovanom perinatalnom službom incidencija je 1-6/1000 terminske novorođenčadi (17). Procena incidencije asfiksije varira i zbog neujednačenih stavova, zavisno da li se uzimaju u obzir samo donešena, nedonešena ili sva deca sa znacima asfiksije.

U zemljama sa niskim stepenom razvoja incidenca se kreće i do 26/1000 živorođene dece. Procenjuje se da 30% dece imaju hipoksiju / ishemiju u razvijenim zemljama i 60% u zemljama u razvoju imaju neke dokaze intraportalne hipoksije / ishemije (18).

1.3. Uzroci perinatalne asfiksije (hipoksije)

Fetalna hipoksija se može javiti tokom trudnoće ili prilikom porođaja. Pojava fetalne hipoksije u ranom periodu trudnoće, uzrokuje oštećenja i usporava razvoj embriona. U kasnoj trudnoći, hipoksija usporava rast, utiče na centralni nervni sistem (CNS), usporava adaptivne sposobnosti novorođenčeta. Fetalna hipoksija može nastati zbog štetnih procesa koji se odvijaju u telu deteta, majke ili posteljice. Ponekad za vreme porođaja, pupčana vrpca se može obmotati oko vrata deteta, izazivajući prestanak disanja. Ukoliko beba prestane da diše samo minut može imati hipoksiju, dok beba koja je prestala da diše blizu pet minuta će verovatno imati anoksiju. Ne tako uobičajena situacija tokom porođaja je prolaps pupčane

vrpce, kada pupčana vrpca izlazi iz grlića materice pre nego što beba izađe. Ako je pupčana vrpca pritisnuta ili uvrnuta, beba može biti lišena snabdevanja kiseonikom i lekari u ovom slučaju moraju hitno završiti porođaj carskim rezom (19).

Hipoksija ploda može nastati kao rezultat poremećenog transporta kiseonika, pre porođaja, u toku porođaja i posle porođaja. Uzroci se dele na one od strane majke, placentnog porekla, tokom porođaja, fetalne i od strane novorođenčeta (13).

1.3.1. Hipoksija majčinog porekla

Hipoksija majčinog porekla nastaje usled nedovoljne oksigenacije ili smanjenja volumena majčine krvi, poremećaja u metabolizmu nutritivnih i mineralnih materija kod: hronične respiratorne insuficijencije, hronične dekompenzovane kardiomiopatije, šoka, esencijalne arterijske hipertenzije, hronične bubrežne insuficijencije, arterijske hipotenzije, hroničnog alkoholizma, loših socijalno ekonomskih uslova života, komplikacija usled anestezije (20).

1.3.2. Hipoksija placentnog porekla

Hipoksija kod poremećaja posteljice nastaje usled nedovoljne funkcije placente (insuficijencija placente), kod: biološki prenesene trudnoće, diabetes mellitus-a, primipara vetusta, placenta previja, prevremeno odljubljivanje normalno usađene posteljice, anomalije placente, intrauterusne infekcije (toksoplamoza, listerioza, virusne i bakterijske infekcije) (21).

1.3.3. Hipoksija u toku porođaja

Nastaje u sledećim situacijama: abrupcija placente, placenta previja, prolaps pupčanika, pritisak ploda na pupčanik, pupčana vrpca obmotana oko vrata ili tela ploda, nepravilan položaj ploda u toku porođaja, karlična prezentacija ploda, nožni položaj ploda, operativni završetak (sectio cesarea), retko nagli porođaj,

nepravilne uterusne kontrakcije, primena instrumentalnih intervencija tokom porođaja (forceps) (22).

1.3.4. Hipoksija fetusnog porekla

Hipoksija fetusnog porekla nastaje zbog nedovoljne oksigenacije ili nedovoljnog transporta kiseonika, anemije ploda, povećane potrošnje kiseonika kod komplikacija sa pupčanikom, anomalija ploda, anemija zbog hemolitičke bolesti, prematuriteta, ascendentnih intrauterusnih infekcija , respiratorna depresija zbog anestezije ili analgezije majke (23).

1.3.5. Hipoksija novorođenčeta

Najčešći uzroci hipoksije novorođenčeta su: kongenitalne anomalije respiratornog trakta, kongenitalna dijafragmalna hernija, intrauterusna pneumonija, intrapartalna aspiracija plodove vode, oštećenja mozga, produžene moždine ili nerva frenikusa, depresija moždanog stabla analgeticima i spazmoliticima datih majci tokom porođaja (24).

Iako ovako nabrojani (iz didaktičkih razloga), vrlo često se asfiksija novorođenčeta nadovezuje na asfiksiju tokom porođaja.

Akutna fetalna asfiksija je retka i svodi se na opstetričku hitnost kao što je prolaps pupčanika ili abrupcija placente. Većina novorođenčadi ispoljava znake subakutnog ili hroničnog procesa intermitentnih hipoksičnih epizoda (25).

Ovi znaci mogu biti prepoznati ultrazvučnim pregledom trudnice gdje je oligohidramnion i intrauterusni zastoje rasta važan pokazatelj fetalne prenatalne asfiksije / hipoksije. Za procenu rizika asfiksije ustanovljen je fetalni biofizički profil gde se prate pet ultrazvukom određivanih biofizičkih varijabli (fetalni pokreti disanja, pokreti ekstremiteta, tonus, srčana frekvencija, određivanje količine amnionske tečnosti) (26).

Važan faktor u proceni asfiksije je opremljenost i uvežbanost obstetričkih i neonatoloških timova za reanimaciju u operacionim i porođajnim salama, što može direktno skratiti ili produžiti fetalnu ili novorođenačku hipoksiju. Poslednjih godina kod nas, a poslednjih decenija u razvijenim zemljama, sa dobro uvežbanim perinatalnim timom (akušer, neonatolog, medicinska sestra) smanjila se učestalost asfiksija. Ipak ostaje jedan mali procenat nepredvidivih slučajeva koji se teško sprečavaju i primenom najsavremenije opreme i reanimacionih postupaka (27).

1.4. Podela asfiksije (hipoksije) prema dužini trajanja

1.4.1. Akutna asfiksija

Stanje akutne asfiksije je dobro ispitano na životinjskim modelima. Nakon nekoliko površnih disajnih pokreta u kojima nema razmene gasova, novorođene životinje prestaju disati što se naziva primarna apneja, a može trajati i do desetak minuta. Ipak većina životinja počinje dahtati (engl. gasping) povećavajući frekvenciju i snagu disanja, a zatim se frekvencija i snaga disanja postupno smanjuju sve do poslednjeg udaha. Nakon ovog perioda dahtanja opet sledi apneja, ali ovaj put je to terminalna apneja (28).

Srčana frekvencija opada brzo posle rođenja, raste u primarnoj apneji i ranoj fazi dahtanja, a zatim se usporava. Srčana aktivnost se nastavlja još deset minuta ili više nakon poslednjeg udaha. Razdoblje od poslednjeg udaha do prestanka srčane radnje naziva se sekundarna ili terminalna apneja. Na kraju terminalne apneje razvija se teška metabolička ili mešovita acidoza: $p\text{CO}_2$ prelazi 100 mmHg, $\text{pH} < 6,5$ a $p\text{O}_2$ je nemerljiv. Razvija se hiperkalijemija sa $\text{K}^+ > 15$ mmol/L. Novorođeni primati mogu preživeti potpuni nedostatak kiseonika u trajanju od dvadeset minuta. Ovo je omogućeno velikim rezervama glikogena u mozgu, jetri i miokardu koji može proizvoditi energiju anaerobnim putem kao i mogućnošću neonatalnih tkiva da metabolišu laktate i ketone (29).

Reakcija životinje na asfiksiju zavisi od stadijuma asfiksije. Ako životinja dobije kiseonik ili vazduh nakon terminalne apneje, ona više ne započinje spontano

disanje. Ako se u humanog novorođenčeta posmatra samo asfiksija, odgovor zavisi od pH krvi u trenutku rođenja. Ako je njegova vrednost viša od 7,25 (primarna apneja, blaga acidoza), ono započinje spontano disati. Ako je njegova vrednost od 7,00-7,10 (umerena acidoza), još uvek može spontano disati, ali zahteva nadzor u postpartalnom periodu. U vrlo teškim intrapartalnim asfiksijama (pH < 7,00- teška acidoza) dete je obično mlitavo, bradikardično i u terminalnoj apneji. Potrebna je reanimacija novorođenčeta . Posle reanimacije u izvesnog broja novorođenčadi nastupa brz i potpun oporavak. U većine međutim, nastupaju morfološka i funkcionalna oštećenja brojnih organskih sistema –“postasfiktčni sindrom” (30).

1.4.2. Hronična asfiksija

Kod hronične asfiksije plod pati od povremenih epizoda asfiksije koje se ponavljaju (nekoordinirane kontrakcije materice ili povremene epizode pritiska na pupčanu vrpču), a između njih je period kratkotrajnog oporavka. Za vreme tih epizoda u fetusa se povećava krvni pritisak, ima bradikardiju, fetalni pO₂ (parcijalni arterijski pritisak kiseonika) se snižava. Proces glikolize obuhvata razgradnju glukoze preko piruvata do laktata u anaerobnim uslovima. Raste pCO₂ (parcijalni pritisak ugljen dioksida), a obično kao posledica nastaje mešovita respiratorna i metabolička acidoza. Ako se takvo dete rodi odmah, disanje mu je suprimirano, ali se na reanimaciju oporavlja vrlo brzo i posledice ne moraju biti velike, ako izostanu neonatalne komplikacije (25). Međutim, ako ove epizode duže traju , fetus se ne uspeva oporaviti između pojedinih prekida dotoka kiseonika. Postepeno se iscrpljuju hemodinamske kompenzatorne mogućnosti, nastaje hipotenzija i dublja acidoza. Posle porođaja i uprkos brznoj reanimaciji ovakvo dete će imati rane i kasne znake postasfiktčne bolesti (31).

1.5. Podela asfiksije (hipoksije) na osnovu APGAR SCORA

Apgar predstavlja zbirnu ocenu vitalnih parametara novorođenčeta. Ime je dato po Virdžiniji Apgar, američkom anesteziologu, koja je 1953.godine uvela ovo jednostavno, sistematično ispitivanje novorođenčadi, koje uključuje 5 parametara: boja kože, respiracije, frekvencu srčanog rada, mišićni tonus i odgovor na

stimulaciju. Svaki od parametara se ocenjuje ocenom 0, 1 ili 2 kako je prikazano na tabeli 1.

Tabela 1. Apgar score

Broj bodova	0	1	2
Boja kože,trupa	bleda	plava	ružičasta
Srčana frekvenca	0	< 100	> 100
Respiracije	0	jecaj	regulisane
Mišićni tonus	mlitav	slaba fleksija	normalni pokreti
Odgovor na stimulaciju	0	grimasa	plač

Zbirna ocena čini APGAR SCORE (AS). Povoljan Apgar je 8, 9, 10, na stanje umerene depresije ukazuje AS 4-7, teške depresije AS 0-3. Apgar se ocenjuje u 1.(vitalnost), i 5. (adaptiranost) minutu po rođenju (32).

Nizak Apgar ukazuje na potrebu reanimacije (<7), a ocenjivanje se može vršiti i dalje, čime se prati uspeh reanimacije. Apgar se ne može koristiti za procenu udaljene prognoze. Izvesno vreme se u neonatološkim udruženjima govori o mogućnosti uvođenja novog, preciznijeg AS. Naime, boja kože je nepouzdan klinički parametar vitalnosti , naročito u prvom minutu kada je očekivana saturacija 60-70%. Pri ovoj saturaciji koža ne može da bude jasno ružičasta za šta se daje ocena 2, već je blago cijanotična. Saturacija dostiže vrednost oko 90% tek oko petog minuta kada koža postaje zaista ružičasta (33, 34, 35).

1.5.1. Klinička slika asfiksije/hipoksije

I pored praćenja vitalnih parametara pred porođaj, često je teško odrediti početak (tokom porođaja ili pre porođaja) i trajanje epizode asfiksije.

Ako je prekid snabdevanja kiseonika akutan, klinička slika je izražena vrlo niskim Apgar indeksom. Ako je nedostatak kiseonika hroničan, nastaje prilagođavanje fetalne cirkulacije na sve jaču hipoksemiju centralizacijom krvotoka, tako da simptomi asfiksije (hipoksije) na rođenju mogu biti latentni, a prava klinička slika hipoksije nastupa kasnije, tj. obično nekoliko sati nakon rođenja poremećajem funkcije pojedinih organa ili češće organskih sistema (pluća, srca, mozga, creva, bubrega) (36).

Perinatalna asfiksija spada u urgentna stanja zbog čega je adekvatan i blagovremen terapijski postupak od ključne važnosti. Ispitivanje biohemijskih procesa tokom asfiksije / hipoksije u eksperimentima na animalnom modelu je doprinelo uvođenju protokola / algoritama za reanimaciju. Osnova terapijskog postupka je aspiracija disajnih puteva i reanimacija sobnim vazduhom, odnosno kontrolisanom primenom kiseonika (pulsni oksimetar). Iako su najuočljiviji kardio respiratorni simptomi, postoji zahvaćenost većeg broja organa, a ireverzibilne posledice najčešće pogađaju centralni nervni sistem (37).

1.5.2. Reanimacija novorođenčeta u odnosu na APGAR SCORE

Odnos između Apgar scora i kliničkog stanja koje se procenjuje prikazan je tabelom 2.

Tabela 2. Odnos između Apgar skora i kliničkog stanja novorođenčeta

Apgar scor	Kliničko stanje
0	Ne diše, nema srčane akcije
1-3	Ima slabu srčanu akciju
4-6	Usporeno započeto spontano disanje
7-10	Normalno novorođenče

Apgar indeks 5-6 je znak umerene, a 3-4 teške asfiksije koja obično zahteva reanimaciju pozitivnim pritiskom vazduha i prema potrebi kiseonika. Indeks 0, 1 i 2 znak je najtežeg oblika asfiksije koji zahtiva kompletnu reanimaciju (obično intubaciju, primenu pozitivnog pritiska vazduha i kiseonika, medikamente - adrenalin, bikarbonate) (38).

1.5.3. Sobni vazduh u reanimaciji novorođenčeta

Hiperoksija ima važan uticaj na cirkulaciju, posebno u mozgu i plućima. Iako rezultati istraživanja još uvek nisu dovoljno jasni, ima dokaza da hiperoksija može izazvati vazokonstrikciju u mozgu. Isti efekat se može javiti i u plućnoj cirkulaciji pogoršavajući plućnu hipertenziju. Ispitivanje grupe novorođenčadi sa kolapsom cirkulacije, pokazalo je da je oporavak cirkulacije bolji ako se u toku reanimacije primeni 21% kiseonik umesto 100% (39, 40, 41). Od 2001 god. sobni vazduh je počeo da se primenjuje u reanimaciji novorođenčadi, ali još uvek bez zvaničnih smernica nadležnih medicinskih udruženja (ILCOR – International Liaison Committee on Resuscitation, AAP - American Association of Pediatrics i drugih). Razlog za odlaganje zvaničnog uvođenja sobnog vazduha kao prvog izbora u reanimaciji novorođenčeta je bilo nerešeno pitanje: kako postupiti ako saturacija prilikom reanimacije sobnim vazduhom ostaje značajno niža od normalnih vrednosti ? Zato je smernica ILCOR/AAP iz 2005 god. glasila: “Optimalna koncentracija kiseonika za reanimaciju novorođenčadi nije poznata”. Posle ovih smernica neonatolozi širom sveta su imali slobodu da koriste kiseonik koncentracije od 21 do 100%. Povećana koncentracija kiseonika je primenjivana ako je saturacija bila snižena, a ubrzo je uveden i uslov ako je srčana frekvenca bila snižena. Radi se o periodu od 60-90 sekundi života kada se očekuje porast frekvence za oko 20 otkucaja, odnosno oko 110/minuti na kraju tog perioda.

Sledeći neophodan korak je bilo određivanje referentnih vrednosti saturacije u prvim minutima života. Prema algoritmu European Resuscitation Council's life support primena više koncentracije kiseonika od 21 % je odobrena ako je

saturacija niža od sledećih vrednosti: 60%, 70%, 80%, 85% i 90% u 2., 3., 4., 5. i 10. minutu života (42, 43).

Tabela 3. Smernica ILCOR/AAP iz 2010 god

Kod novorođenčadi uzrasta >32 gestacione nedelje (GN) najbolje je početi reanimaciju sobnim vazduhom. Ako je srčana frekvenca snižena u 90s života, primeniti kiseonik.
Kod novorođenčadi uzrasta <32GN početi reanimaciju 21- 30 % kiseonikom. Ako je saturacija <70% u 5. minutu i/ili je snižena srčana frekvenca, primeniti 100% kiseonik.
Za novorođenčad ekstremno male porođajne težine (<1000 gr) ciljna saturacija u postnatalnom periodu treba da bude od 89-94% (smernica dodata 2011 god.).

Istraživanje optimalne koncentracije kiseonika za novorođenčad se nastavlja. Tendencija dosadašnjih smernica je sve veće ograničenje upotrebe 100% kiseonika. Osim smernica prilikom reanimacije, treba dati odgovor na pitanje primene kiseonika tokom svih 30 dana neonatalnog perioda.

Ima autora koji sa pravom postavljaju pitanje adekvatne koncentracije kiseonika za stariju decu.

Tek se očekuju preciznije smernice za vrlo nezrelu novorođenčad <27 GN (44).

1.6. Patofiziologija asfiksije

U uslovima hipoksije i ishemije zbog smanjene produkcije adenozin trifosfata (ATP-a) javljaju se mnoge strukturne i funkcionalne promene naročito u visoko diferentovanim ćelijama CNS-a, srca i bubrega. Izvesno je da gubitak funkcije ćelijske membrane predstavlja primarni događaj u nastanku ćelijskih oštećenja u uslovima hipoksije (1). Mnogobrojna eksperimentalna istraživanja podržavaju važnost produkcije slobodnih radikala posle akutne hipoksije. Sve metaboličke

promene povezane sa reverzibilnim promenama hipoksije ćelija, ako su kvalitativno ili kvantitativno značajne, mogu prouzrokovati ireverzibilna oštećenja (45).

U hipoksiji, tkivo koje je bilo u normalnim uslovima u dinamičkoj ravnoteži sa jedne strane doticanja materija, a sa druge otklanjanja otpadnih produkata, sada se pretvara u zatvoreni sistem. Oksidativna fosforilacija i metabolizam supstanci zavisnih od kiseonika prestaju, nastaju metaboličke promene zavisne od unutrašnjih rezervi koje se vrlo brzo troše, a krajnji metabolički produkti štetni za tkivo se nagomilavaju, što dovodi do izumiranja i destrukcije ćelija i tkiva (46).

U hipoksiji se u poređenju sa normalnim stanjem doticanja kiseonika menjaju uslovi života ploda. Dolazi do akutne ili hronične patnje ploda. Hipoksija ploda može nastati kao rezultat poremećenog transporta kiseonika na raznim etapama: kod hipoksije majke, smanjenje uterinog krvotoka, poremećaj funkcije placente, promene u pupčaniku. U placenti se remeti mikrocirkulacija, što uslovljava i poremećaj metabolizma u sistemu majka-plod, jer dolazi do poremećaja u razmeni hranljivih materija a kasnije i do poremećaja u transportu kiseonika. Hipoksija ploda zauzima važno mesto u uzrocima postnatalne smrtnosti, somatskih i neuroloških poremećaja dece. Hipoksija predstavlja primarni uzrok različitih posledičnih patoloških stanja. Suštinu hipoksičkog procesa predstavlja energetski deficit, koji dovodi do funkcionalnih i morfoloških promena i na kraju do ćelijske smrti (47).

1.6.1. Neposredni efekti hipoksije/ishemije

Hipoksija narušava ćelijski metabolizam na mnogo različitih načina. Glavnu ulogu ima ograničena rezerva glikogena. Pod aerobnim uslovima, glikolizom (preko Krebsovog ciklusa i oksidativnom fosforilacijom) iz jednog molekula glukoze nastaje 38 molekula ATP-a. ATP daje energiju neuronalnoj membranskoj pumpi koja drži internu koncentraciju kalijuma visokom, a natrijuma, kalcijuma i hlorida niskom. Ova jonska ravnoteža je fiziološka osnova za intraneuronsku komunikaciju. Nedostatkom glukoze i kiseonika prekidaju se svi procesi zavisni o

ATP-u. Pri potpunoj (kompletnoj) hipoksiji/ishemiji ćelija potroši sav glikogen i sve zalihe ATP-a unutar 10 minuta. U ćeliji otpočinje anaerobni metabolizam (proizvodi samo dva molekula ATP-a iz svakog molekula glukoze) koji dovodi do sniženja pH. Bez ATP-a jonska pumpa gubi funkciju, natrijum i hlor ulaze u ćeliju, a zatim voda pasivnom difuzijom sledi sa krajnjim efektom citotoksičnog ćelijskog edema. Ćelija bubri, puca i oslobađa svoj citoplazmatski sadržaj u intersticijski prostor (48).

1.6.1.1. Slobodni radikali

Radikali su normalni sastojci ćelija, a nastaju dejstvom molekula kiseonika na proteine ćelijske membrane. U fiziološkim uslovima najveći deo kiseonika (oko 80%) u mitohondrijama ćelija redukuje citohrom oksidaza (bez stvaranja slobodnih radikala). Ostatak od 10-20% ulazi u dalje oksido-redukcione reakcije u citoplazmi i mitohondrijima u kojima nastaje kiseonički superoksid anjon radikal (O_2^-). Slobodni radikali (SR) se efikasno neutrališu nizom enzimskih i neenzimskih odbrambenih mehanizama koji uključuju superoksid dismutazu, glutation peroksidazu, katalazu, glutation reduktazu, askorbinsku kiselinu, tokoferol, a oni deluju kao čistači slobodnih radikala (engl.scavengers) (49, 50).

Slobodni radikali su molekuli ili fragmenti molekula sa nesparenim elektronom u spoljašnjoj orbiti što ih čini vrlo reaktivnim sa posledičnim afinitetom vezivanja za druge molekule. Radi povećanja stabilnosti ovih molekula postoji visoka verovatnoća započinjanja niza reakcija kada dolazi do peroksidacije lipidnih membrana i dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) sa posledičnim oštećenjem ćelije. Slobodni radikali su nestabilni molekuli, ili joni velike reaktivnosti, koji u organizmu stupaju u hemijske reakcije sa delovima ćelije (proteinima, lipidima, ugljenim hidratima, molekulima DNK) pri čemu dovode do biohemijskih, strukturnih i funkcionalnih poremećaja. U normalnom molekulu, jezgro je okruženo parom negativno naelektrisanih elektrona. Uklanjanjem jednog elektrona iz para, procesom koji se zove oksidacija, molekul postaje nestabilan i destruktivan (nastaje "radikal" molekul) (51).

Radikali reaguju sa neutralnim biološkim molekulima oštećujući ih i stvarajući nove radikale (lančana reakcija). Radikal može dati elektron neradikalu i ponašati se kao redukcionni agens stvarajući nove radikale. Radikal može uzeti elektron neradikalu i tako postati oksidacioni agens, ponovo stvarajući nove radikale. Radikal može "otkinuti" vodonikov atom iz C-H veze u organskom molekulu stvarajući "Carbon Centered" radikale (koji sa O_2 prave peroksil radikale $\bullet RO_2$). Na ovaj način dolazi do oštećenja DNK, ćelijskih membrana, proteina. Radikaliski indukovana lipidna peroksidacija smanjuju membransku fluidnost, menja membranski transport, oštećuje membranske proteine, receptore, enzime i jone (52). U ovakvim biohemijskim reakcijama slobodni radikali mogu oštetiti ćelijske strukture (proteine, lipide i DNK) i izazvati nekrozu ili apoptozu ćelije. Ovaj proces se naziva oksidativni stres ili poremećaj redoks statusa (ravnoteža između oksidanasa i antioksidanasa) (53).

Akutnu hipoksiju, prati značajna produkcija slobodnih radikala. Za vreme i nakon hipoksije - ishemije, tokom nagomilavanja arahidonske kiseline pojačano se stvaraju slobodni radikali. Postoji više puteva stvaranja slobodnih radikala uključujući i nusprodukte u sintezi prostaglandina, dejstvom enzimske ciklooksigenaze i lipooksigenaze (54). Ako hipoksija traje, smanjuje se sposobnost ćelija za samozaštitu, a enzimski čistači (npr. superoksid dismutaza i katalaza) mogu biti savladani (preplavljeni) nakon što je ishemična regija reperfundirana. Vraćanje krvnog protoka u ishemičnoj regiji na "normalu" potencijalno je još štetnije zbog dotoka kiseonika koji je izvor slobodnih radikala. Slobodni radikali su glavni uzrok endotelnog oštećenja, povećane permeabilnosti i moždanog edema nakon asfiksije/hipoksije (55).

Višak reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) uključujući superoksidni anjon i azot oksid, koji preopterećuju antioksidativne sisteme indukuju oksidativni stres u organizmu. Glavne ćelijske mete ROS-a su membranski lipidi, proteini, nukleinske kiseline i ugljeni hidrati. Obimni dokazi sugerišu da ROS igra ključnu ulogu u započinjanju i napredovanju različitih bolesti kod dece. Oksidativni stres novorođenčeta ima značajnu ulogu u nastanku i razvoju retinopatije nedonoščadi, hronične plućne

bolesti, nekrotičnog enterokolitisa, bubrežne insuficijencije, hemolitičke anemije, septičkog šoka, oštećenja mozga i jetre. Alarmantno je saznanje da samo nekoliko minuta izlaganja novorođenčeta 100% kiseoniku povećava rizik od maligniteta u detinjstvu trostruko (prevashodno leukemije) (56).

Hiperoksija (osidativni stres) ima važan uticaj na cirkulaciju, posebno u mozgu i plućima. Iako rezultati još uvek nisu dovoljno jasni, ima dokaza da hiperoksija može izazvati vazokonstrikciju u mozgu. Isti efekat se može javiti i u plućnoj cirkulaciji pogoršavajući plućnu hipertenziju. Ispitivanje grupe novorođenčadi sa kolapsom cirkulacije, pokazalo je da je oporavak cirkulacije bolji ako se u toku reanimacije primeni 21% kiseonik umesto 100%(39).

Novija saznanja ukazuju da se oštećenje tkiva suprafiziloškim količinama slobodnih radikala kod novorođenčeta odigrava prilikom reoksigenacione primene 100% kiseonika. Oksidativni stres posle reanimacije 100% kiseonikom traje više nedelja. U pokušaju da se otkrije početna toksična koncentracija kiseonika ("prag"), istraživanja su pokazala da toksičnost kiseonika raste proporcionalno porastu koncentracije. Rizik za razvoj oksidativnog stresa zavisi od antioksidantnog kapaciteta. Polazeći od ove činjenice, terminsko novorođenče ima veći rizik od odraslog, a preterminsko novorođenče ima značajno veći rizik od terminskog (57).

1.6.2. Odloženi ćelijski efekti hipoksije/ishemije

Nedostatak kiseonika izaziva niz poremećaja organa i sistema organa sa razvojem metaboličke acidoze u tkivima (4). Inicijalni metabolički odgovor na nedostatak kiseonika u tkivima je aktivacija anaerobne glikolize u tkivima. Ovaj proces označava brzu potrošnju, inače ograničenih rezervi glukoze novorođenog deteta. Usled metaboličkog bloka raste koncentracija laktata (58). Ketonska tela su naziv za tri jedinjenja (aceton, acetosirćetna kiselina, i beta-hidroksibuterna kiselina) rastvorljiva u vodi, koja nastaju kao nusprodukti korišćenja masnih kiselina za proizvodnju energije u jetri i bubregu. Ketonska tela se koriste kao izvor energije u srcu i mozgu, a vitalni su izvor energije za mozak tokom hipoksije (58,59).

Poremećaj membranskih funkcija, naročito promena integriteta plazma membrane je veoma bitna i verovatno kritična komponenta pri akutnoj hipoksiji. Izvesno je da gubitak funkcije ćelijske membrane predstavlja primarni događaj u genezi ćelijskih oštećenja u ovim uslovima, ali definitivna osnova mehanizama zbog kojih nastaje membranska disfunkcija ostaje još uvek nejasna. Međutim, potrebno je naglasiti poremećaj jonske homeostaze koji nastaje u uslovima hipoksije (1).

Hipoksija uzrokuje narušavanje kalcijumovog gradijenta i njegovu intracelularnu akumulaciju. Postoje podaci da je u stanjima hipoksije narušena ravnoteža i drugih jona, kao što su K^+ , Na^+ i Cl^- . Hipoksija sprečava protok kalijuma kroz ćelijsku membranu redukujući njegov neto fluks, a takodje menja funkciju nekoliko tipova K^+ kanala naročito u nervnim ćelijama. Hipoksija uzrokuje povećanje intracelularnog natrijuma (1,3).

Transport Cl^- se odvija preko Cl^- stimulisane ATP-aze. U uslovima hipoksije moguće je povećanje intracelularne vode i pojava edema u organima koji su zavisni od produkcije ATP-a, pri čemu je glavni uzrok nepotpuna aktivnost $Na^+ K^+$ - ATP-aze. Akumulacija natrijuma u ćeliji tokom ishemije je neposredan uzrok intracelularnog nagomilavanja vode (3). U novijim istraživanjima se govori da vanćelijski hlor poboljšava funkciju mitohondrija i ima kardioprotektivno dejstvo u uslovima hipoksije – reperfuzije (60).

Hipoksija uzrokuje narušavanje kalcijumovog gradijenta i dovodi do intracelularne akumulacije. Međutim, danas postoji dilema oko načina povećanja intracelularnog slobodnog kalcijuma u stanjima hipoksije. Mogući načini su: povećanje influksa kalcijuma zbog otvaranja voltažno zavisnih kalcijumskih kanala (depolarizacija) i agonist operativnih kalcijumskih kanala (oslobađanje ekscitatornih aminokiselina), smanjenje efluksa kalcijuma usled inhibicije ATP zavisnog ispumpavanja iz ćelije, smanjeno preuzimanje od strane mitohondrija i endoplazmatičnog retikuluma, naročito zbog promene mitohondrijskog membranskog potencijala (61,62). Akumulacija veoma aktivnog, slobodnog citosolnog kalcijuma može doprineti morfološkim i fiziološkim transformacijama koje dovode do ćelijske smrti nakon hipoksije (63,64).

Kod hipoksije se ATP razgrađuje, a nagomilavaju se hipoksantini u tkivima, što neposredno dovodi do smrti ćelija (65). Ksantin dehidrogenaza i ksantin oksidaza katalizuju transformaciju hipoksantina u ksantin i mokraćnu kiselinu u kataboličkom putu purinskih nukleotida. U normalnim fiziološkim uslovima ovu reakciju katalizuje uglavnom ksantin dehidrogenaza i ona ne produkuje slobodne radikale. Međutim, u izmenjenim uslovima favorizovana je ksantin oksidaza koja generiše superoksid anjon radikal i vodonik peroksid. Hipoksija indukuje povećanu transformaciju ksantin dehidrogenaze u ksantin oksidazu. Takođe, posredstvom povećane količine slobodnog citosolnog kalcijuma, aktivira se već prisutna ksantin oksidaza u ćelijama (66).

Promena oksidoredukcijskog stanja ćelije u uslovima hipoksije, usled acidoze i moguće produkcije slobodnih radikala može uzrokovati unakrsno povezivanje membranskih proteina obrazovanjem disulfidnih (S-S) veza. Rezultat toga je, agregacija membranskih proteina, pri čemu se menja aktivnost jonskih kanala i drugih proteina ćelijske membrane. Obrazovanjem mešanih disulfida u reakciji sa redukovanim glutationom (GSH) SH grupe membranskih proteina takođe mogu biti modifikovane u procesima koji zavise od hidroksil radikala. Modifikovani proteini membrane mogu biti alternativa lipidnoj peroksidaciji u mehanizmu ireverzibilnog oštećenja ćelijske membrane u ovim uslovima (67).

Kada je u pitanju produkcija lipidnih peroksida, posle akutne hipoksije, nastaje značajno povećanje nivoa lipidnih peroksida u mozgu sa maksimumom posle 30 minuta, a 60-og minuta registrovana je vrednost skoro identična normalnom nivou. Lipidna peroksidacija, naročito u nervnim ćelijama je katalizovana oslobođenim gvožđem iz hemoglobina, transferina i feritina, čije otpuštanje je indukovano tkivnom acidozom i slobodnim radikalima kiseonika. Hipoksijom povećano stvaranje reaktivnih kiseonikovih metabolita naročito je registrovano pri oštećenju nervnih ćelija. Usled acidoze je favorizovano oslobađanje jona gvožđa iz feritina, transferina i hemoglobina (68). U ovim uslovima hemoglobin može doprineti stvaranju slobodnih radikala i lipidne peroksidacije, međutim gvožđe oslobođeno iz feroproteina je mnogo aktivnije. Naime, slobodno fero gvožđe (Fe^{++})

koje se nalazi kao helator određenih precipitata, može obrazovati slobodne radikale (69).

U fiziološkim uslovima terminalni enzim mitohondrijskog respiratornog lanca citohrom oksidaza, katalizuje elektronsku redukciju kiseonika u vodu. Rezultat je elektrohemijski gradijent na unutrašnjoj mitohondrijalnoj membrani. U izmenjenim uslovima moguća je parcijalna redukcija O_2 , usled čega nastaju redukovani molekuli između kiseonika i vode, predstavljajući sledeće elektrone : 55 peroksid anjon radikal (O_2^-) (jedan elektron); vodonik peroksid (H_2O_2) (dva elektrona), hidroksil radikal (OH) (tri elektrona). Mogući načini produkcije slobodnih radikala nakon akutne hipoksije su: povećana koncentracija slobodnog intracelularnog kalcijuma koji enzimskim i neenzimskim putem indukuje stvaranje slobodnih radikala kiseonika (70).

Utvrđeno je da glutamin može dovesti do brze smrti neurona koja nastaje u roku od nekoliko minuta ili sati, a objašnjava se intracelularnim nakupljanjem natrijuma. Joni hlora pasivno slede natrijum, a zbog osmotskog gradijenta difunduje i voda dovodeći do neuronskog edema i lize ćelijske membrane (71,72,73). Kasna smrt neurona za koju treba više sati (nekada više od 24 sata), povezana je sa delovanjem kalcijuma na citosol ćelije, aktivacijom enzimskih sistema, stvaranjem slobodnih radikala, disfunkcijom mitohondrija i smanjenjem energetske izvora. Na sličan način događa se i smrt u mnogim drugim tkivima, mada su neuroni najvulnerabilniji na hipoksično-ishemičnu leziju (74).

Oštećenje mitohondrija je centralni događaj u ćeliji koja je pogođena hipoksijom / ishemijom (75). Upravo vrsta oštećenja mitohondrija određuje način smrti ćelije (nekroza ili apoptoza) (76). Ako je oštećenje intenzivno brzo dovodi do gašenja mitohondrijske funkcije, gubitka ATP produkcije i eksplozivne ruptore nuklearne i citoplazmatske membrane što vodi u nekrozu, nekontrolisanu ćelijsku smrt (nastaje u toku hipoksije / ishemije). Apoptoza – kontrolisana ćelijska smrt nastaje u fazi reperfuzije-reoksigencije. Nekrotoza je programirana nekroza ili inflamatorna ćelijska bolest (77). Ako je insult blaži neuroni u početku gube, ali i

vraćaju funkciju svojih mitohondrija (popravak). Ipak, oštećene mitohondrije upućuju signal za apoptotički program (aktivacijom Citokroma c ili drugog intramitohondrijskog proteina kao što je kaspasa koja fragmentira DNA) (78).

Apoptoza može biti mnogo izraženija u nezrelom mozgu. Novije studije pokazuju da je u nezrelom mozgu, u regijama cerebralnog korteksa i bazalnih ganglija, veći broj apoptotičnih nego nekrotičnih ćelija u periodu od preko sedam dana nakon hipoksičnog oštećenja (79). U uslovima hipoksije (sa posledičnom tranzitornom permeabilnosti mitohondrija), stimulisanom nagomilanom arahidonskom kiselinom, znatno se povećava nepotpuna redukcija kiseonika što dovodi do nastajanja superoksidnog anjona kiseonika (O_2^-) u mitohondrijama. Iz superoksidnog anjona nastaju i drugi slobodni kiseonični radikali. Za vreme hipoksije se javljaju i mnogi drugi, različiti putevi, uključujući i međuprodukte u sintezi prostaglandina, u toku aktivnosti enzimske ciklooksigenaze. Tako mitohondrije u velikoj meri doprinose oksidativnom stresu, tj. stanju u kojem je proizvodnja slobodnih kiseoničkih radikala veća od njihove eliminacije (80).

Nepotpuna ili prolazna hipoksija/ishemija ne dovodi odmah do smrti ćelije. Neuron može preživeti period ishemije, popraviti funkciju ili nastupiti trajno oštećenje neurona nekoliko sati ili dana kasnije (81). Za vreme hipoksije/ishemije dolazi do prolongirane depolarizacije membrane. Ova depolarizacija u nekim neuronskim populacijama dovodi do oslobađanja ekscitacijskih aminokiselina među kojima najznačajnije mesto imaju glutaminska i asparaginska kiselina. Glutaminska kiselina je najača ekscitacijska aminokiselina u mozgu. Ona je citotoksična u neuronskim i cerebelarnim ćelijama. Neuronske ćelije se aktiviraju na lučenje glutaminske kiseline ulaskom kalcijuma u ćeliju i njihovom depolarizacijom u hipoksiji. Pad ATP-a dovodi do održavanja povećane koncentracije glutaminske kiseline što dalje dovodi do prolongirane stimulacije receptora (2). Aktivacija ovih receptora dovodi do ulaska kalcijuma u neurone sa štetnim dejstvom na ćelijsko preživljavanje. Kod smanjenja produkcije energije kalcijumsko-natrijumaska pumpa zavisna o ATP-u ne može da ispumpa sav kalcijum iz ćelije. Rezultat je znatan porast intracelularne koncentracije kalcijuma koji

aktivira barem četiri vrste enzima: fosfolipaze (razlažu lipidnu ćelijsku membranu, oslobađaju arahidonsku kiselinu koja stvara prostaglandine i slobodne radikale); protein-kinazu koja aktivira enzime, uključujući sintezu azot oksida (NO), ksantin oksidazu koja takođe proizvodi slobodne radikale. Proteaze započinju razgradnju citoplazme, a endonukleaze cepanje DNA (82). Ova selektivna vulnerabilnost (posebno bazalnih ganglija, moždanog stabla i senzomotornog korteksa) verovatno je više zavisna od unutrašnjih osobina neurona (tj. ekscitacijskih receptora, reapsorpcijske pumpe) nego od cirkulacije i redistribucije cerebralnog protoka (83). Pored toga post hipoksija, ishemija, reperfuzija i reoksigenacija može indukovati proizvodnju velikih količina azotoksida (NO) u neonatalnom moždanom tkivu i cerebralnoj cirkulaciji (84).

1.6.3. Multiorgansko postasfiktčno oštećenje

Za razliku od odraslog organizma, novorođenče bolje podnosi hipoksiju iz razloga što može i nekoliko desetina puta brže i efikasnije da koristi laktate i ketone kao energetske supstrate (85). Efekti hipoksičnih, samim tim i ishemičnih oštećenja su privremena (reverzibilna) ako je trajanje hipoksije ograničeno. Međutim, kada je hipoksija dugotrajna, zahvaćene ćelije postaju ireverzibilno oštećene, odnosno dolazi do nekroze uprkos reperfuziji. Sve metaboličke promene koje su nastale kao posledica reverzibilnih hipoksičnih ćelijskih oštećenja, mogu izazvati trajna (ireverzibilna) oštećenja tkiva i ćelija pa i njihovu smrt (86).

Poremećaj cirkulacije koji dovodi do oštećenja mozga, može dovesti i do oštećenja drugih organa. To je posledica redistribucije fetalne (neonatalne) cirkulacije iz manje važnih u vitalne organe (mozak, srce, nadbubrežna žlezda) (87). Bubrežna bolest se javlja sa oligurijom, hematurijom, proteinurijom, renalnom insuficijencijom i trombozom renalne vene (88,89).

Postasfiktčna plućna bolest uključuje sindrom aspiracije mekonijuma, perzistentnu fetalnu cirkulaciju, plućnu hipertenziju i respiratorni distres sindrom (RDS). Kardiovaskularna oštećenja se javljaju sa znacima trikuspidne insuficijencije, nekrozom miokarda, hipotenzijom ili šokom. Moguća je tranzitorna bradikardija i

aritmije. Gastrointestinalna bolest se može pojaviti u vidu nekrotičnog enterokolitisa i hepatične disfunkcije. Hematološki poremećaji se pojavljuju kao trombocitopenija, diseminovana intravaskularna koagulopatija. Metabolička disfunkcija se javlja u obliku metaboličke acidoze, hipoglikemije, hipokalcemije, hiponatremije (90). CNS je jedini sistem čije oštećenje ostavlja trajne posledice. Svi ostali sistemi pogođeni asfiksijom u neonatalnom periodu se uglavnom potpuno oporavljaju (91).

1.6.4. Neurološka simptomatologija asfiksije/hipoksije

Tkivo CNS-a pokazuje najveću osetljivost na hipoksiju. Tako pri potpunom prekidu doticanja kiseonika mozgu, znaci poremećaja funkcije hemisfera se javljaju za 2,5 - 3 minuta, u nižim strukturama mozga kroz 10-15 minuta, a u ganglijama simpatičkog nervnog sistema za 60 minuta. Pri tome delovi koji su u ekscitabilnoj fazi brže stradaju od onih koji su u fazi inhibicije. Promene nastale u mozgu pod uticajem hipoksije možemo registrovati elektroencefalografijom (EEG-om), registrovanjem delta i beta talasa na EEG-u (92).

Nastanak neuropatoloških i kliničkih promena karakterističnih za hipoksično ishemijsku encefalopatiju (HIE) zahteva dostizanje izvesnog stepena maturacije centralnog nervnog sistema, kada postoje procesi mijelinizacije i uspostavljanje posebnih sinapsi. Zbog toga HIE prvenstveno nastaje kod dece rođene u terminu. Za razliku od terminskog prototip post asfiktičnog oštećenja mozga prevremeno rođenog deteta predstavlja intrakranijalno-intraventrikularno krvarenje (93).

Poznato je da asfiksija može nastati iz brojnih uzroka pre ili tokom porođaja. Dokazano je da izolovana prepartalna asfiksija dovodi do trajnih oštećenja mozga i bez kliničkog ispoljavanja u novorođenačkom uzrastu. Izgleda da pojava neonatalne HIE najčešće zahteva udruženost pre i intrapartalnog hipoksemično-ishemičnog stresa (94).

Neposredna reakcija sistemskog krvotoka na hipoksemiju je ubrzanje cirkulacije sa tahikardijom, zatim nastaje vazokonstrikcija sa smanjenjem protoka krvi kroz

periferne vaskularne regione i redistribucija cirkulacije. U ovoj fazi krvotok se usmerava ka vitalnim organima (srce, mozak, nadbubrezi), dok su bubrezi, digestivni trakt i mišići u stanju ishemije. U slučaju dugotrajne, teške hipoksemije periferna vazokonstrikcija opterećuje srčani mišić i smanjuje priliv krvi u desnu pretkomoru, što dovodi do smanjenja minutnog volumena srca i sistemske hipotenzije sa ishemijom svih organa (faza rane cirkulatorne dekompenzacije) (95).

Hipoksično cerebralna vazodilatacija nastaje usled sinteze laktata i nekih prostaglandina, kao i povećanja ekstracelularne koncentracije kalcijuma. Nastaje tzv.cerebrovaskularna paraliza, kada dolazi do poremećaja sposobnosti očuvanja stalnosti protoka krvi kroz mozak, uprkos varijacijama sistemskog pritiska (cerebrovaskularna autoregulacija) (96). Inicijalni metabolički odgovor na nedostatak kiseonika u tkivima je aktivacija anaerobne glikolize u tkivima. Ovaj proces označava brzu potrošnju, inače ograničenih rezervi glukoze novorođenog deteta. Usled metaboličkog bloka raste koncentracija laktata. Oni se donekle mogu koristiti za energetski metabolizam mozga (97).U slučaju dužeg i/ili intenzivnijeg hipoksično-ishemičnog stresa dolazi do njihovog katabolizma sa nakupljanjem hipoksantina u tkivima, što neposredno dovodi do smrti ćelija (98).

Neuropatološki supstrat neonatalne HIE čini selektivna nekroza neurona, tzv. status marmoratus bazalnih ganglija, lezije parasagitalnih delova mozga i fokalna ishemična nekroza u beloju masi. Ponekada se i kod ročne novorođenčadi može javiti periventrikularna leukomalacija (PVL). Selektivna neuronalna nekroza i promene u bazalnim ganglijama su uslovljene rasporedom glutaminskih supstanci, dok u nastanku parasagitalne lezije ulogu ima rana primarna cerebralna hipoperfuzija. Izgleda da su fokalna nekroza i PVL rezultat udruženog delovanja rane, primarne ishemije i cirkulatorno metaboličkih poremećaja (99). Novorođenčad koja su bila izložena težoj pre i/ili intrapartalnoj hipoksiji, posle rođenja dobijaju nizak Apgar skor usled različitog stepena neuromišićne depresije. Ukoliko i pored odgovarajuće reanimacije izostane potpuni oporavak, dolazi do razvoja HIE sa izmenom stanja svesti, poremećajem neuromotorne i refleksne

aktivnosti i znacima vegetativne disfunkcije. Neurološki sindrom kod velikog broja novorođenčadi komplikuje pojava kovulzija (100). Uz izvesne modifikacije u poslednje tri decenije se koristi gradacija HIE u tri stadijuma, koju su prvi primenili Sarnat i Sarnat (101).

Tabela 4. Klinički stadijumi (oblici) neonatalne hipoksično-ishemične encefalopatije

	I (lakši)	II (umereno težak)	III (težak)
Stanje svesti	hiperalernost	somnolencija	sopor(koma)
Tonus mišića	normalan	snižen	veoma snižen
Moro refleks	komletan	nekompletan	odsutan
Depresija moždanog stabla	odsutna	umerena	izražena
Konvulzije	odsutne	veoma česte	decerebracija
Poremećaj disanja	odsutne	odsutni	česti

Različiti oblici konvulzija viđaju se u više od polovine novorođenčadi sa HIE. Napadi se javljaju u prvom danu života, pretežno u drugom stadijumu. Neurološki sindrom često kompromituju poremećaji uzrokovani hipoksično-ishemičnim oštećenjima raznih organa (akutna renalna insuficijencija, aspiracija mekonijuma, perzistentna plućna hipertenzija, cirkulatorna insuficijencija (90)).Uporedo sa mnogobrojnim neurološkim simptomima, kod novorođenčeta se posle intrauterine hipoksije sreću i somatski ispadi različiti po stepenu izraženosti zbog vremena nastanka. Može doći do poremećaja disanja, kardiovaskularnih smetnji, poremećaja funkcije jetre, digestivnog trakta, pluća, bubrega i drugih organa. Zbog toga hipoksija fetusa i novorođenčeta spada u teške komplikacije trudnoće i porođaja. Njen klinički značaj je veliki zbog visoke incidence, a posledice hipoksije su opšti medicinski i društveni problem. Zbog navedenih razloga nadolazeću

hipoksiju treba što pre dijagnostikovati, sprovesti profilaksu i prema potrebi primeniti savremeno lečenje (102,103).

1.6.5. Patogeneza ishemijsko-reperfuzionog oštećenja mozga

Iako čini samo 2% od ukupne telesne mase, mozak dobija 20% od srčanog minutnog volumena i zahteva konstantno snabdevanje kiseonikom i glukozom, tako da su energetske potrebe sedam puta veće nego u drugim organima. Patogeneza ishemijskog oštećenja mozga podrazumeva tri faze: ishemijska depolarizacija (ID), biohemijska kaskada i reperfuziono oštećenje (104). ID dovodi do prekida snabdevanja kiseonikom i glukozom te nastaje konverzija u anaerobni metabolizam i akumulacija mlečne kiseline. Nekoliko minuta od aresta prestaje neuronalna električna aktivnost, nastaje gubitak energije i oštećenje jonske homeostaze. Insuficijenciju membranske ATP-zavisne jonske pumpe, prati izlazak ćelijskog K^+ , a ulazak Na^{++} , Cl^- i H_2O u ćeliju (1). Depolarizacija presinaptičke membrane koja se dešava brzo, oštećuje transport neurotransmitera, te započinje biohemijska kaskada. Ako prekid cirkulacije traje duže od 5-10 minuta, nastaju ireverzibilne ćelijske promene (105). Depolarizovana ćelijska presinaptička membrana masivno oslobađa ekscitatorni neurotransmiter glutamat. Akumulacija glutamata u ekstracelularni prostor na postsinaptičkoj membrani dovodi do aktivacije glutamat receptora (NMDA, AMPA, kainat) i aktivacije jonskog kanalskog kompleksa, koji utiče na pomeranje kalcijuma iz ekstracelularnog u intracelularni prostor. Naglo oslobađanje glutamata i ekscesivni ulazak Ca^{++} u ćelije je ekscitotoksičan proces odgovoran za kaskadu sekundarnih ishemijskih neuronalnih oštećenja. Visok nivo intraćelijskog kalcijuma aktivira degradativne enzime: proteaze, fosfolipaze, NO sintetaze (NOS), kalpaina (citosol proteinaze), gelsolina (kaspaza enzima), koji direktno ili indirektno oštećuju ćelijske proteine i druge strukture dovodeći do nagomilavanja arahidonske kiseline, inhibicije mitohondrijalnih respiratornih enzima i formiranja slobodnih kiseoničkih radikala i ekscitotoksične ćelijske smrti (106). Postoje dokazi da je za apoptotičku ćelijsku smrt, pored akumulacije glutamata i intraćelijskog Ca^{++} , odgovorna kaspaza kao glavni medijator. NO inhibira apoptozu inhibicijom enzima kaspaze (107,108).

Oštećenje izazvano reperfuzijom i reoksigenacijom nastaje posle uspostavljanja sistemske perfuzije. Oporavak srčanog ritma i stabilizacija arterijskog krvnog pritiska u periodu posle prekida srčane radnje ne znače oporavak cerebralne perfuzije, već se ćelijska destrukcija nastavlja. Promene u cerebralnoj perfuziji i patofiziološke posledice „no-flow” stanja za vreme i „re-flow” stanja posle globalne cerebralne ishemije su kompleksne i nedovoljno poznate. „No-reflow” fenomen posle cerebralne ishemije je glavni ograničavajući faktor za adekvatan oporavak i preživljavanje nakon zastoja srčane radnje. Faza oštećenja reperfuzijom i reoksigenacijom je multifaktorijalna kompleksna hemijska kaskada, koja se odigrava pod uticajem aktiviranih leukocita i citokina (109).

Leukotrieni i prostaglandini nastali iz arahidonske kiseline i slobodni kiseonični radikali povećavaju mikrovaskularnu permeabilnost, koja dovodi do transendotelne migracije leukocita i njihove infiltracije u ishemično tkivo mozga i aktivacije inflamatorne reakcije. Rezultat je dalje oslobađanje velike količine slobodnih kiseoničnih radikala (OFR): superoksid anjona, hidrogen peroksida, hidroksil radikala. OFR pogoršavaju tkivno oštećenje i biohemijsko funkcionisanje ćelija, uzrokujući peroksidaciju lipidne komponente ćelijske membrane i daljeg dejstva na ćelijske lipide, proteine i nukleinske kiseline, što omogućava invaziju i infiltraciju neutrofila u postishemično tkivo mozga (110). NO sintetaza povećava NO koncentraciju, a abnormalno velika količina superoksida konvertuje NO u peroksinitrit, koji oštećuje endotel kapilara i povećava ne samo edem, već dovodi do endotelnih protruzija koje dodatno blokiraju kapilare (111).

Citokini su proinflamatorni i ključni medijatori u reperfuzionoj fazi cerebralnog tkivnog oštećenja. Značajan izvor citokina su leukociti. Citokini indukuju dalji porast neutrofila koji pogoršavaju inflamatorne aktivnosti i dovode do nekroze ćelija nervnog sistema (112). Oštećenje neurona posle hipoksično – ishemičnog (HI) insulta je biohemijski proces koji obuhvata dve faze. Zbog smanjenja cerebralnog protoka i snabdevanja kiseonikom nastaje primarni energetski gubitak. On pokreće kaskadu događaja koji uključuju oslobađanje eksitatornih neurotransmitera i ulazak jona natrijuma u ćeliju koji dovode do citotoksičnog

edema i nekroze ćelije. Posle faze reperfuzije dolazi do prolaznog oporavka cerebralnog oksidativnog metabolizma u trajanju od 6 do 12 sati, što predstavlja prozor za neuroprotektivne intervencije. Intracelularna akumulacija kalcijuma dovodi do daljeg oštećenja. Sledi sekundarna faza, ili faza odložene neuronske smrti, koja započinje 6 do 72 sata nakon insulta, a može trajati više od 7 dana. Povećava se produkcija slobodnih radikala, azot oksida sa posledičnim formiranjem peroksinitrita, koji uz aktivaciju inflamatornih medijatora, započinju disfunkciju mitohondrija i apoptozu ćelija. Tokom poslednje dve decenije studije su pokazale kritičnu ulogu glutamata kao posrednika neuronske smrti pri hipoksično – ishemičnoj leziji (75, 113).

1.7. Definicija lipida

Pod terminom lipidi podrazumeva se grupa organskih hemijskih materija, koje se nalaze u sastavu svih životinjskih i biljnih organizama.

U ljudskom organizmu prisutno je više vrsta lipida, među kojima su najznačajniji: masne kiseline, holesterol, trigliceridi i fosfolipidi (114).

Predstavljaju sastavni deo svih složenih lipida (holesterolskih estara, triglicerida i fosfolipida), a prisutni su u organizmu u obliku tzv.slobodnih masnih kiselina (SMK), nevezanih za druge lipide. SMK-a su sastavljene od pravog lanca ugljenikovih atoma, čiji je broj po pravilu paran, a molekul se završava karboksilnom grupom. Prema broju ugljenikovih atoma dele se na masne kiseline kratkog (do 8 ugljenikovih atoma), srednjeg (8-12 ugljenikovih atoma) i dugog lanca (više od 12 ugljenikovih atoma) (115).

Na osnovu prisustva, odnosno odsustva dvostrukih veza, masne kiseline se dele na zasićene i nezasićene. Nezasićene se prema broju dvostrukih veza dele na monozasićene (imaju samo jednu vezu) i polinezasićene, imaju od 2-6 dvostrukih veza. Nezasićene masne kiseline se mogu pojaviti u dva izomerna oblika, u tzv. cis u trans obliku (116).

1.7.1. Masne kiseline

Masne kiseline u krvi se nalaze u dva oblika, kao slobodne ili neesterifikovane (SMK) i esterifikovane. Esterifikovane masne kiseline predstavljaju najveći deo u cirkulaciji oko 95 %, dok se 5% slobodnih masnih kiselina nalazi u krvi .

Slobodne masne kiseline u plazmi reverzibilno su vezane za proteine, pre svega za albumine, u manjoj meri za globuline i lipoproteine. Prisutne su u vrlo niskoj koncentraciji (oko 0,5 mmol/l), ali imaju izuzetno brz «turnover», poluživot im iznosi 1-3 minuta. Metabolički su najaktivnija frakcija lipida u plazmi, a njihova oksidacija predstavlja glavni izvor energije u stanju gladovanja. Esterifikovane masne kiseline nalaze se estarski vezane u sastavu triglicerida (45%), estara holesterola (15%) i fosfolipida (35%)(114).

U prirodi je otkriven veliki broj masnih kiselina, od kojih je velika količina prisutna u ljudskom organizmu. Neke od masnih kiselina se mogu stvarati u našem organizmu , a one masne kiseline koje ljudski organizam nije u stanju da sintetiše, moraju se unositi hranom i nazivaju se esencijalne masne kiseline. Već je napomenuto da se najveći deo masnih kiselina nalazi u vezanom obliku, u sastavu fosfolipida, triglicerida i estara holesterola, a svega 5% slobodnih masnih kiselina se nalazi u slobodnom ili nevezanom obliku (slobodne masne kiseline). Treba imati u vidu da mnoge osobine triglicerida, holesterola i fosfolipida u značajnoj meri zavise od vrste masnih kiselina koje ulaze u njihov sastav (117).

1.7.2. Holesterol

Holesterol je među lipidnim frakcijama najbolje proučen. U pitanju je posebna vrsta lipida, koja se po svojoj hemijskoj strukturi značajno razlikuje od drugih lipidnih materija. U čistom obliku je beličasta mekana voštana supstanca nerastvorljiva u vodi. U organizmu je prisutan u slobodnom, neesterifikovanom i esterifikovanom obliku vezan sa jednom masnom kiselinom u obliku holesterolskih estara (118).

Esterifikacija holesterola se dešava u plazmi pod dejstvom enzima lecitin holesterol-aciltransferaze (LCAT). U plazmi se nalazi oko 75% holesterola u esterifikovanom stanju, a najčešće se esterifikuje sa polinezasićenom linolnom masnom kiselinom oko 55% (119).

Najveći deo slobodnog (neesterifikovanog) holesterola nalazi se u tkivima. Holesterol je neophodni sastavni deo organizma. On je strukturni element svih ćelijskih i intraćelijskih membrana. U određenim organima ima specifične uloge: u hepatocitima učestvuje u sintezi žučnih kiselina, u kori polnih i nadbubrežnih žlezda u sintezi steroidnih hormona i ima ulogu transportera liposolubilnih vitamina A,D,E i K (114).

1.7.3. Trigliceridi

Trigliceridi su estri glicerola, jednog trihidroksilnog alkohola sa masnim kiselinama. Moguća je esterifikacija samo jedne, dve ili sve tri hidroksilne grupe glicerola sa masnim kiselinama, pri čemu nastaju mono, di ili trigliceridi. U organizmu su najrasprostranjeniji trigliceridi, dok su digliceridi, a posebno monogliceridi prisutni u značajnim količinama jedino u crevnoj sluznici tokom apsorpcije masti (116).

Njihova osnovna uloga u organizmu sastoji se u stvaranju energetske depoa iz kojih se po potrebi oslobađaju masne kiseline čijom se oksidacijom obezbeđuje energija neophodna za život svih ćelija. Najveća količina triglicerida nalazi se u sastavu masnog tkiva (oko 95%), dok su u krvi prisutne neznatne količine (114).

1.7.4. Hemijska struktura fosfolipida

Hemijska struktura fosfolipida je složena. Fosfolipidi su estarski vezana dva molekula masnih kiselina za jedan alkohol, koji u svojoj molekuli sadrži fosforu kiselinu kao integralni deo. Zavisno od alkohola koji sadrže dele se u dve grupe, glicerolfosfolipidi (sadrže glicerol) i sfingofosfolipidi (sadrže sfingozin). Sa izuzetkom masnog tkiva u kome dominiraju trigliceridi, fosfolipidi su osnovni lipidi

ćelijskih membrana i drugih ćelijskih strukturnih elemenata. Treba naglasiti da su fosfolipidima najbogatiji mozak i nervno tkivo (117) .

1.7.5. Lipoproteini

Važna osobina lipida je njihova nerastvorljivost u vodi. Da bi se mogle rastvoriti u krvi i transportovati do svih ćelija organizma, sve lipidne materije su vezane za određene belančevine, stvarajući tako čestice koje se nazivaju lipoproteini (115) .

Lipidni deo lipoproteinskih čestica čine holesterol, holesterolski estri, trigliceridi i fosfolipidi, a njihovi belančevinski delovi su vrlo različite građe i nazivaju se apolipoproteini. Zavisno od vrste i količine lipida, sa jedne strane, i količine i vrste belančevinskog dela, odnosno apolipoproteina, sa druge strane, u krvi su prisutne različite vrste lipoproteina (119).

Četiri osnovne vrste lipoproteinskih čestica prisutnih u krvi svih osoba predstavljaju: hilomikroni, lipoproteini vrlo niske gustine (označavaju se skraćenicom VLDL koja potiče od engleskog izraza Very-Low-Density-Lipoproteins –lipoproteini vrlo niske gustine), lipoproteini niske gustine (LDL, od Low-Density-Lipoproteins –lipoproteini niske gustine) i lipoproteini velike gustine (HDL, od High-Density-Lipoproteins – lipoproteini visoke (velike) gustine), tabela 5 .

Tabela 5. Osnovne lipoproteinske čestice u krvi

- HILOMIKRONI
-VLDL (Very-Low-Density-Lipoproteins) lipoproteini vrlo niske gustine prebeta-lipoproteini
-LDL (Low-Density-Lipoproteins) lipoproteini niske gustine beta-lipoproteini
-HDL (High-Density-Lipoproteins) lipoproteini visoke gustine alfa-lipoproteini

Danas je praktično u celom svetu prihvaćeno označavanje lipoproteinskih čestica skraćenicama koje potiču od engleskih naziva, odnosno kao VLDL, LDL, HDL čestice. Njima treba dodati i hilomikrone koji imaju najveću lipoproteinsku česticu u cirkulaciji .Pojedini lipidi (holesterol, trigliceridi, fosfolipidi) se nalaze u krvi u sastavu svih lipoproteinskih čestica, u različitim količinama i kombinaciji sa drugim sastavnim delovima lipoproteinskih čestica. Hilomikroni i VLDL sadrže pretežno trigliceride, LDL uglavnom holesterol, dok su HDL čestice najbogatije u proteinskom delu, a od lipida u fosfolipidima. Holesterol u krvi jedne osobe predstavlja zbir holesterola prisutnog u svim lipoproteinskim česticama, u hilomikronima, VLDL, LDL, i HDL, mada se njegova najveća količina (oko 70%) nalazi u LDL česticama (114).

1.7.6. Apolipoproteini

Lipidi su najvećim delom nerastvorljivi u vodi. U plazmi se mogu nalaziti u obliku stabilnih kompleksa ukoliko su vezani za određene proteinske delove koji se nazivaju apolipoproteini ili apoproteini (apo).

Ranije se smatralo da je proteinski deo lipoproteinske čestice samo transportno sredstvo za lipide. Međutim, ustanovljeno je da imaju i druge, veoma značajne uloge u organizmu. Apoproteini obezbeđuju stabilnost transporta lipida u plazmi. Oni su kofaktori pojedinih enzima koji učestvuju u metabolizmu lipoproteinskih čestica. Njihova najvažnija funkcija se sastoji u vezivanju za specifične receptore na ćelijskim membranama, čime se obezbeđuje ulazak lipoproteinskih čestica iz plazme u ćelije i njihov dalji katabolizam (120).

Struktura i koncentracija pojedinih apolipoproteina u određenoj lipoproteinskoj čestici nalazi se pod direktnom genetskom kontrolom, za razliku od sadržaja serumskih lipida koji su znatno više pod uticajem načina ishrane i stanja metabolizma (121).

1.7.6.1. Apolipoprotein A-I

Apolipoprotein A-I (Apo A-I) predstavlja glavni apolipoprotein HDL čestica. Oko 90% Apo A-I se nalazi u HDL frakcijama. U samoj HDL čestici čini 65% od celokupnog proteinskog dela. Prisutan je u malim količinama u hilomikronima i VLDL frakciji. Sintetiše se u jetri i zidu tankog creva. Njegova najvažnija uloga je aktivatora enzima LCAT koji omogućava da se na površini HDL čestica esterifikuje slobodni holesterol. Na taj način, male diskoidalne HDL₃ čestice prihvataju višak holesterola iz ćelija i akumuliraju ga u formi esterifikovanog holesterola, pri čemu se transformišu u veće, sferične, manje gustine HDL₂ čestice. Apoprotein A-I učestvuje u prihvatanju slobodnog holesterola i kasnije njegovoj esterifikaciji (122).

1.7.6.2. Apolipoprotein A-II

Apolipoprotein A - II (Apo A - II) predstavlja oko 20-30% ukupnih proteina HDL čestica. Stvara se u jetri i zidu tankog creva. Smatra se da ima inhibirajući efekat na LCAT, a modulirajući na aktivnost lipoproteinske lipaze (LPL) i hepatske trigliceridne lipaze (HTGL) (123).

1.7.6.3. Apolipoprotein B

Apolipoprotein B (Apo B) je u humanoj populaciji prisutan u dva oblika, kao apolipoprotein B - 48 (Apo B - 48) i apolipoprotein B - 100 (Apo B -100).

U zidu tankog creva se sintetizira Apo B-48, koji ulazi u sastav hilomikrona. Daleko je značajniji Apo B-100, koji se sintetizira pretežno u jetri, a ulazi u sastav VLDL, lipoproteina intermedijarne gustine (IDL) koji se u cirkulaciji zadržavaju kratko vreme, LDL čestica i lipoproteina Lp (a). Za ovaj apolipoprotein je karakteristično da sadrži i izvesne količine ugljenih hidrata (približno oko 5% od ukupne mase), što ga u hemijskom smislu svrstava u glikoproteine (124).

Iz jetre se Apo B-100 sekretuje prvenstveno u obliku VLDL čestica. Daljim metabolizmom VLDL preko intermedijarnih lipoproteina (IDL) stvaraju se LDL čestice koje sadrže isključivo Apo B-100. Najvažnija uloga Apo B-100 sastoji se u specifičnom vezivanju LDL čestica za ćelijske receptore u jetri i drugim tkivima (125).

1.7.6.4. Apolipoprotein C

Grupa apolipoproteina C (Apo C) zastupljena je sa tri različita proteina koji se sintetiziraju u jetri. U cirkulaciji se nalaze vezani za hilomikrone, VLDL i novostvorene HDL čestice. U toku intravaskularnog metabolizma lipoproteinskih čestica dolazi do intenzivne razmene Apo C. Naime, sa HDL česticom ovi apolipoproteini prelaze na lipoproteinske čestice bogate u trigliceridima, odnosno na hilomikrone i VLDL.

Očigledno je da Apo C ima značajnu ulogu u katabolizmu lipoproteina bogatih trigliceridima (126).

1.7.6.5. Apolipoprotein E

Apolipoprotein E (Apo E) je proteinski molekul sastavljen od 229 aminokiselina, koji sadrži 10% aminokiseline arginin, pa se zbog toga i naziva "argininom bogati protein". Glavno mesto njegove sinteze je jetra, ali se stvara i u drugim organima: mozak, slezina, pluća, nadbubreg, bubrezi, jajnici, mišići. Ima značajnu ulogu u metabolizmu različitih lipoproteinskih čestica: kilomikrona, VLDL - a, intermedijarnih lipoproteina (IDL) i HDL-a koji sadrže Apo E (114).

Apolipoprotein E učestvuje u reverzibilnom transportu viška holesterola iz perifernih tkiva u jetru posredstvom HDL čestice. Kada se opterete holesterolom ugrađuju u sebe i Apo E .

Izgleda da je Apo E uključen i u reparativne odgovore na tkivna oštećenja. Povećanje njegove koncentracije nalazi se na mestima oštećenja i regeneracije perifernih nerava . On ima značaj u regeneraciji nerava, rastu i / ili diferencijaciji neurona (127).

1.7.6.6. Apolipoprotein (A)

Apolipoprotein A (Apo A) je protein relativno velike molekulske mase koji ulazi u sastav lipoproteina Lp (a). Ako se izdvoji Apo (A), ostali deo Lp (a) po svom sastavu je skoro identičan sa LDL česticom, jer ima sličan lipidni sastav, a sadrži i jedan molekul Apo B-100 (114).

1.8. Uticaj hipoksije/ishemije na lipide

Gubitak funkcije ćelijske membrane predstavlja primarni događaj u nastanku ćelijskih oštećenja u uslovima hipoksije, ali definitivna osnova mehanizama zbog kojih nastaje membranska disfunkcija ostaje još uvek nejasna. Potrebno je naglasiti postojanje sledećih potencijalnih mehanizama: peroksidacija membranskih lipida,

unakrsno povezivanje membranskih proteina i povećana razgradnja fosfolipida (3). Hipoksija dovodi do oksidacije lipoproteina, pri čemu postoji međuzavisnost koncentracije lipidnih hidroperoksida u plazmi sa težim stepenom hipoksije, odnosno ispoljavanjem posledica hipoksije. Najčešće oksidisani lipidi su u lipoproteinima niske gustine (LDL) i LDL je glavni izvor lipida koji se nakuplja tokom ishemije (7).

Lipidna peroksidacija je oksidaciono oštećenje koje zahvata ćelijske membrane, odnosno lipide membranskih lipoproteina, kao i plazmatske lipide (8).

1.8.1. Peroksidacija membranskih lipida

U poslednjih 50 godina lipidna peroksidacija je predmet opsežnih studija u pogledu mehanizma dinamike, analize krajnjih proizvoda i povezanosti sa bolestima. Lipidi se oksidišu na tri različita mehanizma: enzimska oksidacija, neenzimska i oksidacija posredovana slobodnim radikalima. Relativna osetljivost lipida prema oksidaciji zavisi od njihove strukture. Lipidni hidroperoksidi se formiraju kao primarni produkti, ali su oni supstrati za različite enzime i na taj način prolaze različite sekundarne procese. Različite vrste antioksidanata sa različitim funkcijama inhibiraju štetne efekte proizvoda lipidne peroksidacije. Biološka uloga peroksidacije lipida je nedavno privukla veliku pažnju, ali se njihov fiziološki značaj mora pokazati u narednim studijama (8). Lipidna peroksidacija, naročito u nervnim ćelijama je katalizovana oslobođenim gvožđem iz hemoglobina, transferina i feritina, čije otpuštanje je indukovano tkivnom acidozom i slobodnim radikalima kiseonika (128).

U cirkulaciji se lipidi nalaze upakovani u lipoproteinskim molekulima, jer su nerastvorljivi u vodi. Lipoproteini imaju centralni lipidni deo (jezgro) u kome se nalaze trigliceridi i estri holesterola, a na površini se nalazi omotač sastavljen od određenih proteina (apoproteini), fosfolipida i male količine slobodnog holesterola. Zahvaljujući tom omotaču lipidi se mogu transportovati putem krvi. Lipoproteini su veliki molekularni kompleksi lipida i apoproteina (apo), koji u

plazmi prenose hidrofobne plazmatske lipide, uglavnom holesterol i trigliceride (129).

Oksidativno modifikovana LDL čestica (Ox-LDL) može nastati i direktnom oksidacijom koja se uglavnom odvija na nezasićenim masnim kiselinama pod uticajem superoksidnog i peroksinitritnog radikala ili transferom već oksidisanih ćelijskih lipida na LDL. Pri tom nastaju lipidni peroksidi koji ulaze u novu lančanu reakciju, kao i konjugovani dieni i produkti aldehida. Ovim promenama prethodi "period oklevanja" oksidacije aldehida tj. latentni period u kome se troše antioksidansi u LDL, nakon čega oksidacija masnih kiselina može da otpočne (130,131).

Degradirani LDL istovremeno postaje ligand za receptore-hvatače makrofaga, i na taj način monociti bivaju privučeni na mesto lezije, "uzimaju" lipoproteine i postupno se pretvaraju u penaste ćelije. Kada LDL depoziti pređu kritičnu granicu, prekomerna aktivacija komplementa i makrofaga stvara uslove za hroničnu inflamaciju (132).

Makrofagi u aktiviranom stanju izazivaju smrt endotelnih ćelija procesom apoptoze ili sekrecijom proteolitičkih enzima i luče brojne faktore rasta. Apoptotični efekat Ox-LDL na endotelne ćelije može biti pripisan oksidacionim produktima fosfatidilholina ili oksisterola (133, 134).

1.8.2. Patofiziološki značaj oksidisane LDL čestice

Lipidna peroksidacija (LPO) kao najizraženiji negativni fenomen u delovanju slobodnih radikala predstavlja jedan autokatalitički, progredijentan i najčešće ireverzibilan proces. Inicijaciju procesa lipidne peroksidacije pokreće bilo koji oksidans sposoban da pozajmi atom vodonika iz dvostruke veze nezasićene masne kiseline. Najodgovorniji sistem za oksidativnu modifikaciju LDL čestice je ćelijski lipooksigenazni sistem (135).

Oksidativna modifikacija LDL je moguća posredstvom peroksinitrita koji nastaje u reakciji azot monoksida (NO) i superoksida koji se u povećanoj meri stvaraju u uslovima aktivacije endotela, s obzirom na to da dolazi do indukcije NO sintaze i endotelne NADPH oksidaze (136).

Oksidisani LDL (Oh-LDL) predstavlja modifikovanu formu LDL-a, pri čemu se oksidativna modifikacija odvija putem SR. Naime, u toku normalne metaboličke aktivnosti dolazi do kontrolisanog stvaranja slobodnih radikala (atomi ili molekuli koji imaju jedan nesporeni elektron zbog čega su veoma nestabilni i reaktivni). Kada nastanu metabolički poremećaji, slobodni radikali se nekontrolisano stvaraju i dovode do značajnih oštećenja makromolekula. Slobodni radikali reaguju sa lipidima, proteinima i nukleinskim kiselinama, dovodeći do njihove oksidativne modifikacije. Pri oštećenju lipida slobodnim radikalima dolazi do stvaranja lipidnih slobodnih radikala i lipidnih peroksida. Smatra se da je glavni agens oksidacije LDL-a superoksid anjon, pod čijim dejstvom se modifikuje kako lipidna, tako i proteinska komponenta LDL čestice (137).

LDL se razlikuje od nemodifikovanog LDL po sastavu, strukturi i metaboličkom putu (pre svega katabolizmu). LDL sadrži veći procenat masnih kiselina i lizofosfatidilholina kao rezultat dejstva fosfolipaze A2. Oh-LDL se karakteriše reaktivnim aldehidima, smanjenim sadržajem holesterola sa redukovanim brojem reaktivnih amino grupa na apo B-100, povišenim oksisterolima i fragmentacijom apo B-100. Peroksidacija polinezasićenih masnih kiselina dovodi do stvaranja jako reaktivnih aldehida koji deluju citotoksično. Oksidacija apo B-100 dovodi do gubljenja antigene tolerancije sa pojavom antitela na modifikovani LDL u intimi arterija. Usled toga dolazi do smanjenog prepoznavanja LDL receptora od strane LDL čestice i njenog povećanog vezivanja za slobodne radikale. Za ovaj put ne postoje autoregulacioni mehanizmi, pa ćelije koje ga koriste nisu zaštićene od nekontrolisanog nagomilavanja holesterola. U takve ćelije spadaju glatkomišićne ćelije i monocitno makrofagne ćelije (138).

Drugi faktori koji mogu doprineti preuzimanju LDL od strane makrofaga receptorskim ili nereceptorskim mehanizmima podrazumevaju fagocitozu, samoagregaciju LDL, formiranje kompleksa sa proteoglikanima, formiranje imunih kompleksa i degradaciju hidrolitičkim enzimima. Oksidativna modifikacija "zarobljenih" LDL čestica odigrava se u dve faze. Prva faza dešava se pre mobilizacije monocita, a druga nakon infiltracije monocitima/makrofagima, zahvaljujući njihovom velikom oksidativnom kapacitetu. Nativne LDL čestice u subendotelnom prostoru mogu biti oksidisane i rezidentnim vaskularnim ćelijama: glatkomišićnim, endotelnim i monocito/makrofagnim ćelijama (139).

Postoje dva stepena u oksidativnoj modifikaciji LDL čestice. Minimalno oksidisani LDL nastaje kada je samo lipidna komponenta blago oksidisana, za razliku od potpune oksidacije LDL kada dolazi do promena i u strukturi apo B-100, koji se fragmentiše i stvara veće molekulske agregate i postaje elektronegativniji. Modifikacija 5-10% lizinskih ostataka na apo B-100 menja njegovu strukturu i dovodi do uklanjanja LDL čestica preko receptora na makrofagima. LDL čestice imaju hemotaksično svojstvo za monocite, inhibiciju migracije makrofaga iz zida krvnog suda u cirkulaciju, prihvatanje preko specifičnih receptora i citotoksična svojstva (140).

Ox-LDL stimuliše endotelne ćelije da produkuju monocitni hemotaksični faktor, a rezultat ovih dešavanja je nakupljanje monocita u intimi krvnih sudova i njihova diferencijacija u makrofage. Ox-LDL zbog prisustva modifikovanog apo B-100, se ne prepoznaje od strane normalnih receptora, već ga prepoznaju sa velikim afinitetom neregularni SR na aktiviranim makrofagima. Nekontrolisano preuzimanje Ox-LDL od strane SR na makrofagima dovodi do njihovog propadanja. Makrofagi mogu da sekretuju Ox-LDL i superoksidni anjon, čime postaju citotoksični za okolinu i dodatno oštećuju endotel (141).

Makrofagi u aktiviranom stanju izazivaju smrt endotelnih ćelija procesom apoptoze ili sekrecijom proteolitičkih enzima. Apoptotični efekat Ox-LDL na

endotelne ćelije može biti pripisan oksidacionim produktima fosfatidilholina ili oksisterola (142).

U uslovima hipoksije dolazi do oksidacije lipida, naročito polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) i holesterola. Oxysteroli kao proizvodi oksidacije holesterola su dijagnostički biomarker oksidativnog stresa (143).

Prisustvo holesterola u mozgu je od suštinskog značaja za sazrevanje neurona. Najčešće oksidisani lipidi su lipoproteini niske gustoće (LDL). Ova osetljivost na oksidaciju može se pripisati fizičkim osobinama membrane i spoljne površine jezgra, gde se nalaze dva lipidna omotača. Ćelijska membrana je najpodložnija peroksidaciji kao posledica visokog sadržaja nezasićenih masnih kiselina (144).

Lipidni peroksidi se oslobađaju kada slobodni radikali reaguju sa nezasićenim masnim kiselinama ćelijske membrane tokom hipoksično ishemijske bolesti kod novorođenčadi (145).

U uslovima hipoksije nakon oštećenja ćelija ili nakon gubitka integriteta ćelijske membrane, lipidna peroksidacija se nastavlja, posebno ako se primjenjuje terapija kiseonikom. Hemijski modifikovan LDL je prepoznat od strane određenog makrofagnog receptora, što dovodi do ulaska LDL i holesterola u ćeliju. U cirkulaciji lipidi podležu oksidaciji, peroksidaciji i uklanjanju iz cirkulacije, dok se ćelijski lipidi i dalje nalaze na lokalnom nivou ne ulazeći u cirkulaciju (146).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Ispitivanje uticaja hipoksije na koncentracije elektrolita Na^+ , K^+ , jonizovanog Ca^{++} , u prvom i drugom satu života u arterijalizovanoj kapilarnoj krvi.
2. Ispitivanje uticaja hipoksije na koncentracije elektrolita: Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Cl^- u plazmi novorođenčadi u drugom danu života.
3. Ispitivanje uticaja hipoksije na koncentracije ukupnog holesterola, lipoproteina niske gustine (LDL), lipoproteina visoke gustine (HDL) u plazmi novorođenčadi u drugom danu života.
4. Ispitivanje uticaja hipoksije na koncentracije triglicerida u plazmi novorođenčadi u drugom danu života.

3. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA

Prospektivna studija je sprovedena na Odeljenju Neonatologije Klinike za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog Centra Srbije, Beograd, u periodu od januara 2012. godine do decembra 2014. godine.

3.1. Pacijenti

Formirane su dve grupe pacijenata.

Podelili smo novorođenčad u dve grupe:

1. Studijska grupa koja se sastojala od 50 novorođenčadi sa hipoksijom, rođenih u terminu, prirodnim putem ili carskim rezom koja su izložena terapiji kiseonikom nakon rođenja, zbog razvoja respiratornog distres sindroma, sa Apgar skorom (AS) manjim od 7 (opseg 1-10) i pH manjim od 7,20. Gestaciona zrelost se kretala između 37 i 41 navršenih gestacionih nedelja, TM je bila između 10. i 90. percentila.
2. Kontrolna grupa koja se sastojala od 50 zdrave novorođenčadi, rođene u terminu, prirodnim putem ili carskim rezom bez potrebe za primenom kiseonične terapije. Gestaciona zrelost se kretala između 38 i 41 navršenih gestacionih nedelja, a TM je bila između 10. i 90. percentila.

Kriterijumi za isključivanje su bili: novorođenčad majki obolelih od diabetes mellitus-a, novorođenčad majki sa hipertenzijom, hiperholesterolemija majki, hipertireoza majki, RHD i ABO alloimunisatio pre ili tokom trudnoće, novorođenčad sa urođenim anomalijama, metaboličke bolesti novorođenčadi, TORCH infekcije, perinatalne infekcije, hromozomske aberacije, intrauterusni zastoj rasta.

Gestaciona zrelost je određivana prema datumu poslednje menstruacije i potvrđena ultrazvučnim pregledom u prvom trimestru. TM je merena na elektronskoj vagi posle rođenja sa preciznošću od 10 g, a telesna dužina (TD) i

obim glave (OG) su mereni nerastegljivom platnenom trakom sa preciznošću od 0,5 cm.

Podaci vezani za tok trudnoće, način završetka porođaja, pol novorođenčadi ispitivanih grupa, uzrok nastanka perinatalne hipoksije uzimani su iz dostupne medicinske dokumentacije.

Cilj studije je detaljno objašnjen svakoj majci i informisani pristanak je pribavljen za svako novorođenče. Protokol studije je odobren od strane Etičkog komiteta Klinike za ginekologiju i akušerstvo, Etičkog komiteta Kliničkog Centra Srbije i Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

3.2. Sakupljanje uzoraka krvi

U prvom i drugom satu nakon rođenja određivan je acido bazni status i elektroliti iz arterijalizovane kapilarne krvi kod obe grupe novorođenčadi. Krv je uzimana u hepariniziranoj kapilarnoj cevici (0,5 ml krvi) iz pete novorođenčeta.

U drugom danu života uzimana je venska krv kod obe grupe novorođenčadi (5 ml) u epruvetu bez antikoagulansa.

Uzorci krvi su zatim centrifugirani, a iz seruma određivani lipidi i elektroliti.

3.3. Biohemijske analize

Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, Cl⁻, trigliceridi (TG), ukupni holesterol (TC) i high density lipoprotein cholesterol (HDL C) uzeti iz venske krvi su mereni spektrofotometrijski na automatskom analizatoru (Beckman Coulter AU 480), dok je low density lipoprotein cholesterol (LDL C) izračunat prema Friedewald-ovoj formuli. Acido bazni status: pH, pCO₂, pO₂, HCO₃⁻, BE, Na⁺, K⁺, jonizovani Ca⁺⁺ uzeti iz arterijalizovane kapilarne krvi su mereni na aparatu Gem Premier 3000.

3.4. Statistička analiza

Za analizu primarnih podataka korišćene su deskriptivne statističke metode, metode za testiranje statističkih hipoteza i metode za ispitivanje zavisnosti. Od deskriptivnih statističkih metoda korišćene su mere centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana), mere varijabiliteta (standardna devijacija) i relativni brojevi (pokazatelji strukture). Od metoda za testiranje statističkih hipoteza korišćeni su: t-test, Wilcoxonov test, MannWhitney test, Hi-kvadrat test i Fisherov test tačne verovatnoće. Od metoda za analizu zavisnosti upotrebljen je Spearmanov koeficijent korelacije ranga. Podaci su analizirani korišćenjem statističkog softvera IBM SPSS Statistics 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Statističke hipoteze su testirane na nivou statističke značajnosti (alfa nivo) od 0,05.

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

4.1. Demografske karakteristike ispitivanih grupa novorođenčadi

Tabela 1. Antropometrijski parametri ispitivanih grupa novorođenčadi

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x}\pm sd$	min	max	$\bar{x}\pm sd$	
TM(g)	3000	4150	3414,00±45,82	3200	4100	3577,80±19,67	0,090
TD(cm)	45	55	51,44±1,96	50	55	52,38±1,01	0,003
OG(cm)	31	38	34,94±1,5	34	37	35,34±0,87	0,128

Prikazana telesna masa (TM) izražena u gramima (gr), telesna dužina (TD) izražena u centimetrima (cm), obim glave (OG), izražen u centimetrima (cm) u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi.

Na tabeli 1 su prikazani antropometrijski parametri ispitivanih grupa novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi.

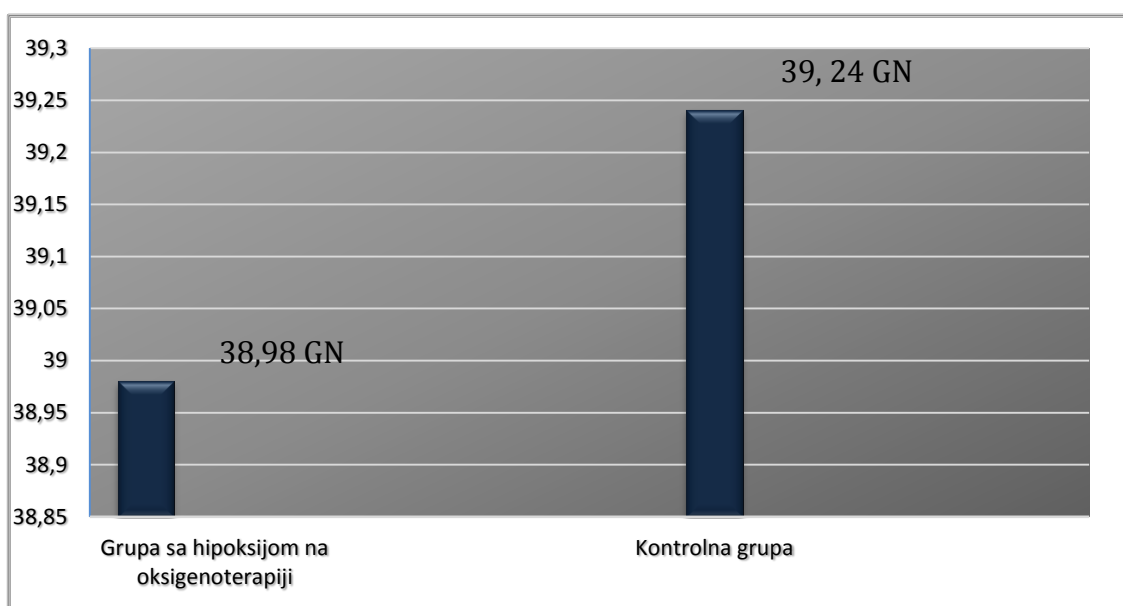
Prosečna TM u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je 3414,00±45,82 gr, dok je u kontrolnoj grupi 3577,80±19,67 gr. Prosečna TD u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je 51,44±1,96 cm, dok je u kontrolnoj grupi 52,38±1,01 cm. Prosečan obim glave u grupi sa hipo-ksijom na oksigenoterapiji je 34,94±1,5 cm, dok je u kontrolnoj grupi 35,34±0,87 cm.

Statističkom analizom dobijenih podataka nije nađena statistički značajna razlika telesne težine i obima glave u ispitivanim grupama ($p>0,05$), dok je nađena statistička značajna razlika u telesnoj dužini ispitivanih grupa novorođenčadi ($p<0,05$).

4.1.1. Gestacijska zrelost ispitivanih grupa novorođenčadi

Tabela 2. Gestacijska zrelost ispitivanih grupa novorođenčadi

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			p
	min	max	$\bar{x}\pm sd$	min	max	$\bar{x}\pm sd$	
GZ(ned)	37	41	38,98±1,13	38	41	39,24±1,51	0,031



Grafikon 1. Gestacijska zrelost ispitivanih grupa novorođenčadi

Prikazana gestacijska zrelost u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi (GN).

Na grafikonu 1 je prikazana gestacijska zrelost novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi izražena u GN.

Prosečna gestacijska zrelost u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je $38,98 \pm 1,13$ GN, dok je u kontrolnoj grupi $39,24 \pm 1,51$ GN.

Statističkom analizom dobijenih podataka nije nađena statistički značajna razlika ($p > 0,05$).

4.1.2. Učestalost pola ispitivanih grupa novorođenčadi

Tabela 3. Učestalost pola ispitivane novorođenčadi

Grupa	Pol			p
	Muški	Ženski	Svega	
Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji	28	22	50	0,257
Kontrolna grupa	24	26	50	
Ukupno	52	48	100	

Prikazana učestalost pola novorođenčadi sa sa hipoksijom na oksigenoterapiji terapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi.

Na tabeli 3 je prikazana učestalost pola ispitivane novorođenčadi.

U grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je bilo 28 novorođenčadi muškog pola i 22 novorođenčeta ženskog pola. U kontrolnoj grupi je bilo 24 novorođenčeta muškog pola i 26 novorođenčadi ženskog pola.

Statističkom analizom dobijenih podataka nije nađena statistički značajna razlika između polova ispitivane novorođenčadi ($p > 0,05$).

4.1.3. Način završetka porođaja ispitivanih grupa novorođenčadi

Tabela 4. Način završetka porođaja ispitivane novorođenčadi

Grupa	Pol			p
	Vagin.	C.rez	Svega	
Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji	30	20	50	0,266
Kontrolna grupa	34	16	50	
Ukupno	56	44	100	

Prikazan načina završetka porođaja novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi.

Na tabeli 4 je prikazan načina završetka porođaja ispitivane novorođenčadi.

U grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji prirodnim putem je rođeno 30 novorođenčadi , u kontrolnoj grupi 34 novorođenčeta. U grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji 20 novorođenčadi je rođeno sectio cesarea, u kontrolnoj grupi 16 novorođenčadi.

Statističkom analizom dobijenih podataka nije nađena statistički značajna razlika između načina završetka porođaja ispitivanih grupa novorođenčadi ($p>0,05$).

4.1.4. Apgar score ispitivanih grupa novorođenčadi

Tabela 5. Apgar score ispitivane novorođenčadi

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x}\pm sd$	min	max	$\bar{x}\pm sd$	
Apgar 1'	1	6	4,06±1,25	9	9	9,00±0,00	0,000
Apgar 5'	2	6	5,50±1,14	9	10	9,04±0,20	0,000

Prikazan Apgar Scor (AS) u prvom i petom minutu u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi.

Na tabeli 5 je prikazan Apgar Scor u prvom i petom minutu u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi.

Prosečna vrednost AS u prvom minutu u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je 4,06±1,25 u kontrolnoj grupi 9,00±0,00. Prosečna vrednost AS u petom minutu u grupi novorođenčadi sa oksigenoterapijom je 5,50±1,14 u kontrolnoj grupi 9,04±0,20.

Statističkom analizom dobijenih podataka nađena je statistički značajna razlika AS u prvom i petom minutu kod obe grupe novorođenčadi ($p<0,01$).

4.1.5. Uzroci hipoksije novorođenčadi sa oksigenoterapijom

Tabela 6. Uzroci hipoksije novorođenčadi

Nepравilan položaj ploda	19
Produžen porođaj	10
Pupčanik oko tela	7
Pupčanik oko vrata	9
Prolaps pupčanika	2
Abruptio placentae	3

Najčešći uzrok hipoksije tokom porođaja je nepravilan položaj ploda (karlična prezentacija ploda, defleksioni položaji glave, nožna prezentacija, poprečan položaj ploda, ispala ruka u toku porođaja) 19/50, produžen porođaj je zastupljen u 10/50 novorođenčadi, pupčanik obavijen oko tela kod 7/50 novorođenčadi, pupčanik obavijen oko vrata kod 9/50 novorođenčadi. Zavisno od procene akušera porođaj se završava carskim rezom ili prirodnim putem. Prolaps pupčanika je zastupljen kod 2/50 novorođenčadi, abruptio placentae 3/50 novorođenčadi. Porođaj se završava carskim rezom.

4.2. Acidobazni status ispitivanih grupa novorođenčadi u prvom i drugom satu života

Tabela 7. Acidobazni status u prvom satu života kod obe grupe novorođenčadi

Paramet.	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x}\pm sd$	min	max	$\bar{x}\pm sd$	
pH	6,78	6,99	6,92±0,06	7,25	7,31	7,26±0,01	0,000
pCO ₂ (kPa)	10,10	15,50	11,28±1,58	6,80	7,80	7,25±0,24	0,000
pO ₂ (kPa)	2,10	6,10	4,60±0,90	5,10	5,60	5,33±0,14	0,000
HCO ₃ (mmol/l)	6,50	20,10	14,42±3,57	19,60	21,80	20,15±0,52	0,000
BE (mmol/l)	-25,20	-8,50	-13,27±4,19	-4,30	-3,50	-3,04±1,29	0,000

pH u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je 6,92±0,06, u kontrolnoj grupi 7,26±0,01, pCO₂ u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji 11,28±1,58 kPa, u grupi zdrave novorođenčadi 7,25±0,24 kPa, pO₂ u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji 4,60±0,90 kPa, u grupi zdrave novorođenčadi 5,33±0,14 kPa, HCO₃ u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji 14,42±3,57 mmol/l, u grupi zdrave novorođenčadi 20,15±0,52

mmol/l, BE u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji $-13,27 \pm 4,19$ mmol/l, u grupi zdrave novorođenčadi $-3,04 \pm 1,29$ mmol/l.

Poređenjem vrednosti pH, pCO₂, pO₂, HCO₃ i BE (baznog ekscesa) dobijene su visoko statistički značajne razlike između grupa ($p < 0,01$).

Tabela 8. Acidobazni status u drugom satu života kod obe grupe novorođenčadi

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x} \pm sd$	min	max	$\bar{x} \pm sd$	
pH	7,11	7,38	$7,28 \pm 0,06$	7,33	7,38	$7,35 \pm 0,01$	0,000
pCO ₂ (kPa)	4,80	11,30	$7,59 \pm 1,46$	6,50	7,30	$6,86 \pm 0,20$	0,000
pO ₂ (kPa)	3,20	8,90	$5,39 \pm 1,06$	5,50	6,30	$5,98 \pm 0,17$	0,000
HCO ₃ (mmol/l)	8,71	25,70	$21,17 \pm 2,75$	20,40	23,40	$21,31 \pm 0,63$	0,253
BE(mmol/l)	-18,40	-1,60	$-4,68 \pm 3,28$	-2,90	-2,70	$0,16 \pm 2,13$	0,000

pH u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je $7,28 \pm 0,06$, u kontrolnoj grupi $7,35 \pm 0,01$, pCO₂ u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji $7,59 \pm 1,46$ kPa, u grupi zdrave novorođenčadi $6,86 \pm 0,20$ kPa, pO₂ u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji $5,39 \pm 1,06$ kPa, u grupi zdrave novorođenčadi $5,98 \pm 0,17$ kPa, HCO₃ u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji $21,17 \pm 2,75$ mmol/l, u grupi zdrave novorođenčadi $21,31 \pm 0,63$ mmol/l, BE u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji $-4,68 \pm 3,28$ mmol/l, u grupi zdrave novorođenčadi $0,16 \pm 2,13$ mmol/l.

Poređenjem vrednosti pH, pCO₂, pO₂, i BE (baznog ekscesa) dobijene su visoko statistički značajne razlike između grupa (p<0,01). Poređenjem vrednosti HCO₃ nije dobijena statistički značajna razlika između grupa (p>0,05).

4.3. Koncentracije elektrolita ispitivanih grupa novorođenčadi iz arterijalizovane kapilarne krvi u prvom i drugom satu posle rođenja

4.3.1. Koncentracije Natrijuma (Na⁺) ispitivanih grupa novorođenčadi u prvom i drugom satu života

Tabela 9. Koncentracije Natrijuma (Na⁺) iz arterijalizovane kapilarne krvi

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x}\pm sd$	min	max	$\bar{x}\pm sd$	
Na ⁺ 1 sat mmol/l	123,00	139,00	132,36±3,15	132,00	138,00	133,96±1,01	0,003
Na ⁺ 2 h mmol/l	123,00	139,00	132,50±3.36	132,00	135,00	133,16±0,96	0,276

Prikazana koncentracija Natrijuma iz arterijalizovane kapilarne krvi u prvom i drugom satu posle rođenja.

Na tabeli 9 je prikazana koncentracija Natrijuma iz arterijalizovane kapilarne krvi u prvom i drugom satu posle rođenja kod novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi izražena u mmol/L.

Prosečna koncentracija Natrijuma u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u prvom satu života je $132,36 \pm 3,15$ mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi $133,96 \pm 1,01$ mmol/L.

Prosečna koncentracija Natrijuma u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u drugom satu života je $132,50 \pm 3,36$ mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi $133,16 \pm 0,96$ mmol/L.

Statističkom analizom dobijenih podataka nađena je statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u prvom satu života, dok u drugom satu života nije pronađena statistička razlika između grupa ($p > 0,05$).

4.3.2. Koncentracije Kalijuma (K⁺) ispitivanih grupa novorođenčadi u prvom i drugom satu života

Tabela 10. Koncentracije Kalijuma (K⁺) iz arterijalizovane kapilarne krvi

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x} \pm sd$	min	max	$\bar{x} \pm sd$	
K ⁺ 1h mmol/l	4,30	6,80	$5,42 \pm 0,61$	4,80	5,40	$5,10 \pm 0,16$	0,001
K ⁺ 2h mmol/l	3,80	6,80	$5,33 \pm 0,56$	5,20	5,50	$5,32 \pm 0,09$	0,815

Prikazana koncentracija K⁺ iz arterijalizovane kapilarne krvi u prvom i drugom satu posle rođenja.

Na tabeli 10 je prikazana koncentracija K⁺ iz arterijalizovane kapilarne krvi u prvom i drugom satu posle rođenja kod novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi izražena u mmol/L.

Prosečna koncentracija K⁺ u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u prvom satu života je 5,42± 0,61 mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi 5,10±0,16 mmol/L.

Prosečna koncentracija Kalijuma u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u drugom satu života je 5,33±0,56 mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi 5,32±0,09 mmol/L.

Statističkom analizom dobijenih podataka nađena je visoko statistički značajna razlika (p<0,01) u prvom satu života, dok u drugom satu života nije pronađena statistička razlika između grupa (p>0,05).

4.3.3. Koncentracije jonizovanog Calcijuma (Jon Ca⁺⁺) ispitivanih grupa novorođenčadi u prvom i drugom satu života

Tabela 11. Koncentracije jonizovanog Calcijuma (Jon Ca⁺⁺) iz arterijalizovane kapilarne krvi u prvom i drugom satu posle rođenja

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x}\pm sd$	min	max	$\bar{x}\pm sd$	
Jon Ca ⁺⁺ 1sat (mmol/l)	1,04	1,22	1,16±0,04	1,26	1,31	1,28±0,02	0,000
Jon Ca ⁺⁺ 2 sat (mmol/l)	0,81	1,19	1,12±0,06	1,15	1,38	1,33±0,03	0,000

Prikazana koncentracija Jon Ca^{++} iz arterijalizovane kapilarne krve u prvom i drugom satu posle rođenja.

Na tabeli 11 je prikazana koncentracija Jon Ca^{++} iz arterijalizovane kapilarne krvi u prvom i drugom satu posle rođenja kod novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi izražena u mmol/L.

Prosečna koncentracija Jon Ca^{++} u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u prvom satu života je $1,16 \pm 0,04$ mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi $1,28 \pm 0,02$ mmol/L.

Prosečna koncentracija Jon Ca^{++} sa hipoksijom na oksigenoterapiji u drugom satu života je $1,12 \pm 0,06$ mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi $1,33 \pm 0,03$ mmol/L.

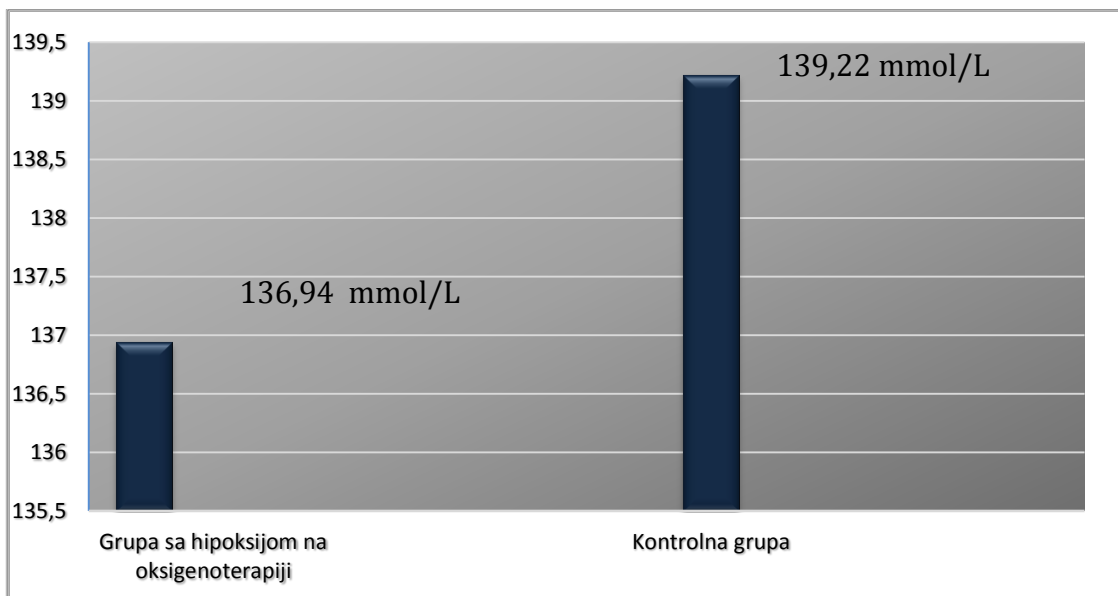
Statističkom analizom dobijenih podataka nađena je visoko statistički značajna razlika u prvom i drugom satu života između ispitivanih grupa ($p < 0,001$).

4.4. Koncentracije elektrolita venske krvi ispitivanih grupa novorođenčadi u drugom danu života

4.4.1. Koncentracije serumskog Natrijuma(Na^+) ispitivanih grupa novorođenčadi u drugom danu života

Tabela 12. Koncentracije serumskog Na^+ u drugom danu života kod obe grupe novorođenčadi

Paramet.	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x} \pm \text{sd}$	min	max	$\bar{x} \pm \text{sd}$	
Na^+ (mmol/l)	122,00	143,00	$136,94 \pm 4,11$	136,00	141,00	$139,22 \pm 1,28$	0,002



Grafikon 2. Koncentracije serumskog Na⁺ u drugom danu života

Prikazana koncentracija serumskog Natrijuma u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi izražena u mmol/L.

Na grafikonu 2 je prikazana prosečna vrednost serumskog Natrijuma kod novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi izražena u mmol/L.

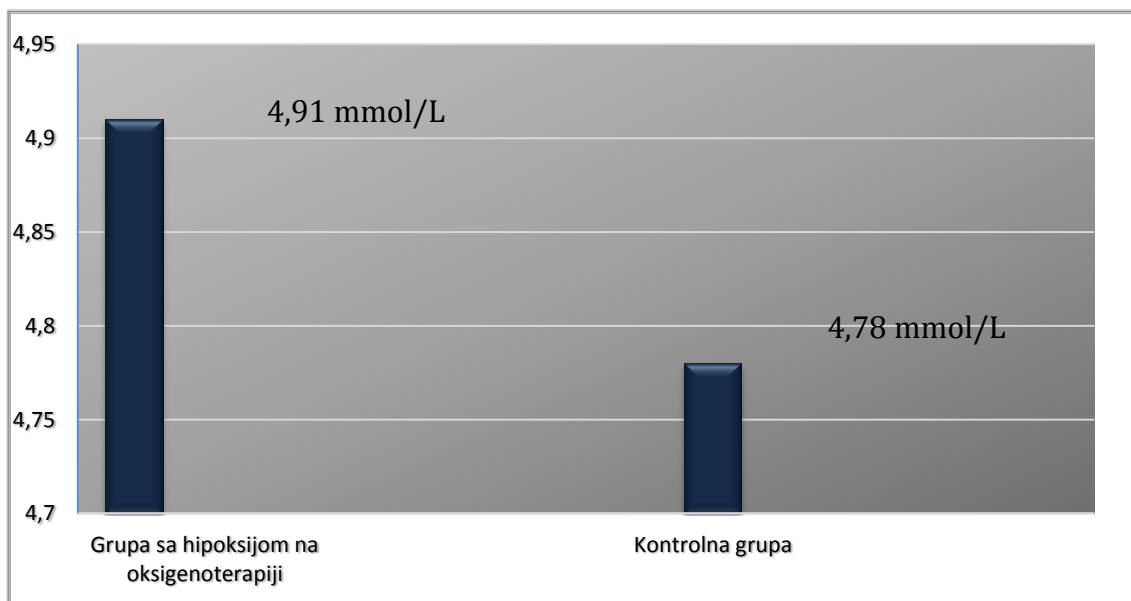
Prosečna koncentracija Na⁺ u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je 136,94±4,11 mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi 139,22±1,28 mmol/L.

Statističkom analizom dobijenih podataka nađena je visoko statistički značajna razlika (p<0,01).

4.4.2. Koncentracije serumskog Kalijuma (K⁺) ispitivanih grupa novorođenčadi u drugom danu zivota

Tabela 13. Koncentracije serumskog K⁺ u drugom danu života kod obe grupe novorođenčadi

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x}\pm sd$	min	max	$\bar{x}\pm sd$	
K ⁺ (mmol/l)	4,50	5,40	4,91±0,23	4,50	4,90	4,78±0,10	0,015



Grafikon 3. Koncentracije serumskog K⁺ u drugom danu života

Prikazana koncentracija serumskog Kalijuma u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi izražena u mmol/L.

Na grafikonu 3 je prikazana prosečna vrednost serumskog K⁺ kod novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi izražena u mmol/L.

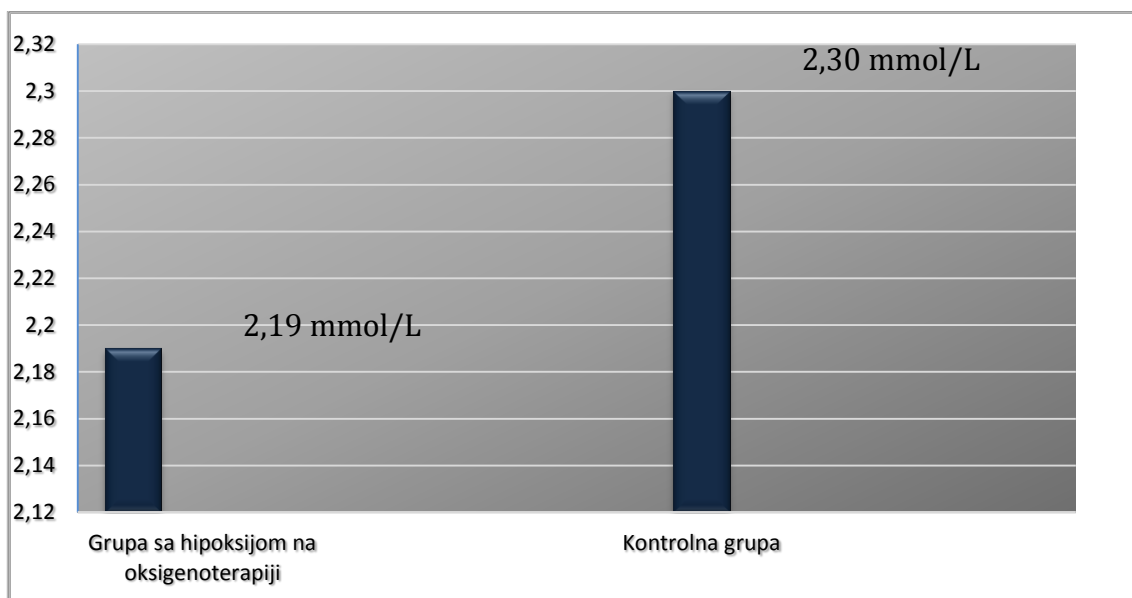
Prosečna koncentracija K⁺ u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je 4,91±0,23 mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi 4,78±0,10 mmol/L.

Statističkom analizom dobijenih podataka nađena je visoko statistički značajna razlika (p<0,01).

4.4.3. Koncentracije serumskog Calcijuma (Ca⁺⁺) ispitivanih grupa novorođenčadi u drugom danu života

Tabela 14. Koncentracije serumskog Ca⁺⁺ u drugom danu života kod obe grupe novorođenčadi

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x}\pm sd$	min	max	$\bar{x}\pm sd$	
Ca ⁺⁺ (mmol/l)	1,22	2,49	2,19±0.25	2,14	2,45	2,30±0,05	0,003



Grafikon 4. Koncentracije serumskog kalcijuma (Ca^{++}) u drugom danu života

Prikazana koncentracija serumskog Ca^{++} u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi izražena u mmol/L.

Na grafikonu 4 je prikazana prosečna vrednost Ca^{++} kod novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi izražena u mmol/L.

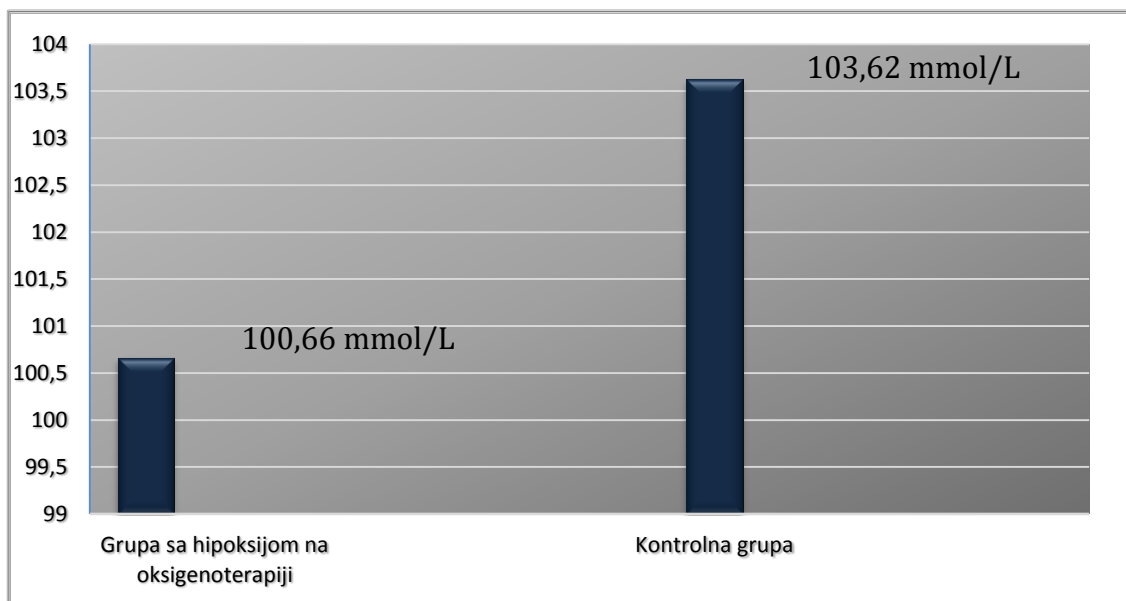
Prosečna koncentracija Ca^{++} u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je $2,19 \pm 0,25$ mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi $2,30 \pm 0,05$ mmol/L.

Statističkom analizom dobijenih podataka nađena je visoko statistički značajna razlika ($p < 0,01$).

4.4.4. Koncentracije serumskog Hlora (Cl⁻) ispitivanih grupa novorođenčadi u drugom danu života

Tabela 15. Koncentracije serumskog Cl⁻ u drugom danu života kod obe grupe novorođenčadi

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x} \pm sd$	min	max	$\bar{x} \pm sd$	
Cl ⁻ (mmol/l)	85,00	108,00	100,66 ±4.51	102,00	105,00	103,62 ±0,73	0,000



Grafikon 5 . Koncentracije serumskog Cl⁻ u drugom danu života

Prikazana koncentracija serumskog hlora u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi izražena u mmol/L.

Na grafikonu 5 je prikazana prosečna vrednost Cl⁻ kod novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi izražena u mmol/L.

Prosečna koncentracija Cl⁻ u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je 100,66±4,51 mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi 103,62±0,73 mmol/L.

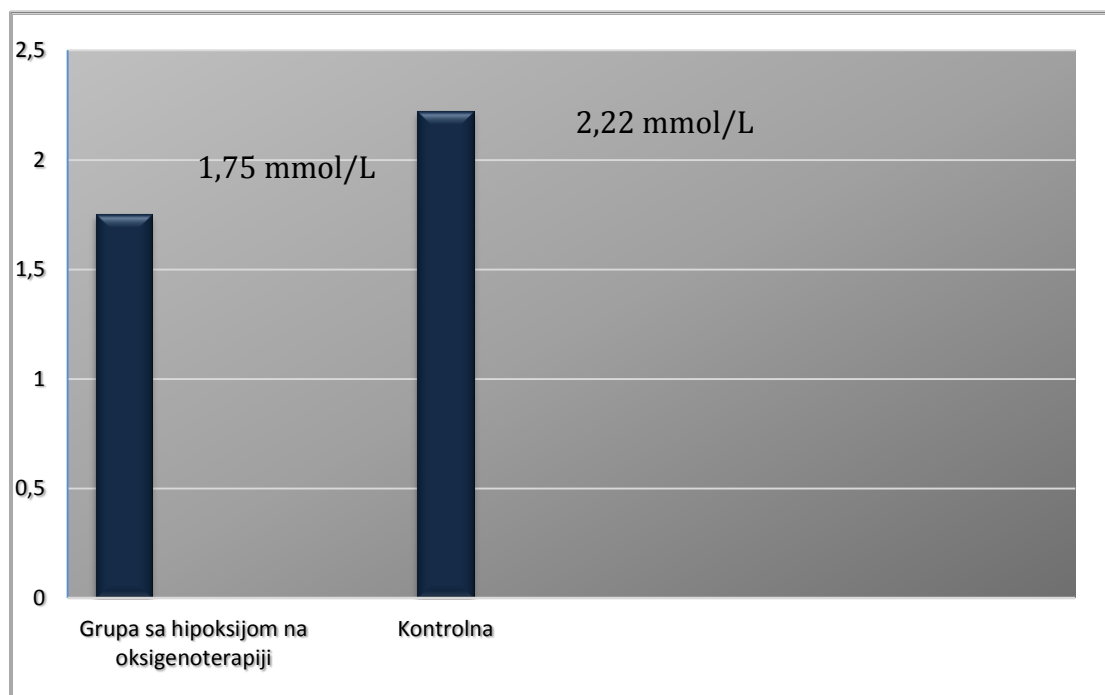
Statističkom analizom dobijenih podataka nađena je visoko statistički značajna razlika (p<0,01).

4.5. Koncentracije lipida venske krvi ispitivanih grupa novorođenčadi u drugom danu života

4.5.1. Koncentracije ukupnog holesterola ispitivanih grupa novorođenčadi u drugom danu života

Tabela 16. Koncentracija ukupnog holesterola u drugom danu života

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x}\pm sd$	min	max	$\bar{x}\pm sd$	
Uk. holesterol (mmol/l)	0,87	2,16	1,75±0,31	2,07	2,48	2,22±0,06	0,000



Grafikon 6. Koncentracije ukupnog holesterola u drugom danu života

Prikazana prosečna vrednost ukupnog holesterola u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi izražena u mmol/L.

Na grafikonu 6 je prikazana prosečna vrednost ukupnog holesterola novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi izražena u mmol/L.

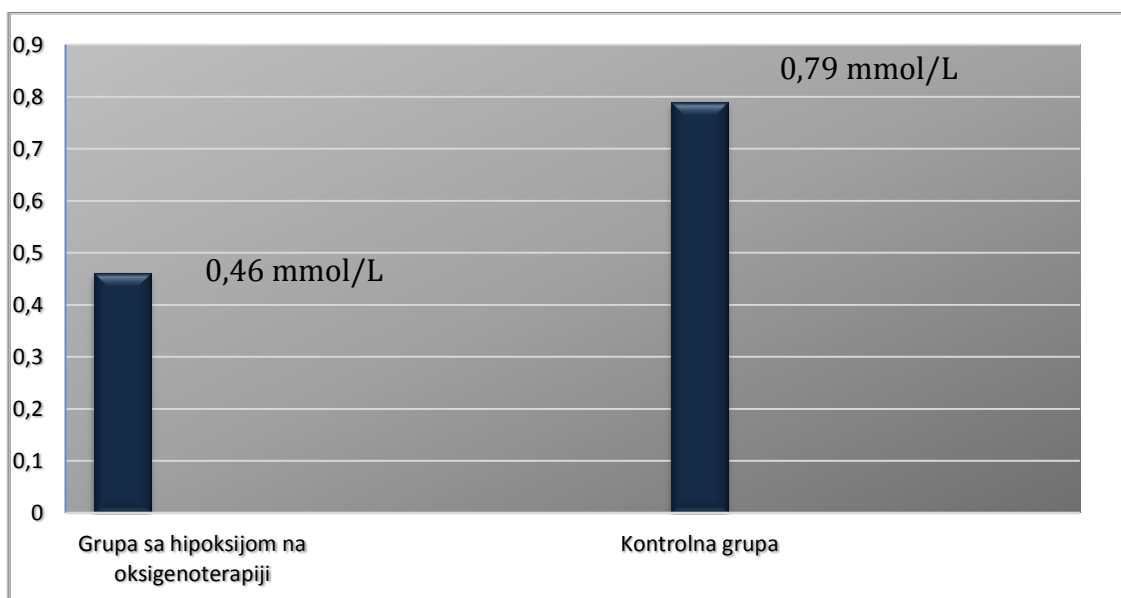
Prosečna koncentracija ukupnog holesterola u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je $1,75 \pm 0,31$ mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi $2,22 \pm 0,06$ mmol/L.

Statističkom analizom dobijenih podataka nađena je visoko statistički značajna razlika ($p < 0,01$).

4.5.2. Koncentracije LDL holesterola ispitivanih grupa novorođenčadi u drugom danu života

Tabela 17. Koncentracija LDL holesterola u drugom danu života

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x}\pm sd$	min	max	$\bar{x}\pm sd$	
LDL(mmol/l)	0,05	0,68	0,46±0,17	0,71	0,96	0,79±0,05	0,000



Grafikon 7. Koncentracije LDL holesterola u drugom danu života

Prikazana prosečna vrednost LDL holesterola u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi izražena u mmol/L.

Na grafikonu 7 je prikazana prosečna vrednost LDL holesterola novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi izražena u mmol/L.

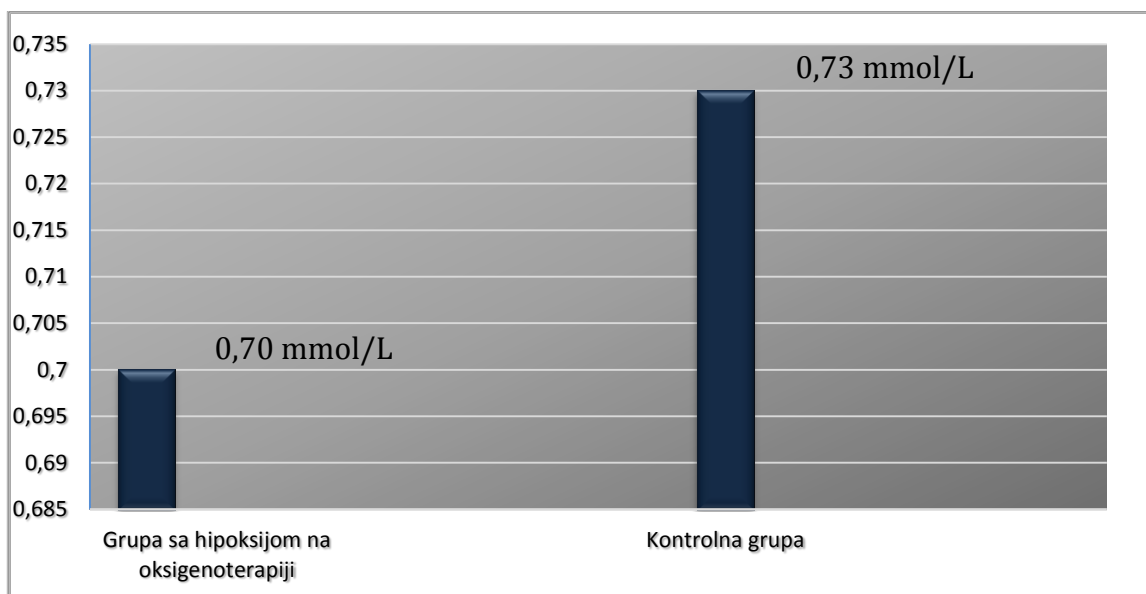
Prosečna koncentracija LDL holesterola u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je $0,46 \pm 0,17$ mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi $0,79 \pm 0,05$ mmol/L.

Statističkom analizom dobijenih podataka nađena je visoko statistički značajna razlika ($p < 0,01$).

4.5.3. Koncentracije HDL holesterola ispitivanih grupa novorođenčadi u drugom danu života

Tabela 18. Koncentracija HDL holesterola u drugom danu života

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x} \pm sd$	min	max	$\bar{x} \pm sd$	
HDL(mmol/l)	0,29	1,48	$0,70 \pm 0,19$	0,71	0,86	$0,73 \pm 0,03$	0,004



Grafikon 8. Koncentracije HDL holesterola u drugom danu života

Prikazana prosečna vrednost HDL holesterola u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi izražena u mmol/L.

Na grafikonu 8 je prikazana prosečna vrednost HDL holesterola novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi izražena u mmol/L.

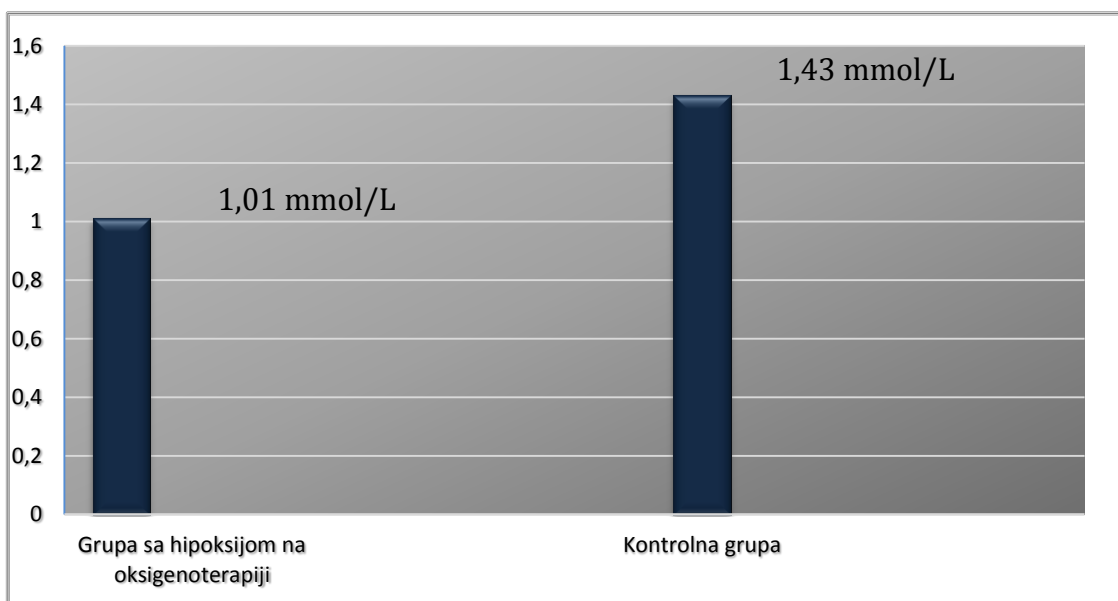
Prosečna koncentracija HDL holesterola u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je $0,70 \pm 0,19$ mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi $0,73 \pm 0,03$ mmol/L.

Statističkom analizom dobijenih podataka nađena je statistički značajna razlika ($p < 0,05$).

4.5.4. Koncentracije Triglicerida (TG) ispitivanih grupa novorođenčadi u drugom danu života

Tabela 19. Koncentracija triglicerida (TG) u drugom danu života

Parametar	Grupa sa hipoksijom na oksigenoterapiji n=50			Kontrolna grupa n=50			P
	min	max	$\bar{x}\pm sd$	min	max	$\bar{x}\pm sd$	
TG(mmol)	0,34	0,45	1,01±0,24	1,21	1,95	1,43±0,20	0,000



Grafikon 9. Koncentracije Triglicerida (TG) u drugom danu života

Prikazana prosečna vrednost Triglicerida (TG) u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na kontrolnu grupu novorođenčadi izražena u mmol/L.

Na grafikonu 9 je prikazana prosečna vrednost Triglicerida (TG) novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi izražena u mmol/L.

Prosečna koncentracija Triglicerida (TG) u grupi sa hipoksijom na oksigenoterapiji je $1,01 \pm 0,24$ mmol/L, dok je u kontrolnoj grupi $1,43 \pm 0,20$ mmol/L.

Statističkom analizom dobijenih podataka nađena je visoko statistički značajna razlika ($p < 0,01$).

5. DISKUSIJA

O uticaju hipoksije na oštećenje ćelijske membrane i mehanizmima lipidne peroksidacije postoje literaturni podaci, dok istraživačkih literaturnih podataka o uticaju hipoksije u prvim satima i danima života na koncentracije elektrolita i slododnih lipida plazme u literaturi ne postoje. Dobijeni rezultati se mogu objasniti patofiziološkim mehanizmima literaturnih podataka.

Postoji nedostatak podataka o učestalosti perinatalne asfiksije/hipoksije. U razvijenim zemljama sa dobro organizovanom perinatalnom službom incidenca je 1-6/1000 terminske novorođenčadi (147). Procena incidence asfiksije varira i zbog neujednačenih stavova, zavisno da li se uzimaju u obzir samo donešena, nedonešena ili sva deca sa znacima asfiksije, stepen težine asfiksije ili AS u 5. om minutu života. U zemljama sa niskim stepenom razvoja incidenca se kreće i do 26/1000 živorođene dece. Izveštaji o incidenci na porođaju variraju od 25/1000 donešene novorođenčadi, od kojih je 15 % sa umerenom ili teškom asfiksijom, 73/1000 nedonešene novorođenčadi, 50% sa umerenom ili teškom asfiksijom u Kanadi (148), do 5,4/1000 u Švedskoj kasnih osamdesetih godina, gde su istraživanjem obuhvaćena novorođenčad sa AS < 7 u 5. om minutu života (149), ili u regiji Stokholma 2,56/1000, studija je obuhvatala novorođenčad sa AS < 3 u 5. om minutu života (150).

Poboljšanjem perinatalne zaštite, ranim prepoznavanjem preteće hipoksije, incidenca asfiksije je značajno smanjena kako u razvijenim zemljama 1-2/1000 tako i u zemljama u razvoju 5,5/1000 (151). Preciznih podataka o incidenci perinatalne asfiksije/hipoksije u našoj zemlji za sada nema.

Našim istraživanjem je obuhvaćeno 100 novorođenčadi rođenih na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog Centra Srbije, Beograd, u periodu od januara 2012. godine do decembra 2014. godine. Novorođenčad su podeljena u dve grupe : Studijska grupa koja se sastojala od 50 novorođenčadi rođenih u terminu, prirodnim putem ili carskim rezom koja su izložena terapiji kiseonikom nakon rođenja, zbog razvoja respiratornog distres sindroma, sa Apgar skorom (AS)

manjim od 7 (opseg 1-10) i pH manjim od 7,20. Gestaciona zrelost se kretala između 37 i 41 navršenih gestacionih nedelja, TM je bila između 10. i 90. percentila. Kontrolna grupa koja se sastojala od 50 zdrave novorođenčadi, rođene u terminu, prirodnim putem ili carskim rezom bez potrebe za primenom kiseonične terapije. Gestaciona zrelost se kretala između 38 i 41 navršenih gestacionih nedelja, a TM je bila između 10. i 90. percentila .

U studiji nije postojala precizna kontrola primene koncentracije kiseonika tokom reanimacije, iz tehničkih razloga , ali ni jedno novorođenče koje je zahtevalo oksigenoterapiju nije dobijalo 100 % O₂.

U daljem testu ćemo analizirati rezultate našeg istraživanja i uporediti ih sa podacima navedenim u literaturi.

Perinatalna hipoksija je kompleksan problem sa aspekta prepartalnog, intrapartalnog i neonatalnog prepoznavanja, dijagnostike, lečenja , kao i udaljene prognoze novorođenčadi koja su pretrpela neki stepen hipoksično – ishemično – reperfuziono – reoksigenacionog oštećenja tkiva.

Prosečne vrednosti AS u prvom i petom minutu prikazane su na tabeli 5 u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji.

Primenom mera reanimacije u zavisnosti od težine hipoksije, uz pravilno doziranje kiseonika i kontinuirano praćenje saturacije u prvom minutu kod hipoksične novorođenčadi dolazi do povećanja Apgar scora u 5. om minutu života (152).

Poređenjem vrednosti pH, pCO₂, pO₂, HCO₃ i BE (baznog ekscesa) u prvom satu života (tabela 7) i pH, pCO₂, pO₂, i BE i drugom satu života (tabela 8) dobijene su visoko statistički značajne razlike između grupa (p<0,01). Nađeno je odsustvo statistički značajne razlike HCO₃ u drugom satu života, uz niže koncentracije u grupi novorođenčadi sa hipoksijom. Metabolička acidoza je sistemski poremećaj uzrokovan smanjenjem pH (odnosno povećanjem H⁺ jona) zbog primarnog smanjenja HCO₃ u plazmi. Kao posledica acidemije, medularni hemoreceptori su

stimulisani i izazivaju hiperventilaciju. Kao rezultat hiperventilacije smanjuje se $p\text{CO}_2$, pa se HCO_3 , pH i BE vraćaju na normalne vrednosti (30, 153).

Novorođenčad sa perinatalnom asfiksijom su pod velikim rizikom da razviju akutnu bubrežnu insuficijenciju (ABI), koja se definiše kao nagli pad u funkciji bubrega što dovodi do poremećaja u balansu tečnosti i elektrolita (154). Prerenalni (funkcionalni ili fiziološki) oblik bolesti nastaje kao posledica renalne hipoperfuzije (smanjenja količine krvi koja dolazi u bubreg). Renalni (parenhimski) oblik bolesti nastaje kao posledica nefropatije (poremećaja u samom bubregu), a najčešće usled akutne tubulske nekroze koja je izazvana ishemijom (155).

U prerenalnoj fazi sposobnost tubula da očuva reapsorpciju natrijuma je očuvana. Kao odgovor na hipovolemiju tubuli maksimalno reapsorbuju natrijum iz glomerularnog filtrata, uslovljavajući nisku ekskreciju natrijuma, dok je kod akutne tubulske nekroze frakciona renalna ekskrecija natrijuma povećana izlučivanjem natrijuma urinom. Težina oštećenja bubrežne funkcije korelira sa stepenom asfiksije. Oligurija, hiponatremija su loši prognostički znaci kod bubrežne insuficijencije (156).

Niže koncentracije natrijuma u prvom satu (tabela 9) i drugom danu života (tabela 12 i grafikon 2) se mogu objasniti radovima (Aperia i sar.,2016; Nyblom M i sar.,2013), koji su dokazali da je akumulacija natrijuma u ćeliji tokom ishemije neposredan uzrok intracelularnog nagomilavanja vode. Kao zamena za kalijum, Na^+ ulazi u ćeliju, što dovodi do intracelularnog edema. Povećava se permeabilnost ćelijske membrane kapilara pa dolazi do nagomilavanja tečnosti u intersticijumu (157,158).

Stimulus za lučenje atrijalnog natrijuretskog peptida (ANP) je rastezanje zidova srčanih pretkomora, usled hipervolemije. Poluživot ANP je oko 3 minuta. Neutralne peptidaze iz brojnih organa razlažu ANP, a postoji i veliki broj klirens receptora koji ga vežu i tako inaktivišu. Dejstvo ANP je direktno smanjenje reapsorpcije natrijuma na nivou medularnog dela sabirnih kanala bubrega, gde

deluje natriuretski. Osim toga deluje antagonistički dejstvu aldosterona. Odsustvo statistički značajne razlike u drugom satu života, uz niže koncentracije natrijuma u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji se mogu objasniti natriuretskim dejstvom atrijalnog natrijuretskog hormona kao i prolaznim poremećajem bubrežne funkcije praćene povećanim gubitkom natrijuma urinom (159). Najveći broj novorođenčadi posle asfiksije ima prolaznu vrstu poremećaja bubrežne funkcije, a mali broj doživi pravu bubrežnu insuficijenciju (160).

Shimoda i sar., 2011. navode u svom istraživanju da hipoksija sprečava protok kalijuma kroz ćelijsku membranu redukujući njegov neto fluks, a takodje menja funkciju nekoliko tipova K^+ kanala naročito u nervnim ćelijama (161).

Hiperkalemija je značajna zbog uticaja na ekscitabilnost parasimpatičkog nervnog sistema i nastanka bradikardije ploda. Posle akutne hipoksije inhibicija K^+ kanala je signal koji pokreće ćelijsku depolarizaciju, oslobađanje transmitera i stimulaciju respiratornog centra u moždanom stablu dovodeći do hiperventilacije. Reaktivna kiseonična jedinjenja (ROS) i nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADP) se nagomilavaju u mitohondrijama i tokom hipoksije menjaju K^+ kanale (162). Elektrofiziološke studije sprovedene u ćelijama karotidnog tela (glomus) pokazale su da hipoksija izaziva značajno, reverzibilno smanjenje aktivnosti K^+ kanala (163).

Hipoksija može oštetiti bubrežne funkcije, a hiperkalemija je najteži elektrolitski poremećaj u akutnoj bubrežnoj insuficijenciji nastaloj usled hipoksije i acidoze koja otežava ulazak kalijuma u tubulske ćelije (164).

Više koncentracije K^+ u prvom satu života (tabela 10) i drugom danu života (tabela 13, grafikon 3) se mogu objasniti smanjenjem glomerulske filtracije i oligurije koje ograničavaju izlučivanje kalijuma urinom (165).

Aldosteron ima važnu ulogu u regulaciji volumena i osmolalnosti ekstraćelijske tečnosti na nivou bubrega. Najverovatnije mesto delovanja aldosterona su kortikalni sabirni kanalići bubrega. Glavni stimulans za sekreciju aldosterona je porast koncentracije kalijuma u ekstracelularnoj tečnosti. Izlučeni aldosteron

stimuliše ekskreciju kalijuma stimulišući $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pumpu i vraća nivo plazmatskog kalijuma na referentne vrednosti, što može objasniti više vrednosti vrednosti K^+ u drugom satu života ali bez statistički značajne razlike ($p > 0,05$) (166).

Početno smanjenje fosfata visoke energije pokreće niz dodatnih mehanizama, počevši od otkazivanja pumpe $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ zavisne od ATP-a. Otkazivanje transcelularnih jonskih pumpi dovodi do intracelularne akumulacije Na^+ , Ca^{++} i vode (citotoksični edem), praćen depolarizacijom membrane, prekomernim oslobađanjem eksitatornih transmitera, posebno glutamata, povećanjem citosolnog Ca^{++} , aktivacijom fosfolipaze i stvaranjem slobodnih radikala (167). Na rezultate istraživanja može imati uticaj hemoliza novorođenačkih eritrocita koji imaju nižu osmotsku rezistenciju. Hemolizi osim osmotske rezistencije često doprinosi i neadekvatna tehnika uzimanja krvi sa stiskanjem ekstremiteta.

Kod pada ćelijske energije, kalcijumsko-natrijumaska pumpa zavisna o ATP-u ne može ispumpati sav kalcijum iz ćelije. Rezultat je znatan porast intracelularne koncentracije kalcijuma (168). Mogući mehanizam sniženja koncentracije Ca^{++} je aktivacija lipolitičkog enzima fosfolipaze A_2 , mitohondrijalne membrane, koji zajedno sa lipidnom peroksidacijom dovodi do oštećenja transportnih i energetske sistema, što izaziva insuficijenciju ćelije, poremećaj tubulske funkcije, koja vodi akutnoj bubrežnoj insuficijenciji praćenoj povećanjem kalciurije (169), što se slaže sa nižim vrednostima jon. Ca^{++} u prvom i drugom satu života (tabela 11) iz arterijalizovane kapilarne krvi kao i nižim vrednostima ukupnog serumskog Ca^{++} u drugom danu života (tabela 14, grafikon 4) u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na grupu zdrave novorođenčadi.

Transport Cl^- se odvija preko Cl^- stimulisane ATP-aze. Joni hlora pasivno slede jone natrijuma, a zbog osmotskog gradijenta ulazi voda dovodeći do ćelijskog edema. U uslovima hipoksije dolazi do pada energije fosfata i otkazivanja $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pumpe zavisne od ATP-a (170). Navedenim se mogu objasniti niže vrednosti jona hlora (tabela 15, grafikon 5) u drugom danu života kod novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji.

U našem istraživanju koncentracije ukupnog holesterola u drugom danu života prikazanom na tabeli 16 i grafikonu 6, nađene su niže vrednosti ukupnog holesterola u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji, koje se mogu objasniti radovima (Girotti et al., 2017; Sharpe et al., 2014; Yoshida et al., 2003). U plazmatskoj membrani gde se nalazi većina ćelijskog holesterola, peroksidacija dovodi do strukturnog i funkcionalnog oštećenja membrane. Gvožđem stimulirana peroksidacija holesterola i drugih lipida dovodi do novog oblika regulisane ćelijske smrti nazvane ferroptozom. Holesterol kao i drugi nezasićeni lipidi su podložni peroksidativnoj degradaciji nakon izlaganja jakim antioksidansima kao što su hidroksil radikal ili peroksinitrit nastali u uslovima oksidativnog stresa. Peroksidacijom holesterola dolazi do razlaganja masno-kiselinskih ostataka i oslobađanja malondialdehida i drugih produkata, ali i lizolecitina koji je hemotoksički agens za monocite i T- limfocite. Monociti "uzimaju" lipoproteine i postupno se pretvaraju u penaste ćelije. Dolazi do aktivacije komplementa i inflamacijske reakcije na intimi krvnog suda (171,172,146).

U zavisnosti od vrste i količine lipida, odnosno vrste i količine apolipoproteina zavisi sklonost lipoproteina ka lipidnoj peroksidaciji. Lipoproteini niske gustine (LDL) sadrže isključivo Apo B-100 i najčešće su oksidisani lipidi. Ova osetljivost ka oksidaciji može se pripisati osobinama membrane i spoljne površine jezgra, gde se nalaze dva lipidna omotača. Ćelijska membrana je najpodložnija peroksidaciji kao posledica visokog sadržaja nezasićenih masnih kiselina, dovodeći do niže koncentracije LDL holesterola u drugom danu života (tabela 17 i grafikon 7) (173).

Lipoproteini velike gustine (HDL), u svom sastavu imaju najveći procenat Apo A-I, koji omogućava esterifikaciju slobodnog holesterola na površini čestice. U nešto manjem procentu je zastupljen Apo A - II. Lipidna peroksidacija zahvata lipide, holesterol i apolipoproteine HDL čestice, smanjujući koncentraciju HDL holesterola u plazmi drugog dana života (tabela 18, grafikon 8). U eksperimentima na životinjama dokazano je da oksidovane HDL čestice imaju zaštitni efekat na vaskularni zid i ćelije koje su podložne procesima lipidne peroksidacije (174).

Trigliceridi su estri glicerola i masnih kiselina koji ulaze u sastav lipidnog dela lipoproteinskih čestica. Tokom hipoksije dolazi do lipidne oksidacije lipoproteinskih čestica, razlaganja masnih kiselina, stvaranja sfingozin-1-fosfata, Ca^{++} posredovanoj apoptozi, koja deluju hemotaksično na makrofage koji dovode do fagocitoze ćelija ili ćelijskih fragmenata (175,176).

Snižene koncentracije triglicerida u plazmi drugog dana života (tabela 19, grafikon 9) nastaju kao rezultat dejstva lecitin holesterol-aciltransferaze koja u uslovima intraportalne acidoze dovodi do oksidacije masnih kiselina triglicerida masnog tkiva (177).

Svi mogući pobrojani mehanizmi treba da budu dokazani odgovarajućim naučnim studijama u novorođenačkoj populaciji sa i bez perinatalne hipoksije.

6. ZAKLJUČCI

1. U grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji utvrđene su niže koncentracije Na^+ prvom i drugom satu života u arterijalizovanoj kapilarnoj krvi u odnosu na normoksemičnu novorođenčad.
2. Koncentracije K^+ su bile više u prvom i drugom satu života u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji, iz arterijalizovane kapilarne krvi u odnosu na normoksemičnu novorođenčad.
3. Koncentracije jonizovanog Ca^{++} su bile niže u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u prvom i drugom satu života iz arterijalizovane kapilarne krvi u odnosu na normoksemičnu novorođenčad.
4. U grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji nađene su niže koncentracije Na^+ u plazmi u drugom danu života u odnosu na normoksemičnu novorođenčad.
5. Srednje koncentracije K^+ su bile više u plazmi u drugom danu života novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na normoksemičnu novorođenčad.
6. Novorođenčad sa hipoksijom na oksigenoterapiji imala su niže koncentracije ukupnog Ca^{++} u drugom danu života u plazmi u odnosu na normoksemičnu novorođenčad.
7. Srednje koncentracije Cl^- su bile niže u drugom danu života u plazmi kod novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na normoksemičnu novorođenčad.
8. Srednje koncentracije ukupnog holesterola u plazmi drugog dana života su niže u grupi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u odnosu na normoksemičnu novorođenčad.

9. Kod novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u drugom danu života su niže koncentracije lipoproteina niske gustine (LDL) u plazmi u odnosu na normoksemičnu novorođenčad.

10. Koncentracije lipoproteina visoke gustine (HDL) u plazmi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u drugom danu života su niže u odnosu na normoksemičnu novorođenčad.

11. Koncentracije triglicerida u plazmi novorođenčadi sa hipoksijom na oksigenoterapiji u drugom danu života su niže u odnosu na normoksemičnu novorođenčad.

12. Statistički značajno odstupanje koncentracije elektrolita i lipida kod novorođenčadi sa hipoksijom otvara mogućnost upotrebe novih markera perinatalne asfiksije.

7. LITERATURA

1. Kleman NW, Sun D, Cengiz P. Mechanisms Underlying Neonatal Hypoxia Ischemia. *The Open Drug Discovery Journal*. 2010;2:129-137.
2. Banasiak KJ, Xia Y, Haddad GG. Mechanisms underlying hypoxia-induced neuronal apoptosis. *Prog Neurobiol*. 2000;62:215-49.
3. Lai MC, Yang SN. Perinatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:609813.
4. Kraut JA, Madias NE. Lactic acidosis. *N Engl J Med*. 2015;372:1078-9.
5. van Hall G, Strømstad M, Rasmussen P, Jans O, Zaar M, Gam C, Quistorff B, Secher NH, Nielsen HB. Blood lactate is an important energy source for the human brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2009 ;29:1121-9.
6. Pellerin L, Magistretti PJ. Sweet sixteen for ANLS. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2012 ;32:1152-66.
7. Park YM, Febbraio M, Silverstein RL. CD36 modulates migration of mouse and human macrophages in response to oxidized LDL and may contribute to macrophage trapping in the arterial intima. *J Clin Invest* 2009; 119:136-45.
8. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;338:668-76.
9. Saher G, Brügger B, Lappe-Siefke C, Möbius W, Tozawa R, Wehr MC, Wieland F, Ishibashi S, Nave KA. High cholesterol level is essential for myelin membrane growth. *Nat Neurosci*. 2005;8:468-75.
10. Li C, Miao JK, Xu Y, Hua YY, Ma Q, Zhou LL, Liu HJ, Chen QX. Prenatal, perinatal and neonatal risk factors for perinatal arterial ischaemic stroke: a systematic review and meta-analysis *Eur J Neurol*. 2017 ;24:1006-1015.
11. Carter BS, Haverkamp AD, Merenstein GB. The definition of acute perinatal asphyxia. *Clin Perinatol*. 1993;20:287-303.
12. González de Dios J. [Definition of perinatal asphyxia in medical literature: the need of a consensus]. *Rev Neurol*. 2002 ;35:628-34.
13. Hill A, Volpe JJ. Perinatal Asphyxia: Clinical Aspects. *Clin Perinatol*. 1989;16:435-454.

14. Simon NP. Long-term neurodevelopmental outcome of asphyxiated newborns. *Clin Perinatol.* 1999 ;26:767-78.
15. Golubnitschaja O, Yeghiazaryan K, Cebioglu M, Morelli M, Herrera-Marschitz M. Birth asphyxia as the major complication in newborns: moving towards improved individual outcomes by prediction, targeted prevention and tailored medical care. *EPMA J.* 2011 ;2:197-210.
16. González de Dios J, Moya M, Vioque J [Risk factors predictive of neurological sequelae in term newborn infants with perinatal asphyxia]. *Rev Neurol.* 2001 ;32:210-6.
17. Ferriero, D.M. Neonatal brain injury. *N. Engl. J. Med.*, 2004, 351, 1985-1995.
18. Kurinczuk JJ, White-Koning M, Badawi N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev.* 2010;86:329-38.
19. Fahey J, King TL Intrauterine asphyxia: clinical implications for providers of intrapartum care. *J Midwifery Womens Health.* 2005 ;50:498-506.
20. Marcelino TB, de Lemos Rodrigues PI, Miguel PM, Netto CA, Pereira Silva LO, Matté C. Effect of maternal exercise on biochemical parameters in rats submitted to neonatal hypoxia-ischemia. *Brain Res.* 2015 ;1622:91-101.
21. Sakornbut E, Leeman L, Fontaine P. Late pregnancy bleeding. *Am Fam Physician.* 2007;75:1199–206.
22. Bruckmann EK, Velaphi S. Intrapartum asphyxia and hypoxic ischaemic encephalopathy in a public hospital: Incidence and predictors of poor outcome. *S Afr Med J.* 2015 ;105:298-303.
23. Torres-Muñoz J, Rojas C, Mendoza-Urbano D, Marín-Cuero D, Orobio S, Echandía C. [Risk factors associated with the development of perinatal asphyxia in neonates at the Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia, 2010-2011]. *Biomedica.* 2017 ;37:51-56.
24. Low JA. Determining the contribution of asphyxia to brain damage in the neonate. *J Obstet Gynaecol Res.* 2004 ;30:276-86.
25. Manning FA. Antepartum fetal testing: a critical appraisal. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2009 ;21:348-52.

26. Manning FA. Fetalbiophysicalprofile: a critical appraisal. Clin Obstet Gynecol. 2002 ;45:975-85
27. Hankins GD, Koen S, Gei AF, Lopez SM, Van Hook JW, Anderson GD. Neonatal organ system injury in acute birth asphyxia sufficient to result in neonatal encephalopathy.Obstet Gynecol.2002 ;99:688-91.
28. Gill MB, Perez-Polo JR. Hypoxia ischemia-mediated cell death in neonatal rat brain.Neurochem Res.2008 ;33:2379-89.
29. Vannucci RC, Vannucci SJ. Perinatalhypoxic-ischemicbrain damage: evolution of an animal model. Dev Neurosci. 2005 ;27:81-6.
30. Ahearne CE, Boylan GB, Murray DM .Short and long term prognosis in perinatal asphyxia: An update.World J Clin Pediatr.2016 ;5:67-74.
31. Jensen A, Garnier Y, Berger R.Dynamics of fetal circulatory responses to hypoxia and asphyxia. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1999;84:155-72.
32. APGAR V. A proposal for a newmethod of evaluation of the newborn infant. Curr Res Anesth Analg. 1953 ;32:260-7.
33. Finster M, Wood M. The Apgar score has survived the test of time. Anesthesiology. 2005;102:855-7.
34. Vento M, Asensi M,Sastre J,Garcia-Sala F, Pallardo FV,Vina J.Resuscitation with room air instead of oxygen prevent so xidative stress in moderately asphyxiated term newborns Pediatrics2001;107:642-7.
35. Vento M, Saugstad OD. Resuscitation of the term and preterm infant.Semin Fetal Neonatal Med. 2010;15:216-22.
36. Fattuoni C, Palmas F, Noto A, Fanos V, Barberini L. Perinatal asphyxia: a review from a metabolomics perspective. Molecules. 2015 ;20:7000-16.
37. Shah P, Riphagen S, Beyene J, Perlman M. Multiorgan dysfunction in infants with post-asphyxial hypoxic-ischemic encephalopathy. Arch Dis Child Fetal and Neonatal. 2004; 89:152.
38. Berger TM, Pilgrim S. [Resuscitation of newborn infants]. Anaesthesist. 2009 ;58:39-50.

39. Liu JQ, Saugstad OD, Cheung PY. Using 100% oxygen for the resuscitation of term neonates until evidence of spontaneous circulation: more investigations needed. *Resuscitation* 2010; 81: 145-7.
40. Solas AB, Kalous P, Saugstad OD. Reoxygenation with 100% or 21% oxygen after cerebral hypoxemia-ischemia hypercapnia in newborn piglets. *Biol Neonate* 2004; 5: 105-11
41. Lapointe A, Barrington KJ. Pulmonary hypertension and the asphyxiated newborn. *J Pediatr*. 2011;158(2 Suppl):e19-24.
42. Dawson JA, Vento M, Finer NN, Rich W, Saugstad OD, Morley CJ, Davis PG. Managing oxygen therapy during delivery room stabilization of preterm infants. *J Pediatr* 2012; 160: 158-61.
43. Villani P, Di Fabio S, Torielli F, Gizzi C, Martano C. [Introduction to the principles of neonatal resuscitation]. *Minerva Pediatr*. 2010 62(3 Suppl 1):225-6.
44. Biban P, Filipovic-Grcic B, Biarent D, Manzoni P; International Liaison Committee on Resuscitation (ILCOR); European Resuscitation Council (ERC); American Heart Association (AHA); American Academy of Pediatrics (AAP). New cardiopulmonary resuscitation guidelines 2010: managing the newly born in delivery room. *Early Hum Dev*. 2011 ;87 Suppl 1:S9-11.
45. Vannucci RC, Towfighi J, Vannucci SJ. Secondary energy failure after cerebral hypoxia-ischemia in the immature rat. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2004;24:1090-7.
46. Broughton BR, Reutens DC, Sobey CG. Apoptotic mechanisms after cerebral ischemia. *Stroke* 2009; 40: e331-9.
47. Marcelino TB, de Lemos Rodrigues PI, Miguel PM, Netto CA, Pereira Silva LO, Matté C. Effect of maternal exercise on biochemical parameters in rats submitted to neonatal hypoxia-ischemia. *Brain Res*. 2015 ;1622:91-101.
48. Ancarcrona M, Dypbuct JM, Bonfoco F, Zhivotovsky B, Orrenius S, Lipton SA, Nicoter P. Glutamat induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptosis dependong on mitochondrial function. *Neuron*. 1995;15:961-73.

49. Buonocore G, Bracci R, Perrone S, Vento M. Oxygen toxicity. U: Buonocore G, Bracci R, Weindling M: Neonatology A Practical Approach to Neonatal Diseases, Springer-Verlag, Milano, Italy, 2012; 242-9.
50. Mirończuk-Chodakowska I, Witkowska AM, Zujko ME. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body *Adv Med Sci.* 2017 ;63:68-78.
51. Lushchak V.I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem.-Biol. Interact.* 2014;224:164–175.
52. Ye Z.W., Zhang J., Townsend D.M., Tew K.D. Oxidative stress, redox regulation and diseases of cellular differentiation. *Biochim. Biophys. Acta.* 2015;1850:1607–1621.
53. Lefaki M, Chondrogianni N. Redox regulation of proteasome function. *Redox Biol.* 2017 ;13:452-458.
54. Delivoria-Papadopoulos M. Mechanisms of cerebral injury in perinatal asphyxia and strategies for prevention. *J Pediatr.* 1998;132:30-34.
55. Chan PH, Fishman RA. Transient formation of superoxide radicals in polyunsaturated fatty acids-induced brain swelling. *J Neurochem.* 1980;35:1004.
56. Tsukahara H Biomarkers for oxidative stress: clinical application in pediatric medicine. *Curr Med Chem.* 2007;14: 339-51.
57. Saugstad OD, Sejersted Y, Solberg R, Wollen EJ, Bjørås. Oxygenation of the newborn: a molecular approach. *Neonatology* 2012; 101: 315-25.
58. Taher M, Leen WG, Wevers RA, Willemsen MA. Lactate and its many faces. *Eur J Paediatr Neurol.* 2016 ;20:3-10.
59. Bon C, Raudrant D, Golfier F, Poloce F, Champion F, Pichot J, Revol A. [Feto-maternal metabolism in human normal pregnancies: study of 73 cases]. *Ann Biol Clin (Paris).* 2007;65:609-19.
60. Zhang XG, Zhao L, Zhang Y, Li YY, Wang H, Duan GL, Xiao L, Li XR, Chen HP. Extracellular Cl⁻-free-induced cardioprotection against hypoxia/reoxygenation is associated with attenuation of mitochondrial permeability transition pore. *Biomed Pharmacother.* 2017 ;86:637-644.

61. Dong Y, Zhang W, Lai B, Luan WJ, Zhu YH, Zhao BQ, Zheng P. Two free radical pathways mediate chemical hypoxia-induced glutamate release in synaptosomes from the prefrontal cortex. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1823:493-504.
62. Vosler PS, Sun D, Wang S, Gao Y, Kintner DB, Signore AP, Cao G, Chen J. Calcium dysregulation induces apoptosis-inducing factor release: cross-talk between PARP-1- and calpain-signaling pathways. *Exp Neurol*. 2009;218:213-20.
63. Liang X, Samways DS, Wolf K, Bowles EA, Richards JP, Bruno J, Dutertre S, DiPaolo RJ, Egan TM. Quantifying Ca²⁺ current and permeability in ATP-gated P2X7 receptors. *J Biol Chem*. 2015;290:7930-42.
64. Duan Y, Gross RA, Sheu SS. Ca²⁺-dependent generation of mitochondrial reactive oxygen species serves as a signal for poly(ADP-ribose) polymerase-1 activation during glutamate excitotoxicity. *J Physiol*. 2007;585:741-758.
65. Marcelino TB, de Lemos Rodrigues PI, Miguel PM, Netto CA, Pereira Silva LO, Matté C. Effect of maternal exercise on biochemical parameters in rats submitted to neonatal hypoxia-ischemia. *Brain Res*. 2015 ;1622:91-101.
66. Szczapa-Krenz H, Gadzinowski J, Szymankiewicz M, Breborowicz GH, Hermann T. [Clinical value of hypoxanthine concentration assays in diagnosis of hypoxia in newborns]. *Przegl Lek*. 2002;59 Suppl 1:73-7.
67. Farber JL. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Environ Health Perspect*. 1994 ;102 Suppl 10:17-24.
68. Harned J, Nagar S, McGahan MC. Hypoxia controls iron metabolism and glutamate secretion in retinal pigmented epithelial cells. *Biochim Biophys Acta* 2014 ;1840:3138-44
69. Xu KY, Li F. [Iron metabolism and neonatal hypoxic ischemic brain damage]. *Sheng Li Xue Bao*. 2017 ;69:218-224
70. Mihajlović Lj, Mihajlović N, Petrović A, Pavlović R. Molekularni mehanizam ćelijskih oštećenja pri akutnoj hipoksiji. *Acta medica Medianae* 2002; 41: 51-61.
71. Rothman SM, Olney JW. Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage. *Ann Neurol*. 1986 ;19:105-11.
72. Mayer ML. The Challenge of Interpreting Glutamate-Receptor Ion-Channel Structures. *Biophys J*. 2017 ;113:2143-2151.

73. Rousseaux CG. A review of Glutamate receptors II: Pathophysiology and pathology. *J Toxicol Pathol.* 2008; 21: 133-173.
74. Scorrano L, Oakes SA, Opferman JT, Cheng EH, Sorcinelli MD, Pozzan T, Korsmeyer SJ. BAX and BAK regulation of endoplasmic reticulum Ca²⁺: a control point for apoptosis. *Science.* 2003 ;300:135-9.
75. Rousset CI, Baburamani AA, Thornton C, Hagberg H. Mitochondria and perinatal brain injury. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012 ;25 Suppl 1:35-8.
76. Graham SH, Chen J. Programmed cell death in cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2001;21:99–109.
77. Thornton C, Hagberg H. Role of mitochondria in apoptotic and necroptotic cell death in the developing brain. *Clin Chim Acta.* 2015 ;451(Pt A):35-8.
78. Lockshin RA, Zakeri Z. Caspase-independent cell deaths. *Curr Opin Cell Biol.* 2002;14:727–733.
79. Abe K, Aoki M, Kawagoe J, Yosida T, Hattori A, Kogure K, Itoyama Y. Ischemic delayed neuronal death, a mitochondrial hypothesis. *Stroke.* 1995;26:1478-89.
80. Torres-Cuevas I, Parra-Llorca A, Sánchez-Illana A, Nuñez-Ramiro A, Kuligowski J, Cháfer-Pericás C, Cernada M, Escobar J, Vento M. Oxygen and oxidative stress in the perinatal period. *Redox Biol.* 2017 ;12:674-681.
81. Johnston MV. Neurobiology of Hypoxic-Ischemic Injury in the Developing Brain. *Pediatr Res.* 2001;49:735-41.
82. Johnston MV. Selective vulnerability in the neonatal brain. *Ann Neurol.* 1998;44:155-56.
83. Chevalier M, Lory P, Mironneau C, Macrez N, Quignard JF. T-type Ca_v3.3 calcium channels produce spontaneous low-threshold action potentials and intracellular calcium oscillations. *Eur J Neurosci.* 2006 ;23:2321-9.
84. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med.* 1985 ;312 159-63.
85. Martin LJ. The apoptosis-necrosis cell death continuum in CNS development, injury and disease: contributions and mechanisms. In: Lo EH, Marwah J, editors. *Neuroprotection.* Prominent Press; Boston: 2002. pp. 379–412.

86. Fellman V, Raivo KO. Reperfusion Injury as the Mechanism of Brain Damage after Perinatal Asphyxia. *Pediatr Res.* 1997;41:599-606.
87. Farber JL, Chien KR, Mittnacht S. The Pathogenesis of Irreversible Cell Injury in Ischemia. *Am J Pathol.* 1981;271-81.
88. Timovska SN, Cekovska S, Tosheska-Trajkovska K. Acute Kidney Injury in Newborns. *Pril (Makedon Akad Nauk Umet Odd Med Nauki).* 2015;36:83-9.
89. Karlo J, Vishnu Bhat B, Koner BC, Adhisivam B. Evaluation of Renal Function in Term Babies with Perinatal Asphyxia. *Indian J Pediatr.* 2014;81:243-7.
90. Hankins GD, Koen S, Gei AF, Lopez SM, Van Hook JW, Anderson GD. Neonatal organ system injury in acute birth asphyxia sufficient to result in neonatal encephalopathy. *Obstet Gynecol.* 2002 ;99 :688-91.
91. Shah P, Riphagen S, Beyene J, Perlman M. Multiorgan dysfunction in infants with post-asphyxial hypoxic-ischemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal and Neonatal.* 2004; 89:152.
92. Jose A, Matthai J, Paul S. Correlation of EEG, CT, and MRI Brain with Neurological Outcome at 12 Months in Term Newborns with Hypoxic Ischemic Encephalopathy. *J Clin Neonatol.* 2013;2:125-30.
93. McAllister JP, Guerra MM, Ruiz LC, Jimenez AJ, Dominguez-Pinos D, Sival D, den Dunnen W, Morales DM, Schmidt RE, Rodriguez EM, Limbrick DD. Ventricular Zone Disruption in Human Neonates With Intraventricular Hemorrhage. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2017;76:358-375.
94. Volpe JJ.: Hypoxic-ischemic encephalopathy, In: *Neurology of the Newborn.* WB Saunders company, Philadelphia, London, Toronto, 1995, 211-369.
95. Pasternak F.J.: Hypoxic-ischemic brain damage in the term infant. *Pediatr. Clin North Am.* 1993;40:1061-83.
96. Vanucci RC.: Hypoxia-ischaemia; Clinical aspects. In: Phanaroff AA., Martin RJ.: *Neonatal-Perinatal medicine.* St. Louis, 2000;867-79.
97. Hatherill M, McIntyre AG, Wattie M, Mudoch A. Early hyperlactonaemia in critically children. *Intensive Care Med* 2000; 26:314-318.
98. Saugstad S.D.: Hypoxanthine as an indicator of hypoxia. Its role in health and disease through free radical production. *Pediatr. Res.* 1988; 23:143-150

99. Hill A.: Current concepts of hypoxic-ishaemic cerebral injury in the term newborns. *Pediatr. Neurol.* 1991; 5: 317-25.
100. Chicwick L.M.: Hypoxic-ishaemic encephalopathy of the newborn. *Inter child health.* 1994; 5: 69-75.
101. Sarnat B.H., Sarnat S.M.: Neonatal encephalopathy following fetal distress. *Arch. Neurol.* 1976;33:696-701.
102. Alvarez-Díaz A, Hilario E, de Cerio FG, Valls-i-Soler A, Alvarez-Díaz FJ. Hypoxic-ischemic injury in the immature brain--key vascular and cellular players. *Neonatology.* 2007;92:227-35.
103. Rainaldi MA, Perlman JM. Pathophysiology of Birth Asphyxia. *Clin Perinatol.* 2016;43:409-22
104. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, Clinical Manifestations and prevention of Ischemia-Reperfusion Injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-8.
105. Yuan J, Lipinski M, Degtarev A. Diversity in the mechanisms of neuronal cell death. *Neuron.* 2003;40:401-413.
106. Lockshin RA, Zakeri Z. Caspase-independent cell deaths. *Curr Opin Cell Biol.* 2002;14:727-733.
107. Wang X, Karlsson JO, Zhu C, Bahr BA, Hagberg H, Blomgren K. Caspase-3 activation after neonatal rat cerebral hypoxia-ischemia. *Biol Neonate.* 2001;79:172-179.
108. Orrenius S, Zhivotovsky B, Nicotera P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4:552-565.
109. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, Clinical Manifestations and prevention of Ischemia-Reperfusion Injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-8.
110. Guan T, Song J, Wang Y, Guo L, Yuan L, Zhao Y, Gao Y, Lin L, Wang Y, Wei J. Expression and characterization of recombinant bifunctional enzymes with glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities. *Free Radic Biol Med.* 2017 ;110:188-195.
111. Dong Y, Zhang W, Lai B, Luan WJ, Zhu YH, Zhao BQ, Zheng P. Two free radical pathways mediate chemical hypoxia-induced glutamate release in synaptosomes from the prefrontal cortex. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1823:493-504.

112. Zhu C, Qiu L, Wang X, et al. Involvement of apoptosis-inducing factor in neuronal death after hypoxia-ischemia in the neonatal rat brain. *J Neurochem.* 2003;86:306–317.
113. Dawson TM, Dawson VL Mitochondrial Mechanisms of Neuronal Cell Death: Potential Therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2017 ;57:437-454.
114. Lepšanović L, Lepšanović Lj. *Klinička lipidologija, Savremena administracija, Beograd 2000; str. 9-28.*
115. Debuch H. Lipido –compozition of lipoproteins. *Ann Biol Clin* 1973;31:65-7.
116. Lepšanović Lj. Masne kiseline u krvi i značaj njihovog određivanja u humanoј medicini. *Med Pregl* 1981;34:71-81.
117. Lyudinina AY, Bojko ER. [Functional role of monounsaturated fatty acids in the human]. *Usp Fiziol Nauk.* 2013 ;44:51-64.
118. Grundy SM. Influence of stearic acid on cholesterol metabolism relative to other long-chain fatty acids. *Am J Clin Nutr.* 1994 ;60:986S-990S.
119. Olsson AG, Walldius G, Rössner S, Callmer E, Kaijser L Studies on serum lipoproteins and lipid metabolism. Analysis of a random sample of 40 year old men. *Acta Med Scand.* 1980;637:1-47.
120. Lepšanović Lj. Značaj određivanja apolipoproteina u dijagnostici poremećaja metabolizma lipoproteina. *Med Pregl* 1990;43:61-8.
121. Li WH, Tanimura M, Luo CC, Datta S, Chan L. The apolipoprotein multigene family: biosynthesis, structure, structure-function relationships, and evolution. *J Lipid Res.* 1988 ;29:245-71.
122. Rader DJ, Schaefer JR, Lohse P, Ikewaki K, Thomas F, Harris WA, Zech LA, Dujovne CA, Brewer HB Jr. Increased production of apolipoprotein A-I associated with elevated plasma levels of high-density lipoproteins, apolipoprotein A-I, and lipoprotein A-I in a patient with familial hyperalphalipoproteinemia. *Metabolism.* 1993;42:1429-34
123. Välimäki M, Taskinen MR, Ylikahri R, Roine R, Kuusi T, Nikkilä EA. Comparison of the effects of two different doses of alcohol on serum lipoproteins A-I and A-II: a controlled study. *Eur J Clin Invest* 1988;18:472-80.

124. Myant NB. Cholesterol Metabolism, LDL, and the LDL Receptor, Academic Press, Inc, San Diego-New York- Boston-London.1990;124-129.
125. Sniderman AD, Cianfore K. Measurement of apolipoproteins time to improve the diagnosis and treatment of the atherogenic dyslipoproteinemias. Clin Chem 1996;42:489-91.
126. Baggio G, Monrato E, Gobelli C. et al. Apolipoprotein C-II deficiency syndrome. Clinical features, lipoprotein characterization, lipase activity and correction at hypertriglyceridemia after apolipoprotein C-II administration in two patients. J Clin Invest 1986;77:520-7.
127. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. Science. 1988 ;240:622-30.
128. Yu T, Kui LQ, Ming QZ. Effect of asphyxia on non-protein-bound iron and lipid peroxidation in newborn infants. Dev Med Child Neurol 2003;45:24-7.
129. Arai H. Oxidative modification of lipoproteins. Subcell Biochem 2014;77:103-14.
130. Matsuura E, Lopez LR. Are Oxidized LDL/ β 2-glycoprotein 1 Complexes Pathogenic Antigens in Autoimmune-mediated Atherosclerosis? Clin Dev Immunol 2004; 11:103-11.
131. Leren TP. Sorting an LDL receptor with bound PCSK9 to intracellular degradation. Atherosclerosis 2014;237:76-81.
132. Park YM, Febbraio M, Silverstein RL. CD36 modulates migration of mouse and human macrophages in response to oxidized LDL and may contribute to macrophage trapping in the arterial intima. J Clin Invest 2009; 119:136-45.
133. Vlassaks E, Nikiforou M, Strackx E, Hütten M, Bekers O, Gazzolo D, Li Volti G, Martinez-Martinez P, Kramer BW, Gavilanes AW. Acute and chronic immunomodulatory changes in rat liver after fetal and perinatal asphyxia. J Dev Orig Health Dis 2014;5:98-108.
134. Gleissner CA, Leitinger N, Ley K. Effects of native and modified low-density lipoproteins on monocyte recruitment in atherosclerosis. Hypertension 2007;50:276-83.

135. Lankin VZ, Tikhaze AK, Kapel'ko VI, Shepel'kova GS, Shumaev KB, Panasenko OM, Konovalova GG, Belenkov YN. Mechanisms of oxidative modification of low density lipoproteins under conditions of oxidative and carbonyl stress *Biochemistry* 2007; 72:1081-1090.
136. Chen B, Meng L, Shen T, Gong H, Qi R, Zhao Y, Sun J, Bao L, Zhao G. Thioredoxin attenuates oxidized low-density lipoprotein induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells by reducing NADPH oxidase activity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017 ;490:1326-1333.
137. Mertens A, Holvoet P. Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. *The FASEB Journal* 2001; 15:2073-2084.
138. León-Pedroza JI, González-Tapia LA, del Olmo-Gil E, Castellanos-Rodríguez D, Escobedo G, González-Chávez A. [Low-grade systemic inflammation and the development of metabolic diseases: from the molecular evidence to the clinical practice]. *Cir Cir.* 2015 ;83:543-51.
139. Bujo H, Saito Y. Modulation of smooth muscle cell migration by members of the low-density lipoprotein receptor family. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26:1246-1252.
140. Stoll G, Bendszus M. Inflammation and Atherosclerosis Novel Insights Into Plaque Formation and Destabilization. *Stroke* 2006; 37:1923.
141. Kobayashi S, Faber N, Ohashi Y, Terashima M, Matsui K, Mori T, Fujita H, Awano K, et al. Interaction of Oxidative Stress and Inflammatory Response in Coronary Plaque Instability. Important Role of C-reactive Protein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:1398.
142. Galle J, Hansen-Hagge T, Wanner C, Seibold S. Impact of oxidized low density lipoprotein on vascular cells. *Atherosclerosis* 2006; 185:219-226.
143. Diczfalusy U. Analysis of cholesterol oxidation products in biological samples. *J AOAC Int.* 2004 ;87:467-73.
144. Esterbauer H, Dieber-Rotheneder M, Waeg G, Striegl G, Jürgens G. Biochemical, structural, and functional properties of oxidized low-density lipoprotein. *Chem Res Toxicol.* 1990;3:77-92.

145. Ramy N, Al Sharany W, Mohamed MA, Madani H, Saleh E, Aly H. Lipid peroxides in the serum of asphyxiated neonates. *J Perinatol*. 2016 ; 36:849-52.
146. Yoshida Y, Ito N, Shimakawa S, Niki E. Susceptibility of plasma lipids to peroxidation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003 ;305:747-53.
147. Ferriero, D.M. Neonatal brain injury. *N. Engl. J. Med.*, 2004, 351, 1985-1995.
148. Dzakpasu S, Joseph KS, Huang L, Allen A, Sauve R, Young D; Fetal and Infant Health Study Group of the Canadian Perinatal Surveillance System. Decreasing diagnoses of birth asphyxia in Canada: fact or artifact. *Pediatrics*. 2009 ;123:e668-72.
149. Thornberg E, Thiringer K, Odeback A, Milsom I. Birth asphyxia: incidence, clinical course and outcome in Swedish population. *Acta Paediatr*. 1995;84:127-32.
150. Ergander U, Eriksson M, Zetterström R. Severe neonatal asphyxia. Incidence and prediction of outcome in the Stockholm area. *Acta Paediatr Scand*. 1983 ;72:321-5.
151. Oswyn G, Vince JD, Friesen H. Perinatal asphyxia at Port Moresby general Hospital: a study of incidence, risk factors and outcome. *PNG Med J*. 2000;43:110-20.
152. Chabernaud JL, Gicquel C, Ammar F, Jourdain G, Quentin P, Castel C, Boithias C, Dehan M. [Air or oxygen for neonatal resuscitation in the delivery room?]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2005 ;34(1 Suppl):S25-32.
153. Gordana Đorđević – Denić . *Specijalna patološka fiziologija .Zavod za udžbenike i nastavna sredstva , Beograd, 2003; str. 258-259.*
154. Jetton JG, Askenazi DJ. Acute kidney injury in the neonate. *Clin Perinatol*. 2014;41:487–502.
155. Aggarwal A, Kumar P, Chowdhary G, Majumdar S, Narang A. Evaluation of renal functions in asphyxiated newborns. *J Trop Pediatr*. 2005 ;51:295-9.
156. Gupta BD, Sharma P, Bagla J, Parakh M, Soni JP. Renal failure in asphyxiated neonates. *Indian Pediatr*. 2005;42:928–934.
157. Aperia A, Akkuratov EE, Fontana JM, Brismar H. Na⁺-K⁺-ATPase, a new class of plasma membrane receptors. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2016 ;310:C491-5.

158. Nyblom M, Poulsen H, Gourdon P, Reinhard L, Andersson M, Lindahl E, Fedosova N, Nissen P. Crystal structure of Na⁺, K⁽⁺⁾-ATPase in the Na⁽⁺⁾-bound state. *Science*. 2013 ;342:123-7.
159. Sward K, Valson F, Ricksten SE. Long-term infusion of atrial natriuretic peptide (ANP) improves renal blood flow and glomerular filtration rate in clinical acute renal failure. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2001;45:536–542.
160. Selewski DT, Charlton JR, Jetton JG, Guillet R, Mhanna MJ, Askenazi DJ, Kent AL. Neonatal Acute Kidney Injury. *Pediatrics*. 2015 ;136:e463-73
161. Shimoda L.A., Polak J. Hypoxia. 4. Hypoxia and ion channel function Hypoxia and ion channel function. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2011;300:C951–C967
162. Gao L, González-Rodríguez P, Ortega-Sáenz P, López-Barneo J. Redox signaling in acute oxygen sensing. *Redox Biol*. 2017 ;12:908-915.
163. Lopez-Barneo J, Lopez-Lopez JR, Urena J, Gonzalez C. Chemotransduction in the carotid body: K⁺ current modulated by PO₂ in type I chemoreceptor cells. *Science* 1988;241: 580–2
164. Kaur S, Jain S, Saha A, Chawla D, Parmar VR, Basu S, Kaur J. Evaluation of glomerular and tubular renal function in neonates with birth asphyxia. *Ann Trop Paediatr*. 2011;31:129-34.
165. Crawford AH. Hyperkalemia: recognition and management of a critical electrolyte disturbance. *J. Infus Nurs*. 2014;37:167-75.
166. Stepanović R. Voda i elektroliti u pedijatriji. *Savremena administracija* , Beograd, III dopunjeno izdanje, 1995;str. 86-88.
167. McQuillen PS, Ferriero DM. Selective vulnerability in the developing central nervous system. *Pediatr Neurol*. 2004 ;30:227-35.
168. Chevalier M, Lory P, Mironneau C, Macrez N, Quignard JF. T-type Ca_v3.3 calcium channels produce spontaneous low-threshold action potentials and intracellular calcium oscillations. *Eur J Neurosci*. 2006 ;23:2321-9.
169. Lytton J. Na⁺/Ca²⁺ exchangers: three mammalian gene families control Ca²⁺ transport. *Biochem J*. 2007 ;406:365-82.
170. Gerencser GA, Purushotham KR. Reconstituted Cl⁻ pump protein: a novel ion (Cl⁻)-motive ATPase. *J Bioenerg Biomembr*. 1996 ;28:459-69.

171. Girotti AW, Korytowski W. Cholesterol Hydroperoxide Generation, Translocation, and Reductive Turnover in Biological Systems *Cell Biochem Biophys*. 2017 Apr 22. doi: 10.1007/s12013-017-0799-0. [Epub ahead of print]
172. Sharpe LJ, Cook EC, Zelcer N, Brown AJ. The UPS and downs of cholesterol homeostasis. *Trends Biochem Sci* 2014;39:527-35.
173. Itabe H. Oxidized Low-density Lipoproteins: What Is Understood and What Remains to Be Clarified. *Biol Pharm Bull* 2003; 26:1-9.
174. Wu J, He Z, Gao X, Wu F, Ding R, Ren Y, Jiang Q, Fan M, Liang C, Wu Z. Oxidized high-density lipoprotein impairs endothelial progenitor cells' function by activation of CD36-MAPK-TSP-1 pathways) *Antioxid Redox Signal*. 2015 ;22:308-24
175. Biermann M, Maueröder C, Brauner JM, Chaurio R, Janko C, Herrmann M, Muñoz LE. Surface code--biophysical signals for apoptotic cell clearance. *Phys Biol*. 2013 ;10:065007
176. Hinkovska-Galcheva V, VanWay SM, Shanley TP, Kunkel RG. The role of sphingosine-1-phosphate and ceramide-1-phosphate in calcium homeostasis. *Curr Opin Investig Drugs*. 2008 ;9:1192-205.
177. Bayés García R, Quiles Guardia P, Neira Antonio B, Molina Font J. [Effect of perinatal hypoxia on blood triglycerides and total cholesterol including high density lipoproteins]. *An Esp Pediatr*. 1988;29:15-22.

SPISAK SKRAĆENICA

AAP - American Association of Pediatrics

ABS - acidobazni status

ABI - akutna bubrežna insuficijencija

ANP - atrijalni natrijuretski peptid

AS- APGAR SCORE

Apo A-Apolipoprotein A

Apo A-I -Apolipoprotein A-I

Apo A – II-Apolipoprotein A – II

Apo B-Apolipoprotein B

Apo C -apolipoproteina C

Apo E-Apolipoprotein E

ATP-aza- adenzin trifosfataza

ATP- adenzin- trifosfat

ANP- atrijalni natrijuretski peptid

CNS-centralni nervni sistem

DI-ishemijska depolarizacija

DNK- dezoksiribonukleinska kiselina

EEG-elektroencefalografija

GN- gestaciona nedelja

HIE-hipoksično ishemijska encefalopatija

HDL – C (high density lipoprotein cholesterol)- lipoproteini visoke gustine

HI-hipoksično – ishemični insult

HTGL- hepatična trigliceridna lipaza

IDL-intermedijarni lipoproteini

ILCOR – International Liaison Committee on Resuscitation

LCAT- lecitin holesterol-aciltransferaza

LDL – C (low density lipoprotein cholesterol)- lipoproteini niske gustine

LPO- Lipidna peroksidacija

LPL- lipoproteinska lipaza

Lp (a)- lipoprotein a

NADP-nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

OG-obim glave

Oh-LDL -Oksidisani LDL

Oh-LDL-Oksidativno modifikovana LDL čestica

OFR-slobodni kiseonični radikali

PVL- periventrikularna leukomalacija.

PUFA -polinezasićene masne kiseline

ROS-Reaktivna kiseonična jedinjenja

SMK-slobodne masne kiseline

SR-Slobodni radikali

TC- ukupni holesterol

TD-telesna dužina

TG-trigliceridi

TM-telesna masa

VLDL - (Very-Low-Density-Lipoproteins)- lipoproteini vrlo niske gustine

BIOGRAFIJA

Jovandarić dr Miljana je rođena 1963 godine u Kraljevu. Medicinski fakultet u Beogradu je upisala 1983, a diplomirala 1989. Tokom 1995/96- e godine na Institutu za mentalno zdravlje, Beograd, je završila jednogodišnji edukativni seminar - Mentalna higijena razvojnog doba. Specijalizaciju iz pedijatrije upisala 1995 godine , a specijalistički ispit je položila sa odličnom ocenom 1999 –e godine na Univerzitetnoj Dečjoj Klinici u Beogradu. Užu specijalizaciju iz neonatologije je upisala 2000/01 godine, a 2003. godine je odbranila rad uže specijalizacije pod nazivom: “Uporedna analiza novorođene dece majki obolelih od pregestacijskog i gestacijskog dijabetes mellitus-a”.

Magisterijum iz neonatologije je upisala 2002/03 godine, a odbranila magistarsku tezu pod nazivom : “Analiza lipidnog statusa novorođenčadi majki obolelih od gestacijskog diabetes mellitus-a (GDM) ”, 2006 god. Naziv Primarijusa je dobila 2009- godine. Na Medicinskom fakultetu u Kragujevcu 2010- e godine završila dvonedeljni kurs „ Transfontanelarne ehosonografije“ .

Do sada je bila zaposlena u Domu zdravlja Smederevska Palanka u službi za zdravstvenu zaštitu dece i omladine kao i službi za hitnu pomoć, u Službi za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Doma zdravlja „Zvezdara“, i u Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog Centra Srbije- Odeljenje neonatologije. Trenutno je na radnom mestu Načelnika Odeljenja bolesne novorođene dece na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog Centra Srbije od 2010-e godine. Član je Srpskog lekarskog društva i Udruženja pedijatara SLD-a.

Autor je i koautor u 73 stručna rada koji su objavljivani na stručnim skupovima, domaćim i inostranim medicinskim časopisima, 6 objavljenih u časopisima indeksiranim u *CC/SCI* bazi podataka.

Recezent je sledećih časopisa :

OMICS PUBLISHING GROUP/OMICS Journals, Journal Clinical Case Reports, Journal Medical Science, OMICS Group - Biomedical Journals, Journal Cogent Medicine, Journal of Clinical Research & Bioethics

U uredničkom odboru je sledećih časopisa: Maternal and Pediatric Nutrition Journal, Health Economics & Outcome Research, Journal of Mental Disorders and Treatment

Pomoćnik je urednika časopisa : Journal Pediatrics & Neonatal Biology.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Miljana Jovandarić

broj upisa _____

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

„Uticaj hipoksije na koncentracije elektrolita i lipida terminske novorođenčadi“

-
-
- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
 - da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
 - da su rezultati korektno navedeni i
 - da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 01.12.2017

Jovandarić Miljana

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Miljana Jovandarić

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada „Uticaj hipoksije na koncentracije elektrolita i lipida termiske novorođenčadi“

Mentor Prof dr Miloš Ješić

Potpisani Miljana Jovandarić _____

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalna biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 01.12.2017

Jovandarić Miljana

Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozer Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„Uticaj hipoksije na koncentracije elektrolita i lipida termiske novorođenčadi“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licenca Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 01.12.2017

Jovanđanić Ljiljana