

UNIVERZITET U NOVOM SADU

Medicinski fakultet

Doktorske studije



**DIJAGNOSTIČKI I PROGNOŠTIČKI ZNAČAJ  
MARKERA DISFUNKCIJE ENDOTELA I  
POREMEĆAJA MEHANIZMA HEMOSTAZE U SEPSI**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

Mentori: prof. dr Biljana Drašković i prof. dr Snežana Brkić

Kandidat: dr Dunja Mihajlović

Novi Sad, 2015. godina

**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД**

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	dr Dunja Mihajlović
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	prof. dr Biljana Drašković, redovni profesor Medicinskog fakulteta u Novom Sadu prof. dr Snežana Brkić, redovni profesor Medicinskog fakulteta u Novom Sadu
Naslov rada: NR	Dijagnostički i prognostički značaj markera disfunkcije endotela i poremećaja mehanizma hemostaze u sepsi
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2015.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	21000 Novi Sad, Srbija, Hajduk Veljkova 3

Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja 8 / stranica 205 / tabela 32/slika 3/ grafikona 44 / referenci 190/ priloga 4)
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Anesteziologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Sepsa; Multiorganska disfunkcija; Endotelijalne ćelije; Vaskularni endotel; Septički šok; Koagulacija krvi; Hemostaza; Biološki markeri; Analiza preživljavanja; Ishod terapije
UDK	616.94-037 616.94-07
Čuva se: ČU	U biblioteci Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, 21000 Novi Sad, Srbija, Hajduk Veljkova 3
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	<p><b>Uvod:</b> Sepsa je jedan od vodećih uzroka smrtnosti u jedinicama intenzivnog lečenja i van njih uprkos implementaciji novih dijagnostičkih i terapijskih protokola širom sveta. Multiorganska disfunkcija (MODS), koja predstavlja najtežu formu nepovoljnog toka sepse, je u osnovi svojih patofizioloških dešavanja obeležena promenama, koje se dešavaju na nivou kapilara, pre svega u endotelu. Poremećaji koagulacije koji se javljaju kao posledica ovih promena u endotelu su prepoznati kao jedan od dijagnostičkih kriterijuma prema najnovijim smernicama za dijagnostiku i lečenje sepse, međutim njihov značaj u predviđanju toka i ishoda ovog oboljenja još uvek nije precizno definisan.</p> <p><b>Cilj istraživanja:</b> Odrediti koncentraciju markera endotelne aktivacije, aktivacije koagulacije, aktivnost prirodnih inhibitora koagulacije i funkcionalnost fibrinolize kod obolelih od sepse u odnosu na njihove vrednosti u zdravoj populaciji. Ispitati mogućnost upotrebe markera endotelne disfunkcije i pokazatelja poremećaja mehanizma hemostaze za postavljanje dijagnoze sepse i predikciju pojave komplikacija. Ispitati mogućnost upotrebe markera endotelne disfunkcije i pokazatelja poremećaja mehanizma hemostaze za procenu ishoda kod obolelih od sepse.</p> <p><b>Materijal i metode:</b> Istraživanje je sprovedeno analitičkom metodom u formi studije preseka, a obuhvatilo je pacijente lečene na Odeljenju anestezije i reanimacije Urgentnog centra Kliničkog centra Vojvodine i na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine, u Novom Sadu. Istraživanje je sprovedeno tokom 2012. i 2013. godine u trajanju od dve godine. U studiju je bilo uključeno</p>

180 ispitanika od kojih je 150 imalo postavljenu dijagnozu sepse, a 30 ispitanika su činili kontrolnu grupu su klinički i biohemijski zdravih ispitanika, dobrovoljni davaoci krvi. Ispitanici su kategorisani u četiri grupe u odnosu na kliničko stanje i laboratorijske nalaze unutar prvih 24 časa od prijema: bolesnici sa sepsom, teškom sepsom, septičkim šokom i multiorganskom disfunkcijom na prijemu. Nakon kategorizacije ispitanika, izračunati su APACHE II i SOFA numerički pokazatelji procene težine bolesti ispitanika. U roku 24 časa od trenutka postavljanja dijagnoze sepse, iz uzoraka krvi ispitanika, izvršene su predviđene laboratorijske analize u cilju praćenja endotelne aktivacije, aktivacije koagulacije i inhibicije antikoagulantnih mehanizama. U toku 48 časova od prijema, bolesnici koji nisu imali MODS na prijemu su intenzivno praćeni u cilju evidentiranja razvoja multiorganske disfunkcije, dok su bolesnici koji su imali MODS praćeni radi evidentiranja perzistiranja ili eventualne rezolucije MODS-a. Zdravstveno stanje bolesnika je praćeno tokom 28 dana od trenutka uključivanja u studiju i nakon tog perioda je evidentiran ishod lećenja u smislu preživljavanja ili smrtnog ishoda. Statistička analiza je izvršena pomoću statističkog paketa IBM SPSS 20 Statistics. Podaci su predstavljeni tabelarno i grafički, a statistička značajnost određivana je na nivou  $p < 0,05$ .

**Rezultati:** Vrednosti bioloških markera endotelne aktivacije i aktivacije koagulacije su statistički značajno povišene kod obolelih od sepse u odnosu na njihove vrednosti u zdravoj populaciji, dok su vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije statistički značajno snižene kod obolelih od sepse u odnosu na njihove vrednosti u zdravoj populaciji. Vrednosti APTT-a, PT-a, D-dimera, fibrinogena, prirodnih inhibitora koagulacije i markera endotelne aktivacije (endokan i vWF antigena i aktivnosti) imaju značajan i veoma visok dijagnostički potencijal. Vrednosti biomarkera endotelne disfunkcije i pokazatelja poremećaja hemostaznog mehanizma su značajni prediktori komplikacija kod bolesnika sa sepsom. APTT, PT, D-dimer, broj trombocita, vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije, trombomodulina, endokana i ETP-a su jednako validni u inicijalnoj proceni toka kliničke slike sepse kao i prediktivni APACHE II i SOFA skorovi. Koncentracija trombomodulina, D-dimera, ETP-a i PC su dobri prediktori nastanka MODS-a u prvih 48 časova u toku sepse. Endokan, PT, APTT, koncentracija fibrinogena, prirodnih inhibitora koagulacije i vrednosti ETP-a su značajni u predikciji mortaliteta kod bolesnika sa sepsom.

**Zaključci:** Ukoliko bi pokazatelji aktivacije endotela i mehanizma hemostaze bili inkorporirani u određeni sistem skorovanja u cilju procene težine bolesti u smislu ishoda kod bolesnika sa sepsom, to bi moglo doneti doprinos boljoj klasifikaciji bolesnika, te primeni pravovremene i adekvatne terapije u cilju postizanja pozitivnog

	ishoda kod bolesnika sa sepsom. Prilikom interpretacije pokazatelja inflamacije i koagulacije neophodno je steći uvid u celokupnu sliku pro- i antikoagulantnih dešavanja koja se odvijaju tokom sepse, odnosno adekvatno proceniti pravac toka disbalansa mehanizma hemostaze da bi se eventualnim terapijskim merama mogao postići pozitivan učinak.
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	15.10.2012.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: _____ član: _____ član: _____ član: _____ član: _____

University of Novi Sad  
 Medical Faculty  
 Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	Ph.D. thesis
Author: AU	Dunja Mihajlović, MD, teaching assistant
Mentor: MN	Prof. Biljana Drašković, MD, PhD Prof. Snežana Brkić, MD, PhD
Title: TI	Diagnostic and prognostic significance of hemostasis-related parameters and endothelial dysfunction biomarkers in sepsis
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	eng. / srp.
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2015.
Publisher: PU	Author reprint
Publication place: PP	21000 Novi Sad, Srbija, Hajduk Veljkova 3

Physical description: PD	chapters 8/ pages 205/ tables 32/ figures 3/ graphs 44 /references 190/ annex 4
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Anaesthesiology
Subject, Key words SKW	Sepsis; Multi Organ Failure; Endothelial Cells; Endothelium, Vascular; Shock, Septic; Blood Coagulation; Hemostasis; Biological Markers; Survival Analysis; Treatment Outcome
UC	616.94-037 616.94-07
Holding data: HD	Library of Faculty of Medicine Novi Sad, 21000 Novi Sad, Serbia, Hajduk Veljkova 3
Note: N	None
Abstract: AB	<p><b>Introduction:</b> Sepsis is one of the main causes of death in intensive care units and other hospital wards in spite of implementation of new sepsis treatment guidelines in everyday hospital practice worldwide. Changes that occur in the microvasculature, affecting primarily endothelial cell, are the basis of the pathophysiology of multiorgan dysfunction (MODS) in sepsis. Coagulation abnormalities which occur as a consequence of endothelial changes are recognized as diagnostic criteria for sepsis, but significance of these changes in the outcome prognosis and prediction of the course of sepsis is still not accurately defined.</p> <p><b>Aims:</b> Evaluation of hemostasis related parameters and endothelial activation biomarkers values in patients with sepsis and healthy volunteers. Determination whether the levels of hemostasis-related parameters and biomarkers of endothelial activation have diagnostic significance and are they associated with MODS development and persistence in the first 48 hours of hospitalization and 28-day mortality in patients with sepsis.</p> <p><b>Material and methods:</b> This is cross-sectional study conducted in 2012 and 2013 in the Department of Anesthesia and Reanimation at the Emergency Center of the Clinical Center of Vojvodina and in the Clinic of Infectious Disease at the Clinical Center of Vojvodina. 150 patients who fulfilled criteria for diagnosis of sepsis were included in the study. Patients were divided into 4 groups: sepsis, severe sepsis, septic shock and MODS. 30 healthy volunteers, blood donors were</p>

	<p>the control group. After the categorization of patients, during the first 24 hours of hospitalization, predictive APACHE II and SOFA scores were calculated. Hemostasis related parameters and endothelial activation biomarkers concentrations were determined within the first 24 hours of the onset of the disease. To assess the development of complication of the disease, patients were monitored for 48 hours for MODS development and persistence or resolution and for 28 days from the onset of sepsis for outcome assessment. Data were analyzed using SPSS 20.0 software and are presented in tables and graphs, statistical significance was set at <math>p &lt; 0,05</math>.</p> <p><b>Results:</b> Biomarkers of endothelial and coagulation activation are significantly higher in patients with sepsis in comparison to their values in healthy volunteers, while concentrations of natural anticoagulants are significantly lower in patients with sepsis than in healthy volunteers. APTT, PT, D-dimer, fibrinogen, natural anticoagulants and biomarkers of endothelial activation (endocan and vWF antigen and activity) have diagnostic significance in patients with sepsis. Hemostasis related parameters and endothelial activation biomarkers are good prognostic factors for complication development in patients with sepsis. APTT, PT, D-dimer, platelet count, natural anticoagulants, thrombomodulin, endocan and ETP are equally valuable in early prediction of sepsis development as APACHE II and SOFA scores. Thrombomodulin, D-dimer, ETP and PC are good predictors of MODS development during the first 48 hours from sepsis onset. Endocan, PT, APTT, fibrinogen concentration, values of natural anticoagulants and ETP values are significant in 28-day mortality prediction in patients with sepsis.</p> <p><b>Conclusion:</b> A combination of markers of endothelial dysfunction with widely used ICU scores and organ failure assessment could contribute to an early recognition of complication development and consequent death in patients with sepsis. It is necessary to obtain the full insight in pro- and anticoagulant dynamic evaluation while interpreting coagulation and inflammation processes in sepsis development, in order to accurately lead early resuscitation therapy.</p>
Accepted on Senate on: AS	15 <sup>th</sup> October 2012.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	<p>president: _____</p> <p>member: _____</p>



	<p>member:</p> <hr/>
	<p>member:</p> <hr/>
	<p>member:</p> <hr/>

*Najveću zahvalnost dugujem svojim mentorima, prof. dr Snežani Brkić i prof. dr Biljani Drašković koje su svojom bezgraničnom podrškom i bezrezervnom verom u moje sposobnosti omogućile nastanak ove doktorske disertacije i mog akademskog napredovanja.*

*Posebnu zahvalnost dugujem prof. dr Aleksandri Novakov Mikić, bez čije otvorenosti za nove ideje, predusretljivosti i pomoći ovo istraživanje ne bi bilo moguće.*

*Veliku zahvalnost dugujem prof. dr Gorani Mitić na pomoći prilikom osmišljavanja dela teze, izvođenja laboratorijskih analiza, kao i na veoma korisnim savetima prilikom interpretacije rezultata.*

*Ogromnu zahvalnost dugujem svojoj najboljoj prijateljici i kolegici asist. dr Dajani Lendak, koja mi je bila podrška kad god bih posustala i koja mi je puno pomogla prilikom izvođenja eksperimentalnog dela teze.*

*Želela bih da se zahvalim i prof. dr Tatjani Čebović na pomoći pri izvođenju eksperimentalnog dela ovog istraživanja, kao i na pomoći prilikom tumačenja dobijenih rezultata.*

*Želim da se zahvalim Ondreju Petriku i Ljubomiru Radukiću na velikoj pomoći u izradi laboratorijskih analiza u cilju izvođenja ove doktorske disertacije.*

*Zahvaljujem se svim kolegama i svom medicinskom osoblju Odeljenja anestezije i reanimacije Urgentnog centra, kao i zaposlenima na Klinici za infektivne bolesti KCV na razumevanju, kolegijalnosti, poštovanju i pomoći koju su mi ukazali prilikom izvođenja ove doktorske teze.*

*Želim da se zahvalim tati, mami i sestri na podršci koja mi je pomogla da ostvarim svoje snove.*

*Ovu disertaciju posvećujem svom suprugu Danilu, kom se posebno zahvaljujem na neiscrpnom podsticaju, bezgraničnom strpljenju, razumevanju i ljubavi.*

## SADRŽAJ:

<b>LISTA SKRAĆENICA.....</b>	<b>1</b>
<b>1. UVOD.....</b>	<b>5</b>
1.1. DEFINICIJA SEPSE.....	6
1.2. EPIDEMIOLOGIJA SEPSE.....	12
1.3. PATOGENEZA SEPSE, ZNAČAJ AKTIVACIJE ENDOTELA I POREMEĆAJA MEHANIZMA HEMOSTAZE U PATOFIZIOLOŠKIM DEŠAVANJIMA U SEPSI.....	14
1.3.1. Patogeneza sepse i značaj aktivacije endotela u patofiziološkim dešavanjima u sepsi.....	14
1.3.2. Mehanizam hemostaze i poremećaji koagulacije u sepsi.....	18
1.3.3. Interakcija procesa koagulacije, endotelne aktivacije i sistemske inflamacije u sepsi.....	23
1.4. TRENDVI U DIJAGNOSTICI I PROCENI TEŽINE OBOLJENJA BOLESNIKA SA SEPSOM.....	26
1.4.1. Proinflamatorni biomarkeri u dijagnostici i proceni težine bolesnika sa sepsom.....	26
1.4.1.1. C-reaktivni protein.....	27
1.4.1.1. Prokalcitonin.....	28
1.4.1.3. Interleukin-6.....	29

1.4.1.4. Presepsin.....	30
1.4.2. Skoring sistemi za procenu težine i ishoda bolesnika sa sepsom.....	31
1.4.2.1.APACHE II.....	32
1.4.2.2. SOFA.....	33
1.4.3. Značaj biomarkera aktivacije endotela i koagulacionog statusa u sepsi.....	34
1.4.3.1. Trombocitopenija.....	35
1.4.3.2. Osnovni pokazatelji funkcije mehanizma hemostaze- koagulacioni testovi.....	36
1.4.3.2.1. Protrombinsko vreme-PT.....	36
1.4.3.2.2. Aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme- APTT.....	36
1.4.3.2.3. Trombinsko vreme- TT.....	37
1.4.3.2.4. Fibrinogen.....	37
1.4.3.2.5. Fibrin degradacioni produkti- D-dimer.....	38
1.4.3.2.6. Euglobulinsko vreme lize koaguluma.....	38
1.4.3.2.7. Testovi za određivanje stvaranja trombina- Endogeni trombinski potencijal (ETP).....	39
1.4.3.2.8. Merenje koncentracije prirodnih inhibitora koagulacije.....	39
1.4.3.3. Pokazatelji aktivacije i (dis)funkcije endotela u sepsi.....	40
1.4.3.3.1. Fon Vilebrandov faktor (von Willebrand factor- vWF).....	40
1.4.3.3.2. Specifični molekul endotelih ćelija 1- Endokan.....	41

<b>2. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>43</b>
<b>3. ISPITANICI I METODE.....</b>	<b>45</b>
3.1. KRITERIJUMI ZA UKLJUČIVANJE U STUDIJU.....	46
3.1.1. Bolesnici sa dijagnozom sepse.....	46
3.1.2. Kontrolna grupa- zdravi ispitanici.....	49
3.2. KRITERIJUMI ZA NEUKLJUČIVANJE U STUDIJU.....	49
3.2.1. Bolesnici sa sepsom.....	49
3.2.2. Zdravi ispitanici.....	50
3.3. LABORATORIJSKE ANALIZE POREMEĆAJA HEMOSTAZE I ENDOTELNE AKTIVACIJE.....	50
3.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA.....	50
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>54</b>
4.1. DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ MARKERA DISFUNKCIJE ENDOTELA I POREMEĆAJA MEHANIZMA HEMOSTAZE U SEPSI.....	54
4.1.1. Demografski podaci ispitanika u grupi bolesnika sa sepsom i kontrolnoj grupi zdravih ispitanika.....	54
4.1.2. Osnovni pokazatelji funkcije mehanizma hemostaze u grupi bolesnika sa sepsom i u kontrolnoj grupi zdravih ispitanika.....	57
4.1.3. Vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije i trombomodulina u grupi bolesnika sa sepsom i u kontrolnoj grupi zdravih ispitanika.....	64

4.1.4. Vrednosti biomarkera endotelne aktivacije i ETP-a u grupi bolesnika sa sepsom i u kontrolnoj grupi zdravih ispitanika.....	66
4.2. PROGNOŠTIČKI ZNAČAJ MARKERA DISFUNKCIJE ENDOTELA I POREMEĆAJA MEHANIZMA HEMOSTAZE U SEPSI.....	78
4.2.1. Epidemiološke karakteristike bolesnika sa sepsom.....	78
4.2.2. Opšte karakteristike bolesnika sa sepsom.....	82
4.2.3. Prognošički značaj pokazatelja poremećaja hemostaze i biomarkera endotelne aktivacije u odnosu na kliničku sliku sepse.....	92
4.2.4. Prognošički značaj pokazatelja poremećaja hemostaze i biomarkera endotelne aktivacije u smislu razvoja MODS-a u prvih 48 časova hospitalizacije.....	107
4.2.5. Prognošički značaj pokazatelja poremećaja hemostaze i biomarkera endotelne aktivacije za predviđanje smrtnog ishoda kod bolesnika sa sepsom.....	121
<b>5. DISKUSIJA.....</b>	<b>136</b>
5.1. DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ POKAZATELJA POREMEĆAJA HEMOSTAZE I BIOMARKERA ENDOTELNE AKTIVACIJE KOD BOLESNIKA SA SEPSOM.....	136
5.1.1. Demografski podaci.....	137
5.1.2. Osnovni pokazatelji funkcije mehanizma hemostaze u grupi bolesnika sa sepsom i u kontrolnoj grupi zdravih ispitanika.....	138
5.2. PROGNOŠTIČKI ZNAČAJ POKAZATELJA POREMEĆAJA HEMOSTAZE I BIOMARKERA ENDOTELNE AKTIVACIJE KOD BOLESNIKA SA SEPSOM.....	146
5.2.1. Epidemiološki podaci bolesnika sa sepsom.....	146

5.2.2. Opšte karakteristike bolesnika sa sepsom.....	151
5.2.3. Prognostički značaj pokazatelja poremećaja hemostaze i biomarkera endotelne aktivacije u odnosu na kliniču sliku sepse.....	154
5.2.4. Prognostički značaj pokazatelja poremećaja hemostaze i biomarkera endotelne aktivacije u smislu predviđanja razvoja MODS-a tokom prvih 48 časova hospitalizacije kod bolesnika sa sepsom.....	162
5.2.5. Prognostički značaj pokazatelja poremećaja hemostaze i biomarkera endotelne aktivacije u smislu predviđanja razvoja smrtnog ishoda tokom 28 dana od početka hospitalizacije kod bolesnika sa sepsom.....	168
<b>6. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>175</b>
<b>7. PRILOZI.....</b>	<b>177</b>
7.1. PRILOG 1.....	177
7.2. PRILOG 2.....	180
7.3. PRILOG 3.....	181
7.4. PRILOG 4.....	182
<b>8. LITERATURA.....</b>	<b>184</b>

**LISTA SKRAĆENICA:**

- MODS- sindrom multiorganske disfunkcije
- DIK- diseminovana intravaskularna koagulacija
- SIRS- sistemski inflamatorni odgovor organizma
- ACCP/SCCM-*American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference*
- SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS- *Society of Critical Care Medicine/The European Society of Intensive Care Medicine/The American College of Chest Physicians/the American Thoracic Society/ the Surgical Infection Society*
- PaCO<sub>2</sub>- parcijalni pritisak ugljen-dioksida
- CRP- C-reaktivni protein
- PCT- Prokalcitonin
- SD- standardna devijacija
- SvO<sub>2</sub>- saturacija kiseonikom mešane venske krvi
- PaO<sub>2</sub>- parcijalni pritisak kiseonika
- FiO<sub>2</sub>- inspiratorna frakcija kiseonika
- SOFA- *Sequential Organ Failure Assessment*
- INR- *international normalized ratio*
- APTT- aktivirano parcijalno tromboplastinsko vreme
- HIV- virus humane imunodeficijencije
- SAD- Sjedinjene Američke Države
- PRR- *pattern-recognition receptors*



- PAMP- *pathogen-associated molecular patterns*
- DAMP- *damage-associated molecular patterns*
- TLR- „*Toll-like*“ receptori
- IL- interleukin
- TNF- tumor nekroza faktor
- MIP- inflamatorni protein makrofaga
- ICAM-1- *intercellular adhesion molecule-1*
- ELAM-1- *endothelial leukocyte adhesion molecule-1*
- MIF- *Migration inhibitory factor*
- HMGB-1- *High-mobility group box*
- F- faktor koagulacije
- F (V, VII, VIII, IX, X, XI)a- aktivirani faktor koagulacije
- PT- protrombinsko vreme
- TF- tkivni faktor
- TFPI- inhibitor puta tkivnog faktora (*tissue factor pathway inhibitor*)
- AT- antitrombin
- PC- protein C
- EPCR- Endotelijalni protein C receptor
- APC- aktivirani protein C
- PS- protein S
- GPIb- glikoprotein Ib
- vWF- fon Vilebrandov faktor (*von Willebrand factor*)

- TAFI- *thrombin–activatable-fibrinolysis inhibitor*
- R- *ratio*
- NO- azot-monoksid
- CAM- ćelijski adhezioni molekul
- VCAM- vaskularni adhezioni molekul
- ARDS- akutni respiratorni distres sindrom
- PAI-1- inhibitor aktivatora plazminogena 1
- CD14-ST- solubilni CD 14-podtip–s
- APACHE- *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*
- TT- trombinsko vreme
- ETP- endogeni trombinski potencijal
- AUC- površina ispod krive (*area under the curve*)
- ESM-1- specifični molekul endotelnih ćelija-1
- PCR- *polymerase chain reaction*
- ALI- akutno oštećenje pluća (*Acute lung injury*)
- ELISA- *enzyme-linked immunosorbent assay*
- $\bar{X}$  -prosek, aritmetička sredina
- Min- minimum
- Max- maksimum
- n- broj
- ANOVA- jednofaktorska analiza varijanse
- ANCOVA- Analiza kovarijanse

- ROC- *Receiver operating characteristic*
- p- nivo statističke značajnosti
- U- vrednost Man- Vitnjevog testa
- r- značaj uticaja statističke značajnosti
- t- vrednost T-testa
- CNS- centralni nervni sistem
- CVK- centralni venski kateter
- JAAM- Japansko udruženje za akutnu medicinu (*Japanese Association for Acute Medicine*)
- VEGF- vaskularni endotelni faktor rasta

## 1. UVOD

Sepsa je jedan od vodećih uzroka smrtnosti u jedinicama intenzivnog lečenja i van njih uprkos implementaciji novih dijagnostičkih i terapijskih protokola širom sveta (1-3). Multiorganska disfunkcija (MODS), koja predstavlja najtežu formu nepovoljnog toka sepse, je u osnovi svojih patofizioloških dešavanja obeležena promenama, koje se dešavaju na nivou kapilara, pre svega u endotelu (4, 5). Proinflamatorni citokini koji se oslobađaju tokom reakcije sistemske inflamacije dovode do morfoloških i funkcionalnih promena u endotelnim ćelijama, a posledice ovih promena potom modifikuju inflamatorni odgovor (6, 7). Sve ovo značajno doprinosi nastanku kliničkih manifestacija hipoperfuzije organa i razvoju septičkog šoka, MODS-a i komplikacija kao što je diseminovana intravaskularna koagulacija (DIK) (8, 9). Poremećaji koagulacije koji se javljaju kao posledica ovih promena u endotelu su prepoznati kao jedan od dijagnostičkih kriterijuma prema najnovijim smernicama za dijagnostiku i lečenje sepse, međutim njihov značaj u predviđanju toka i ishoda ovog oboljenja još uvek nije precizno definisan (3, 10-13).

Koncentracije biomarkera, koji bi upućivali na poremećj morfologije i disfunkcija endotela, koji leži u osnovi patofizioloških dešavanja u sepsi, se prema najnovijim smernicama za lečenje i dijagnostiku sepse, rutinski ne određuju (3).

Merenje markera pokazatelja poremećaja koagulacije i disfunkcije endotela u sepsi bi imalo značaj, ne samo u boljem razumevanju patofizioloških procesa, već i u eventualnom predviđanju ishoda i toka bolesti, a sve u cilju identifikacije podgrupa pacijenata kojima bi određeni terapijski protokoli poboljšali prognozu i ishod lečenja.

## 1.1. DEFINICIJA SEPSE

Iako je termin „σ΄ ηψις“, koji znači truliti, raspadati se, bio poznat i korišćen još u vremenu pre Hipokrata, a reč sepsa u upotrebi već preko 2700 godina ovaj entitet je tek krajem dvadesetog veka zvanično definisan (14).

S obzirom na izvanrednu složenost patofizioloških dešavanja i nespecifičnost kliničkih manifestacija, definicija sepse i septičkog šoka je široka i kompleksna, a u sebe uključuje kriterijume koji su dogovoreni od strane članova stručne ACCP/SCCM (*American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference*) konsenzus konferencije o sepsi i insuficijenciji organa, revidiranih na Internacionalnoj konferenciji za definisanje sepse 2001. (SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS konsenzus konferencija- *Society of Critical Care Medicine/ The European Society of Intensive Care Medicine/The American College of Chest Physicians/the American Thoracic Society/ the Surgical Infection Society*) i 2012. godine (3, 15, 16).

Prema navedenim smernicama iz 1992. godine, sepsa je prepoznata kao sistemski inflamatorni odgovor organizma (*Systemic Inflammatory Response Syndrome-SIRS*) na suspektnu ili dokumentovanu infekciju. Dijagnoza SIRS-a se postavlja ukoliko su zadovoljena dva ili više navedenih kriterijuma:

- Telesna temperatura  $> 38^{\circ}\text{C}$  ili  $< 36^{\circ}\text{C}$
- Srčana frekvenca  $> 90$  otkucaja u minuti
- Frekvenca disanja  $> 20$  udaha u minuti ili  $\text{PaCO}_2 < 32$  mmHg
- Broj leukocita  $> 12 \times 10^9$  ćelija/l ili  $< 4 \times 10^9$  ćelija/l ili  $> 10\%$  nezrelih oblika (15).

Nakon postizanja konzenzusa o definicije sepse 1992. godine, ovo oboljenje je i dalje često ostajalo neprepoznato od strane kliničara. Prema istraživanju iz 2000. godine samo 22% lekara koji rade u jedinicama intenzivnog lečenja i 5% lekara drugih specijalnosti je tačno znalo da prepozna kriterijume za definiciju sepse (14, 17). Prema tome, postojala je potreba za revizijom definicije iz 1992. godine, pomoću koje bi se utvrdili precizniji kriterijumi za rano prepoznavanje ovog oboljenja.

Takođe, kriterijumi po kojima bi sepsa bila prisutna ukoliko bi najmanje dva pokazatelja SIRS-a bila pozitivna uz prisustvo infekcije, su se pokazali kao veoma nespecifični, s obzirom na to da 90% bolesnika koji se leče u jedinicama intenzivnog lečenja ima pozitivne pokazatelje SIRS-a (18-20). Ukoliko bi se sepsa definisala samo kao SIRS uz prisustvo infekcije, a skoro svaki kritično oboleli pacijent ima pozitivne SIRS kriterijume, to bi značilo da je skoro svaki bolesnik lečen u jedinici intenzivnog lečenja sa prisutnom bilo kakvom infekcijom septičan (20).

S obzirom na to da ne postoji jasno objašnjenje zbog čega sepsa kod nekih bolesnika progredira do teške sepse i septičkog šoka, uprkos pravovremeno preduzitim preporučenim resuscitacionim merama, kao i uzimajući u obzir činjenicu da mnoga druga oboljenja i životnougrožavajuća stanja (pankreatitis, opekotine, traume) u čijoj osnovi se ne nalazi infekcija, mogu dovesti do kliničkih manifestacija sistemske inflamacije koje su identične onima koje se javljaju kod obolelih od sepse, postojala je potreba za identifikacijom faktora koji bi doprineli ranom prepoznavanju ne samo sepse, već i rizika od napredovanja sepse do teške sepse i septičkog šoka. (14, 17, 21- 23) .

Revizijom definicije sepse iz 2001. i 2012. godine, sepsa se smatra entitetom koji pored SIRS pokazatelja, u odrasloj populaciji, može obuhvatati i druge kliničke manifestacije, kao što su specifični pokazatelji inflamacije, hemodinamskog statusa i disfunkcije organskih sistema. U

Tabeli 1. su prikazani kriterijumi za postavljanje dijagnoze sepse podjeljeni prema godinama nastanka i revizije definicije. (3, 15, 16, 22).

Tabela 1. Kriterijumi za postavljanje dijagnoze sepse definisani 1992. godine na ACCP/SCCM Konzenzus konferenciji, revidirani 2001. na SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS Internacionalnoj konferenciji i 2012. godine na Kampanji za preživljavanje sepse (*Surviving Sepsis Campaign*)

	<b>ACCP/SCCM 1992.</b>	<b>SCCM/ESICM/ ACCP/ATS/SIS 2001.</b>	<b><i>Surviving Campaign 2012.</i></b>
<b>Dijagnostički kriterijumi</b>			
Infekcija	dokumentovana	dokumentovana ili suspektna	dokumentovana ili suspektna
<b>Opšti pokazatelji</b>			
Temperatura	<36,0°C i/ili >38,0°C	<36,0°C i/ili >38,3°C	<36,0°C i/ili >38,3°C
Srčana frekvenca	>90	>90	>90 ili više za 2 SD od normalnih vrednosti za godine
Respiratorna frekvenca	>20	>30	>30
<b>Pokazatelji inflamacije</b>			
Broj leukocita	>12 000/μl i/ili <4 000/μl i/ili >10% nezrelih oblika	>12 000/μl i/ili <4 000/μl i/ili >10% nezrelih oblika	>12 000/μl i/ili <4 000/μl i/ili >10% nezrelih oblika
C-reaktivni protein (CRP)	-	>2 SD iznad referentnih vrednosti	>2 SD iznad referentnih vrednosti
Prokalcitonin (PCT)	-	>2 SD iznad referentnih vrednosti	>2 SD iznad referentnih vrednosti
<b>Hemodinamski pokazatelji</b>			
Arterijska hipotenzija	Sistolni pritisak 90 mm Hg, ili pad sistolnog pritiska za 40 mm Hg kod odraslih	Sistolni pritisak 90 mm Hg, Medijalni arterijski pritisak 70, ili pad sistolnog pritiska za 40 mm Hg kod odraslih ili za 2SD u odnosu na	Sistolni pritisak 90 mm Hg, Medijalni arterijski pritisak 70, ili pad sistolnog pritiska za 40 mm Hg kod odraslih ili za 2SD u odnosu na

		referentni opseg za godine	referentni opseg za godine
SvO <sub>2</sub>	-	>70%	-
Srčani indeks	-	>3,5 l/min/m <sup>2</sup>	-
<b>Pokazatelji disfunkcije organa</b>			
Poremećaj stanja svesti	+	-	-
Laktatna acidoza	+	-	-
Signifikantni edemi	-	+	+
Pozitivan bilans tečnosti	-	>20 ml/kg tokom 24 časa	+
Hiperglikemija u odsustvu diabetes melitusa	-	>120 mg/dl ili 7,7 mmol/l	>120 mg/dl ili 7,7 mmol/l
Arterijska hipoksemija	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> ≤ 200 uz respiratornu potporu (u okviru SOFA skora)*	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> < 300	PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> < 300
Poremećaji koagulacije	-	INR > 1,5 ili APTT > 60s	INR > 1,5 ili APTT > 60s
Ileus (odsustvo peristaltike)	-	+	+
Trombocitopenija	≤50 000/μl (u okviru SOFA skora)*	<100 000/μl	<100 000/μl
Hiperbilirubinemija	>6 mg/dl ili 102 μmol/l (u okviru SOFA skora)*	>4 mg/dl ili 70 μmol/l	>4 mg/dl ili 70 μmol/l
<b>Pokazatelji hipoperfuzije</b>			
Hiperlaktermija	-	>1 mmol/	>1 mmol/
Smanjeno kapilarno punjenje	+	+	+

- Legenda: -: Odsustvo kriterijuma; +: Prisustvo kriterijuma; **SD**- Standardna devijacija; \*: kriterijum definisan na osnovu SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) skora ≥2 za pojedinačan sistem organa; INR- *international normalized ratio*; SvO<sub>2</sub>- saturacija kiseonikom mešane venske krvi; PaO<sub>2</sub>- parcijalni pritisak kiseonika; FiO<sub>2</sub>- inspiratorna frakcija kiseonika; APTT- Aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme



Prilikom definisanja sepse kao entiteta, a takođe i revizijama ove definicije, preciznije su definisani i pojmovi teške sepse i septičkog šoka.

Ukoliko je sepsa udružena sa hipotenzijom ili disfunkcijom organa, tada se naziva teškom sepsom. Prema definiciji iz 1991. godine, u pokazatelje teške sepse su se ubrajali poremećaj stanja svesti, akutno nastala oligurija i laktatna acidoza, a poremećaj funkcije organskih sistema je definisan kao vrednost SOFA skora veći od 2 za pojedinačan sistem organa čija se funkcija procenjuje (15, 22, 24, 25). Revizija iz 2001. godine je podržala ovu definiciju teške sepse, dok je definicija iz 2012. godine donela diskretne promene u prepoznavanju disfunkcije organskih sistema. Pored kriterijuma navedenih u Tabeli 1. za procenu stanja respiratorne disfunkcije, u okviru teške sepse, uzima se u obzir odnos vrednosti PaO<sub>2</sub> /FiO<sub>2</sub> indeksa, koji da bi se postavila dijagnoza teške sepse treba da je manji od 250 u odsustvu pneumonije kao izvora infekcije, odnosno manji od 200 ukoliko je pneumonija izvor infekcije (3).

Septičkim šokom se, prema navedenim kriterijumima, smatra sepsom indukovana hipotenzija, koja perzistira uprkos adekvatnoj nadoknadi cirkulatornog volumena, odnosno stanje koje je praćeno laktatnom acidozom ili hipoperfuzijom organa, a koje se ne može poboljšati intravenskom nadoknadom tečnosti (3, 15-17).

Evolucija definicije sepse je pokazatelj sve boljeg uvida u patofiziološke procese koji se dešavaju prilikom razvoja ovog oboljenja. Tako je sepsa inicijalno prepoznavana samo kao rasprostranjena infekcija, za čije su kliničke manifestacije zaduženi, pre svega mikroorganizmi koji su uzročnici infekcije. Zatim je razvijena teorija o sepsi koja nastaje predominantno kao posledica odgovora organizma na infekciju, dok se u savremenoj literaturi sepsa smatra posledicom kompleksne

interakcije patogena i domaćina, koja se dešava kako na nivou organa i tkiva, tako i na celularnom i molekularnom nivou (26).

Iako naizgled diskretne, promene koje su vremenom nastale u cilju preciznijeg definisanja sepsa, teške sepsa i septičkog šoka, imaju veliki značaj ne samo u kliničkom prepoznavanju visokorizičnih grupa bolesnika, već i u naučnoistraživačkom aspektu definisanja određenih podgrupa bolesnika prilikom izvođenja kliničkih studija (22).

Međutim, uprkos jasno konstituisanoj definiciji, koja je zasnovana pre svega na kliničkim pokazateljima težine oboljenja, sepsa često i dalje ostaje neprepoznata do trenutka kada prelazi u tešku sepsu ili sledstveni septički šok sa disfunkcijom organskih sistema. Iako je mišljenje nekih autora da je sadašnja definicija sepsa zadovoljavajuća, jer je našla široku primenu već preko dve decenije, napori da se utvrde kriterijumi za brže i preciznije prepoznavanje bolesnika sa sepsom, treba da se nastave da bi se pravovremeno prepoznali rizici od kliničkog toka koji može imati dramatične posledice, te da bi se pravovremeno preduzeli određeni terapijski modaliteti (23).

Upravo zbog toga su u definiciju sepsa uključeni kriterijumi koji se oslanjaju na pokazatelje težine oboljenja kao što su prediktivni skorovi za bolesnike koji se leče u jedinicama intenzivnog lečenja, kao i biomarkeri pokazatelji inflamacije i disfunkcije organskih sistema (3, 13, 15,16, 28-31).

## 1.2. EPIDEMIOLOGIJA SEPSE

Incidenciju sepse, teške sepse i septičkog šoka je veoma teško proceniti, s obzirom da su preciznost definicije i naknadne revizije ovih pojmova oduvek predstavljale problem, te epidemiološke podatke o septičnim bolesnicima na globalnom nivou moramo tumačiti sa rezervom. Većina dostupnih epidemioloških procena se zasniva na otpusnim dijagnozama, koje često nisu postavljane u skladu sa definisanim kriterijumima (32, 33).

Egzaktni i kompletni podaci o incidenciji sepse dolaze uglavnom iz razvijenih zemalja i to sa odeljenja intenzivnog lečenja (32).

Incidencija hospitalizovanih bolesnika sa sepsom je u Sjedinjenim Američkim Državama porasla sa  $66.0 \pm 0.16$  na  $132.0 \pm 0.21$  u populaciji od 100 000 ljudi, u intervalu od 1993. do 2003. godine, dok je intrahospitalni mortalitet pao sa  $45.8 \pm 0.17$  na  $37.8 \pm 0.10\%$ , u istom vremenskom periodu (32, 34). Procenjeni troškovi lečenja bolesnika sa sepsom u 1993-1994. godini su iznosili u proseku od 42 802 do 181 758 \$ (32, 35).

U grupe pacijenata sa posebnim rizikom od razvoja sepse spadaju osobe starije životne dobi, imunokompromitovani bolesnici sa malignitetima ili virusom humane imunodeficijencije (HIV), kao i prevremeno rođena deca male telesne težine (32).

U epidemiološkim studijama najčešća ishodišta sepse su pluća, gastrointestinalni, urinarni trakt ili primarne infekcije krvi (1, 2, 27, 32.). Primarna infekcija je dokumentovana mikrobiološki samo u 50-60% slučajeva bolesnika sa teškom sepsom, dok su pozitivne hemokulture prisutne samo u 30% slučajeva bolesnika sa sepsom (27, 36, 37).

Literaturni podaci govore u prilog tvrdnji da je mikroorganizam koji je uzročnik sepse veoma značajan za ishod, jer je najveći mortalitet zabeležen kod bolesnika kod kojih je infekcija bila izazvana gljivicama- *Candida species* ili bakterijama- *Enterococcus species*, dok je najmanji mortalitet prisutan u grupi pacijenata kod kojih je uzročnik bio koagulaza-negativan *Staphylococcus* (32, 38). Rezultati preglednog članka, u kom su autori analizirali podatke 510 objavljenih naučnih radova, koji su pisani na temu mortaliteta i uzročnika infekcije, prikazuju da su Gram-negativne bakterije u vezi sa višim mortalitetom u odnosu na Gram-pozitivne mikroorganizme, a najčešći uzročnici koji su izolovani u hemokulturama su koagulaza-negativni *Staphylococcus* i *Escherichia coli*. Mortalitet zabeležen kod bolesnika sa sepsom uzrokovanom ovim mikroorganizmima je manji u poređenju sa mortalitetom kod sepse koju izaziva *Candida* (43%) ili *Acinetobacter* (40%). Pacijenti koji su imali pneumoniju uzrokovanu Gram-pozitivnim bakterijama- *Staphylococcus aureus*-om beleže veći mortalitet (41%) nego bolesnici kod kojih je pneumonija izazvana bila izazvana najčešće izolovanim Gram-negativnim mikroorganizmina (*Streptomyces pneumoniae*, 13%), dok drugi Gram-negativni mikroorganizmi, koji su bili zastupljeni u manjem procentu, nose rizik od višeg mortaliteta (*Pseudomonas aeruginosa* 77%) (32, 39).

Literaturni podaci takođe ističu značaj adekvatnog i ranog lečenja sepse u cilju smanjenja mortaliteta. Istraživanje sprovedeno u SAD potvrdilo je da je primena rane ciljane terapije u resuscitaciji bolesnika sa sepsom u toku prvih 6 sati hospitalizacije dovela do pada mortaliteta sa 46,5% na 30,5% (32, 40).

### 1.3. PATOGENEZA SEPSE, ZNAČAJ AKTIVACIJE ENDOTELA I POREMEĆAJA MEHANIZMA HEMOSTAZE U PATOFIZIOLOŠKIM DEŠAVANJIMA U SEPSI

#### 1.3.1. Patogeneza sepse i značaj aktivacije endotela u patofiziološkim dešavanjima u sepsi

Nastanak sepse predstavlja složen, dinamički proces celularne aktivacije, pre svega neutrofila, monocita i mikrovaskularnih endotelnih ćelija, koje pokreću brojne neuroendokrine mehanizme, aktiviraju sistem komplementa i rezultuju aktivacijom koagulacione kaskade i fibrinolitičkog sistema (26).

Inicijacija inflamatornog odgovora prilikom razvoja sepse započinje kada ćelije imunološkog sistema počnu da vrše ekspresiju receptora „*pattern-recognition receptors*- (PRR)“ koji pokreću odbrambeni odgovor organizma domaćina ubrzo nakon nastanka oštećenja tkiva ili invazije organizma domaćina od strane mikroorganizama (23, 41-44). Prisustvo infekcije se detektuje posredstvom prepoznavanja konzerviranih „*pathogen-associated molecular patterns* (PAMP)“ čiju ekspresiju vrše i invadirajući i bezopasni mikroorganizmi. Za razliku od toga, prepoznavanje oštećenog tkiva od strane imunološkog sistema se dešava posredstvom intracelularnih proteina, odnosno medijatora koji se oslobađaju iz umirućih ćelija- „alarmina“. Alarmini, zajedno sa PAMP-ovima, se jednim imenom označavaju kao „*damage-associated molecular patterns* (DAMP)“ (44, 45). Supfamilija PRR receptora su takozvani „*Toll-like*“ receptori (TLR) i oni su ključni u prepoznavanju DAMP-ova i inicijaciji imunog odgovora.

Za vreme nastanka sepse, dolazi do masivne aktivacije imunološkog odgovora usled oslobađanja ogromne količine DAMP-ova iz mikroorganizama koji vrše invaziju domaćina i iz oštećenog tkiva domaćina, što dovodi do opsežne stimulacije imunoloških ćelija i rezultira disbalansom citokina

(„olujom citokina“), te na taj način odgovor organizma domaćina koji bi trebalo da bude koristan u odbrani od infekcije prerasta u veoma štetnu inflamatornu reakciju (44).

Septički šok predstavlja nekontrolisan, diseminovan inflamatorni proces, a citokini koji ga iniciraju imaju inflamatorni efekat, pre svega na lokalnom nivou- interleukin  $1\alpha$  (IL- $1\alpha$ ) , IL- $1\beta$ , tumor nekrosis faktor (TNF), IL-8, inflamatorni protein makrofaga (MIP)- $1\alpha$ , MIP- $1\beta$  i interferon- $\gamma$ . Ovi citokini takođe, imaju ulogu u aktivaciji i regrutaciji neutrofila, kao i mononuklearnih fagocita, dok su IL-8 i MIP proinflamatorni polipeptidni hormoni (46-49).

Nakon oslobađanja potentnih citokina, interakcija koja se dešava između citokina i neutrofila, kao i molekularnih komponenti, pre svega endotelnih ćelija, dovodi do transudacije tečnosti iz intravaskularnog prostora i do okluzije kapilara, što dovodi do razvoja hipotenzije i oštećenja tkiva. TNF indukuje produkciju intercelularnog adhezionog molekula-1 „*intercellular adhesion molecule-1*“ (ICAM-1) i endotelnog adhezionog molekula leukocita „*endothelial leukocyte adhesion molecule-1*“ (ELAM-1) koji se vezuju za receptore na neutrofilima, što dovodi do složene interakcije procesa aktivacije endotela i koagulacije, kao i sistemske inflamacije tokom sepse (46).

Tokom razvoja sepse, pored favorizovanja proinflamatornih procesa, dolazi i do produkcije antiinflamatornih citokina, koji mogu deprimirati imuni sistem i povećati osetljivost na infekciju (50, 51). Antiinflamatorni citokini mogu dovesti do inhibicije produkcije IL-1 i TNF. Pojedini citokini mogu pored antiinflamatornih osobina pokazati i proinflamatorno dejstvo, u zavisnosti od vrste signala koji primaju, kao i od vrste ćelija na koje deluju, dok i pojedini proinflamatorni citokini mogu ispoljiti antiinflamatorne karakteristike u zavisnosti od koncentracije (50).

Faktor inhibicije migracije - „*Migration inhibitory factor*“ (MIF) i protein visoke mobilnosti grupe B1 - „*High-mobility group box*“ (HMGB-1) igraju ključnu ulogu u patogenezi sepse. Pored toga

što MIF ima proinflamatornu funkciju vršenjem aktivacije makrofaga i T- limfocita i stimulisanjem urođenog i stečenog imunog odgovora, ovaj molekul je povezan sa endokrinim sistemom. U uslovima stresa njegovu sekreciju vrši i hipotalamus, prednji režanj hipofize i nadbubrežne žlezde, čime on nadjačava i antagonizuje antiinflamatorne efekte endogenih steroida (44, 50).

HMGB-1, koji se smatra medijatorom kasne faze u sepsi se produkuju od strane oštećenih, umirućih ili stresom stimulisanih ćelija i makrofaga ili drugih ćelije imunog sistema. Ovaj molekul indukuje maturaciju i migraciju odbrambenih ćelija na mesto oštećenja tkiva i oslobađanje citokina i drugih proinflamatornih medijatora, a ispoljava i proinflamatorno dejstvo na endotel (50).

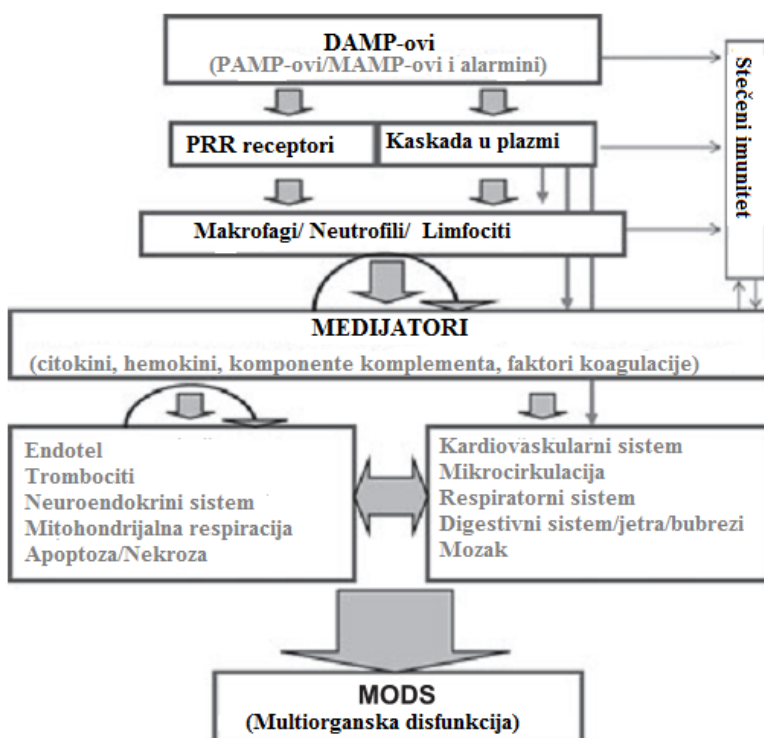
Kao i druge ćelije imunološkog sistema, endotelne ćelije takođe produkuju proinflamatorne medijatore, kao što su TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 i IL-8 (52).

Sledstveno dolazi do aktivacije solubilnih komponenti imunološkog sistema i do aktivacije komponenti komplementa, što dodatno podstiče produkciju pro- i antiinflamatornih citokina i hemokina, a ovaj proces dovodi do oslobađanja slobodnih kiseoničnih radikala što dovodi do dodatnog oštećenja tkiva, povećane vaskularne permeabilnosti i insuficijencije organa (52).

Pod uticajem ovih reakcija, dolazi do promena u endotelu, koje podrazumevaju edem i odvajanje endotelnih ćelija, što se manifestuje ekstravazacijom tečnosti u intersticijum. Gubitak selektivnosti propustljivosti ove membrane dovodi do razvoja patološke vaskularne propustljivosti što predstavlja jednu od najvažnijih oznaka patofizioloških dešavanja u sepsi (53). Pored strukturnih promena endotelnih ćelija, javljaju se i funkcionalni poremećaji koji podrazumevaju omogućavanje migracije leukocita i ekspresiju adhezivnih molekula i sledstveno povećanje adhezije trombocita. Takođe, i endotelne ćelije luče sopstvene inflamatorne medijatore i dovode

do ekspresije adhezionih molekula. U ovim složenim procesima sistemske inflamacije dolazi i do aktivacije koagulacionog mehanizma i procesa fibrinolize (52, 54), što doprinosi nastanku poremećaja koagulacije, a sledstveno i nastanku multiorganske disfunkcije (8, 55).

Slika 1. Shematski prikaz dešavanja tokom akutnog sistemskog inflamatornog odgovora u sepsi (50).

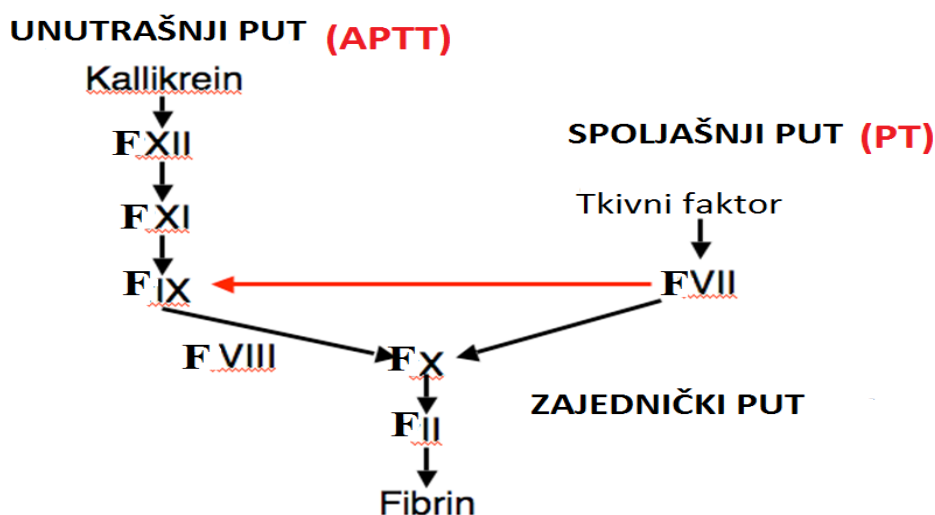




### 1.3.2. Mehanizam hemostaze i poremećaji koagulacije u sepsi

Koncept koji je dugo godina bio prisutan, a koji je danas napušten je prikazivao mehanizam hemostaze kao kaskade reakcija („*Waterfall hypothesis*“) koje se dešavaju odvojeno (nazvane unutrašnjim-intrizing i spoljašnjim-ekstrizing putem koagulacije). U organizmu, fiziološki proces koagulacije predstavlja rezultat aktivacije puta tkivnog faktora (ranije nazivanim spoljašnjim, ili ekstrizing putem), odnosno započinje fazom inicijacije, koju slede faza amplifikacije i faza propagacije, koje se dešavaju simultano (*Celularni model*) (56-58).

Slika 2. Spoljašnji i unutrašnji put koagulacije (59)



Inicijalni hemostatski odgovor, kao reakciju na oštećenje krvnog suda, započinje tkivni faktor-TF koji se nalazi na subendotelijalnim pericitima i fibroblastima. Aktivirani faktor VII (FVIIa) je serin proteaza koja cirkuliše u krvi u malim koncentracijama i koja se vezuje za TF i aktivira faktor X. Istovremeno, aktivirani faktor X (FXa), vrši generisanje malih koncentracija trombina.

Dva inhibitora koja regulišu prokoagulantni odgovor koji započinje tkivnim faktorom su inhibitor puta tkivnog faktora (*tissue factor pathway inhibitor*-TFPI) koji vrši neutralizaciju FXa kada je u kompleksu sa TF-FVII i antitrombin (AT), koji cirkuliše u krvi i neutralizuje prethodno formirani FXa i trombin. Prokoagulantna reakcija koja je započela se nastavlja jedino ukoliko je dovoljno TF eksponirano da se prevaziđe inhibicija koju vrše TFPI i AT (58).

Značaj AT kao antikoagulansa se odražava u njegovoj sposobnosti da inhibira brojne koagulacione proteaze. Rezultati *in vitro* studija pokazuju da je AT u manjoj meri regulator koagulacije u fazi inicijacije, dok u većoj meri reguliše fazu propagacije.

Pored antikoagulantne funkcije, u literaturi se sve više ističe značaj AT kao molekula koji ima i prirodno antiinflamatorno svojstvo, koje je značajno u tolikoj meri da može zaštititi od pogubnih efekata sistemske inflamacije kako neinfektivne, tako i infektivne etiologije i samim tim zaustaviti razvoj šoka i multiorganske disfunkcije (7, 58).

TFPI je inhibitor serin proteaze kog sekretuju endotelijalne ćelije. Ovaj molekul inhibira aktivaciju faktora X i posredstvom inhibicije katalitičkog kompleksa tkivnog faktora i FVIIa (60). Deficit ili nepravilnosti u fiziološkom funkcionisanju ovog molekula mogu izazvati protrombotičke komplikacije (61).

Protein C (PC) se aktivira posredstvom veze trombin-trombomodulin (60). Vezivanjem za trombomodulin, trombin takođe dobija antikoagulantna svojstva, jer upravo ova veza aktivira PC. Trombomodulin se nalazi na endotelu i u mikrocirkulaciji, a svoja antikoagulantna svojstva ostvaruje aktivacijom PC i konverzijom trombina iz prokoagulantnog u antikoagulantni oblik. (7, 62, 63). Endotelijalni protein C receptor (EPCR) ubrzava aktivaciju proteina C, a pomoću

vezivanja za ovaj receptor, protein C ispoljava svoja citoprotektivna i antiinflamatorna svojstva (64).

Ukoliko dođe do disocijacije aktiviranog proteina C (APC) od EPCR i vezivanja za protein S (PS) dolazi do ispoljavanja antikoagulantnih svojstava. APC, zajedno sa svojim kofaktorom, PS ostvaruje antikoagulantno dejstvo tako što proteolitički vrši razgradnju kofaktora Va i VIIIa. (65).

PS je vitamin-K zavisni protein koji se vezuje za negativno naelektrisanu fosfolipidsku membranu ćelija i ispoljava svoja APC zavisna i APC nezavisna antikoagulantna svojstva, dok su deficijencije ovog proteina odgovorne za nastanak tromboembolijskih komplikacija (66).

Veliki značaj PC-trombomodulin-EPCR sistema se ogleda u tome što ovaj sistem menja funkcionalne specifikacije trombina iz prokoagulantno-proinflatornog u antikoagulantno-antiinflatorni molekul (67).

Oštećenje krvnog suda omogućava trombocitima i plazmi da dođu u kontakt sa ekstravaskularnim tkivom. Tada dolazi do adhezije trombocita za ekstravaskularni matriks na mestu oštećenja krvnog suda, a ovo vezivanje trombocita za proteine matriksa dodatno aktivira trombocite. Male koncentracije trombina koje su stvorene u fazi inicijacije vrše amplifikaciju inciranog prokoagulantnog signala povećavanjem adhezije i potpunom aktivacijom trombocita. Trombociti imaju krucijalnu ulogu u nastavku koagulantnog odgovora, na prvom mestu tako što se preko svojih glikoprotein Ib (GPIb) receptora vezuju za FXI, a takođe lokalizuju FVIII na mesto oštećenja krvnog suda, posredstvom njegovog proteinskog nosača- fon Vilebrandovog faktora (*von Willebrand factor* -vWF). Potom, parcijalno aktivirani FV se oslobađa iz  $\alpha$ -granula prilikom aktivacije trombocita. FXIa posreduje aktivaciji FIX u FIXa, a FVIIIa zluži kao kofarktor FIXa.

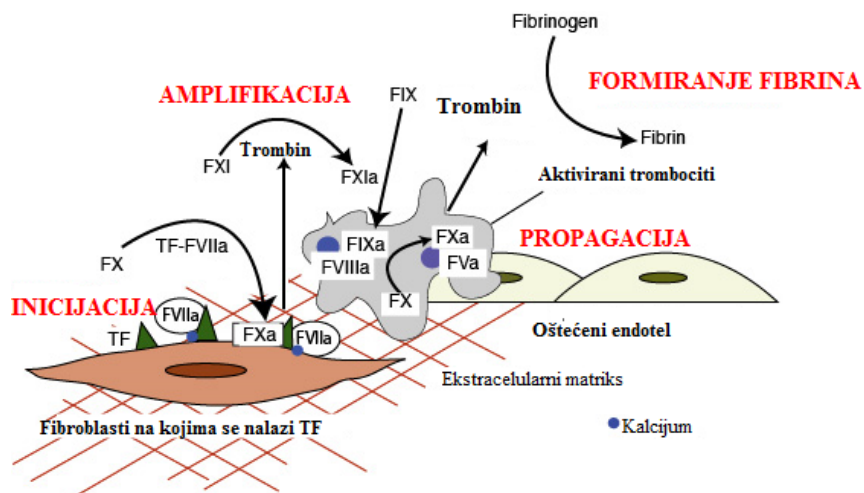
FIXa, serinska proteaza aktivira FX, a FVa služi kao kofaktor FXa (sve ovo je u kaskadnom modelu označavano kao unutrašnji put) (57, 58).

Faza propagacije se odvija na aktiviranim trombocitima. Mehanizmi koji su prevashodno odgovorni za ovo dešavanje su vezivanje FIXa koji je aktiviran tokom inicijacije za FVIIIa na površini trombocita, potom dodatno obezbeđivanje FIXa od strane trombocita, vezivanjem sa FXIa, kao i obezbeđivanje FXa direktno na površini trombocita posredstvom kompleksa FIXa/VIIIa. Ubrzo dolazi do vezivanja FXa sa FVa na površini trombocita, što dovodi do izdašnog stvaranja trombina, u dovoljnom opsegu da dođe do stvaranja ugruška. Pretpostavlja se da su trombociti jedine ćelije na kojima uspešno može da se odigra propagacija koagulacije (57).

Iako se ugrušak formira nakon što počne generacija trombina, struktura ugruška nastavlja da evolvira. Do stabilizacije ugruška dolazi tek kada je stvorena dovoljna količina trombina. Karboksipeptidaza- TAFI (*thrombin-activatable-fibrinolysis inhibitor*) otklanja potencijalna mesta za vezivanje fibrinolitičkih enzima, i na taj način obezbeđuje rezistenciju ugruška na fibrinolizu (57).

Opisani mehanizam kojim se stvara krvni ugrušak *in vivo* je prihvađen u savremenoj literaturi i naziva se celularnim modelom, pre svega zato što su glavne faze u direktnoj vezi i zavisnosti od ćelija: inicijacija se odvija na ćelijama koje nose TF, kao što su fibroblasti, dok su amplifikacija i propagacija u direktnoj vezi sa površinom trombocita (57).

Slika 3. Mehanizam hemostaze „in vivo“ (68)



Dva odvojena puta, koja se stapaju u jedan i dalje imaju značaj u savremenoj naučnoj literaturi, pre svega, radi boljeg razumevanja i interpretacije laboratorijskih testova (56-58).

Iako se smatra da vrednosti vremena koagulacije nisu precizni pokazatelji hemostaznog mehanizma „in vivo“ u savremenoj kliničkoj praksi se oni ipak koriste. Literaturni podaci pokazuju da je produženje vremena koagulacije preko 1,5 R (*ratio*) povezano sa povećanim rizikom od opsežnog krvarenja, kao i da su produžena vremena koagulacije zabeležena u 95% slučajeva pacijenata sa DIK-om (58, 61).

Disregulacija mehanizma hemostaze u sepsi je veoma česta i može progredirati do DIK-a, rezultirajući formacijom mikrovaskularnih trombova, hipoprefuzijom i multiorganskom insuficijencijom (69, 70).

U sepsi aktivacija mehanizma hemostaze započinje ekspresijom TF koja rezultuje stvaranjem trombina i formiranjem fibrina. Ovaj prokoagulantni korak potom sledi rana fibrinoliza, koja je uzrokovana povećanom ekspresijom aktivatora plazminogena, a koja se ubrzo obustavlja usled sinteze inhibitora aktivatora plazminogena (PAI). Ukoliko je proces progresije sepse stavljen pod kontrolu, ovaj poremećaj ravnoteže mehanizma hemostaze nestaje za 4-6 dana, nastavljajući se fibrinolitičkom fazom. U zavisnosti od opšteg zdravstvenog stanja bolesnika, kao i od vrste i virulencije mikroorganizma, sled koagulacionih sekvenci može biti eksplozivan, dovodeći do tromboze u krvnim sudovima unutar celog organizma i nekontrolisanih hemoragija, koje se javljaju unutar nekoliko minuta, ili progresivan i često klinički neprimetan, iako uvek detektabilan specifičnim laboratorijskim testovima (69).

### **1.3.3. Interakcija procesa koagulacije, endotelne aktivacije i sistemske inflamacije u sepsi**

U fiziološkim uslovima brojni mehanizmi sprečavaju aktivaciju koagulacije, a važnu ulogu u tom procesu imaju endotelne ćelije. One proizvode prostaciklin, azot-monoksid (NO), kao i druge vazoaktivne supstance što dovodi do sprečavanja adhezije trombocita, kao i do održavanja tonusa krvnih sudova i održavanja mikrocirkulacije u fiziološkom opsegu (52, 71).

Za vreme inflamacije, endotelne ćelije dolaze u kontakt sa različitim proinflamatornim medijatorima što značajno menja njihovu fiziološku funkciju, u smislu favorizovanja prokoagulantnog stanja. One tada vrše ekspresiju specifičnih ćelijskih adhezionih molekula (CAM), koji imaju centralnu ulogu u njihovoj interakciji sa leukocitima. Tu spadaju selektini (E,P,L), integrini ( $\beta 1, \beta 2$ ), kao i superfamilija imunoglobulina (intercelularni adhezioni molekul (ICAM-1), vaskularni adhezioni molekul (VCAM-1), itd. (6, 8, 72). Aktivirane endotelne ćelije

vrše ekspresiju E-selektina, koji olakšava adheziju leukocita za endotelne ćelije. P-selektin predstavlja adhezioni molekul koji se nalazi u trombocitima i unutar endotelnih ćelija. Ekspresiju L-selektina vrše leukociti i on se oslobađa prilikom aktivacije leukocita i vezuje za aktivirani endotel (52). Ovi molekuli, pored toga što utiču na inflamaciju posredstvom regulacije kretanja leukocita između cikulišuće krvi i okolnog tkiva (7), dovode do nastanka povećane kapilarne propustljivosti u tkivima, što dovodi do nastanka sistemske hipotenzije, perifernih edema, akutnog respiratornog distres sindroma (ARDS) i MODS-a (72).

Nastanku prokoagulantnog stanja i aktivaciji trombina kod inflamatornih stanja doprinose i mikropartikule (fragmenti aktiviranih i apoptotičnih ćelija, apoptotične endotelne ćelije) (7,73,74).

Tokom reakcije sistemske inflamacije, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i lipopolisaharidi mogu suprimirati trombomodulin, što se odražava na aktivaciju PC, čime se favorizuju prokoagulantna stanja (75). Nivo PC u plazmi je nizak u inflamatornim stanjima, jer dolazi do poremećaja sinteze, kao i povećane potrošnje i degradacije proteolitičkim enzimima (64). Sepsa može uzrokovati rezistenciju prema APC različitim mehanizmima, koji delimično zavise od povećanja nivoa FVIII (porekla endotelnih ćelija), a koji još uvek nisu do kraja razjašnjeni (64).

Tokom sepse i sistemske inflamacije nivo AT je smanjen (nedovoljna sinteza, degradacija i potrošnja usled stvaranja trombina) (64, 76). U sepsi su proteoglikani, koji omogućavaju funkciju AT sistema, suprimirani ili inaktivirani (60).

Inhibicija fibrinolitičkog sistema je jedan od ključnih elemenata patogeneze i nastanka depozicije fibrina za vreme sistemske inflamacije (77).

Tokom inflamatornih procesa dolazi do porasta nivoa inhibitora aktivatora plazminogena 1 (PAI-1) TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$ . Endotelne ćelije, budući da su glavni proizvođači profibrinolitičkih faktora, kao

i PAI-1 imaju veliki značaj u modeliranju fibrinolize tokom sepse i sistemske inflamacije (7). Rezultat ovakvih procesa je inhibicija fibrinolitičkog sistema i nedovoljno uklanjanje fibrina, te doprinos nastanku mikrovaskularne tromboze (78).

Aktivacija sistema koagulacije dovodi do produkcije proteaza koje preko specifičnih ćelijskih receptora utiču na proces inflamacije (77, 79, 80).

Značajnu ulogu u modifikaciji inflamatornog odgovora ima i APC, koji uticaj na inflamaciju najverovatnije ostvaruje putem EPCR. (64, 81). Veza APC-EPCR utiče na ekspresiju gena u ćelijama koji su odgovorni za inhibiciju endotoksinima izazvanih kalcijumskih flukseva. APC inhibira hemotaksiju leukocita i njihovu adheziju za endotel i tako modelira inflamatorni odgovor. PC takođe inhibira apoptozu endotelnih ćelija i tako utiče na inflamatorni odgovor (64, 82).

Uticaj aktivacije koagulacije na proces inflamacije se dešava i posredstvom AT. AT dovodi do oslobađanja prostaciklina iz endotelnih ćelija (83). Prostaciklini dovode do inhibicije adherencije neutrofila za krvni sud i utiču na endotelne ćelije tako da u njima dolazi do smanjene produkcije citokina i hemokina (64, 83).

Aktivirani trombociti doprinose lokalnom inflamatornom odgovoru, jer vrše sekreciju hemokina i IL-1, što dovodi do aktivacije leukocita i do promocije adhezije neutrofila i monocita. Aktivirani neutrofili potom oslobađaju elastaze, koje uništavaju AT i oslobađaju TFPI. Gubitak AT i TFPI dalje dovodi do poremećaja endogenih kontrolnih mehanizama generacije trombina, što prerasta u začarani krug sistemske inflamacije i poremećaja koagulacije (84).

Oslobađanje velikog broja proteaza može pojačati inflamatornu reakciju posredstvom proinflamatornih medijatora, koji sa druge strane, imaju prokoagulantni efekat, što može dovesti do nastanka DIK-a. Endotel predstavlja vezu između složenih sistema inflamacije i koagulacije i



ima centralnu ulogu u aktivaciji i modifikaciji poremećaja hemostaze tokom sistemskog inflamatornog odgovora (6).

## **1.4.TRENDOVI U DIJAGNOSTICI I PROCENI TEŽINE OBOLJENJA BOLESNIKA SA SEPSOM**

### **1.4.1. Proinflamatorni biomarkeri u dijagnostici i proceni težine bolesnika sa sepsom**

Biomarkeri su zajedno sa kliničkim pokazateljima značajno doprineli identifikaciji bolesnika sa sepsom i praćenju težine oboljenja, s obzirom na to da se određuju jednostavno, a takođe se mogu upotrebljavati za standardizaciju primene određenih terapijskih mera, kao i u medicinskim istraživanjima (31).

Sve se više ističe značaj određivanja pojedinih biomarkera kod bolesnika sa sepsom, s obzirom na to da oni mogu biti indikatori prisustva ili odsustva infekcije, pokazatelji da li je infekcija izazvana virusima, gljivicama ili bakterijama, da li je uzrokovana Gram-pozitivnim ili Gram-negativnim mikroorganizmima, a takođe se koriste i za razlikovanje lokalizovane od sistemske infekcije (13, 85, 86).

Kako je uvid u patofiziološke procese koji se dešavaju u sepsi tokom vremena rasvetljavao i kako su napredovali različiti terapijski modaliteti u lečenju sepse, razvijala se i paleta biomarkera koji su upotrebljavani u dijagnostici i praćenju terapijskih efekata kod bolesnika sa sepsom (86).

U savremenoj literaturi postoje podaci o istraživanjima koja su proučavala upotrebu više od 170 biomarkera kod bolesnika sa sepsom, a potraga za idealnim pokazateljem sepse i dalje traje (13).

Klinički koristan biomarker u sepsi bi trebalo da pruži dodatne informacije o bolesniku, koje se ne mogu dobiti na osnovu kliničkog pregleda i anamneze, odnosno treba jasno da diferencira SIRS infektivnog porekla od neinfektivnog SIRS-a ili SIRS-a uzrokovanog virusnom infekcijom. Dodatna vrednost ovakovog biomarkera treba da leži u njegovoj potencijalnoj sposobnosti da identifikuje posebno ugrožene bolesnike, odnosno da klasifikuje težinu oboljenja, kao i da bude dobar pokazatelj terapijskog učinka (87).

U svakodnevnoj kliničkoj praksi najširu primenu su pronašli CRP i PCT, mada je potencijal u detekciji sepse prepoznat i kod drugih biomarkera, kao što su interleukini i presepsin (31).

#### **1.4.1.1. C-reaktivni protein**

CRP je molekul koji sintetišu predominantno hepatociti, mada ga mogu sintetisati i druge ćelije, kao što su alveolarni makrofagi (88, 89). Tokom inflamatornog odgovora IL-6, IL-1 i TNF stimulišu produkciju ovog proteina. U fiziološkim uslovima, koncentracija CRP-a je manja od 10 mg/l, a za vreme sistemske inflamacije dolazi do porasta nivoa ovog molekula tokom prvih 6-8 sati, a nakon 48 časova dostiže maksimum (89). Iako se već više od deset godina koristi kao indikator sistemske inflamacije uzrokovane infekcijom, specifičnost ovog molekula je sporna, s obzirom na to da je njegova koncentracija povišena i u drugim stanjima sistemske inflamacije (13, 89). Nedostatak specifičnosti CRP-a za postavljanje dijagnoze sepse, pored relativno sporog porasta koncentracije ovog molekula dovodi kliničare u situaciju da pored određivanja koncentracije CRP-a određuju i koncentraciju molekula koji se smatra superiornijim u odnosu na CRP u cilju postavljanja dijagnoze sepse, odnosno PCT-a. Smatra se da je upotreba CRP-a u kliničkoj praksi za postavljanje dijagnoze sepse u odnosu na PCT održana zbog veće dostupnosti i ekonomske isplativosti određivanja ovog biomarkera u odnosu na PCT (13, 87, 88).

Iako određivanje i praćenje vrednosti CRP-a kod bolesnika sa sepsom ima značaj, zajedno sa praćenjem celokupne kliničke slike i drugih parametara koji mogu ukazivati na sistemsku inflamaciju uzrokovanu infekcijom, individualni značaj i doprinos ovog biomarkera kao dijagnostičkog i prognostičkog pokazatelja sepse ostaje ograničen (87).

#### **1.4.1.2.Prokalcitonin**

PCT predstavlja prekursor hormona kalcitonina i sintetišu ga C-ćelije štitaste žlezde. U fiziološkim uslovima njegova koncentracija u serumu je manja od 0,1 ng/ml. Ukoliko dođe do bakterijske infekcije u organizmu, PCT sintetišu i druga neuroendokrina tkiva, kao deo inflamatornog odgovora na infekciju (87). Nakon nastanka sistemske infekcije, nivo PCT-a počinje da raste tokom prvih četiri sata, a dostiže vrhunac nakon 8-24 časa. Međutim, porast koncentracije ovog molekula može da nastane i usled nekih drugih stanja u odsustvu infekcije, što je zabeleženo kod postojanja bubrežne insuficijencije, nakon hirurških zahvata ili traume tkiva (87, 90, 91). Senzitivnost PCT-a u dijagnostici bakterijske sepse je relativno mala i kod određenih populacija bolesnika, kao što su imunokompromitovani bolesnici ili osobe starije životne dobi i iznosi svega 60% (92).

Iako je u upotrebi u svakodnevnoj kliničkoj praksi kao marker za postavljanje dijagnoze sepse, ovaj molekul nije dovoljno specifičan u odsustvu kliničke slike koja bi išla u prilog sepse (3). Ovaj nedostatak posebno dolazi do izražaja kada je potrebno doneti terapijsku odluku kod kritično obolelih pacijenata koji se leče u jedinicama intenzivnog lečenja, gde je veoma važno razdvojiti sepsu od lokalizovane infekcije, kao i kod hirurških pacijenata u postoperativnom toku, gde je potrebno diferencirati da li dolazi do razvoja sepse ili je porast PCT-a posledica hirurške intervencije (87). Imajući u vidu navedene činjenice, u savremenoj literaturi, PCT se označava

biomarkerom koji ima veći potencijal da isključi prisustvo sepse, nego da je identifikuje, što nameće potrebu za istraživanjem novih biomarkera u cilju postavljanja dijagnoze sepse (13, 87).

Značaj PCT-a u proceni toka i ishoda sepse, kao i u praćenju dejstva antibiotske terapije je ispitivan u brojnim istraživanjima (87, 93, 94). Studije koje su sprovedi *Jensenet* i *Pettila* ukazuju na potencijalni prediktivni značaj PCT-a u smislu ishoda sepse, dok druge studije nisu svojim rezultatima potvrdile ove zaključke (87, 93-95). Takođe, prema rezultatima PRORATA studije, ordiniranje antibiotske terapije prema vrednostima PCT-a može dovesti do smanjenja ukupnog broja dana na antibiotskoj terapiji kod bolesnika u jedinicama intenzivnog lečenja (87, 96). Međutim, i dalje se postavljaju pitanja značaja prediktivne vrednosti PCT-a kod hirurških pacijenata, s obzirom da je interpretacija vrednosti ovog markera veoma kompleksna, baš kao i u dijagnostici sepse, a takođe nije označena referentna vrednost PCT-a ispod koje bi bezbedno bilo obustaviti primenu antibiotske terapije. Bitno je istaći i činjenicu da ordiniranje antibiotika u odnosu na vrednosti PCT-a nije dovelo do smanjenja multirezistentnih sojeva bakterija (87). Sve navedeno govori u prilog tome da i dalje opstaje dilema da li PCT uopšte doprinosi standardnim i utvrđenim metodama procene toka i ishoda sepse, kao što su scoring sistemi kod kritično obolelih pacijenata, ili su visoke vrednosti PCT-a samo pokazatelj da infekcija nije pod kontrolom (87).

#### **1.4.1.3. Interleukin-6**

Pored navedenih pokazatelja sistemske inflamacije, u dijagnostici sepse značajnim se smatra i IL-6, posebno u neonatalnoj populaciji. Senzitivnost ovog interleukina za postavljanje dijagnoze sepse je procenjena između 47 i 100 %, dok mu je specifičnost između 36 i 100%, a granične vrednosti se kreću, u zavisnosti od uzrasta od 10 do 200 ng/l (92). Ovaj interleukin je označen kao veoma važan biomarker u sepsi, s obzirom na to da je pokazao značaj u predviđanju težine i ishoda

kod septičnih bolesnika. Međutim, on je relativno nespecifičan kao marker infekcije, a povišene vrednosti njegove koncentracije se mogu javiti u različitim inflamatornim stanjima, te je inferioran u odnosu na PCT (31).

#### **1.4.1.4.Presepsin**

Novi biomarker sepse, koji se smatra specifičnijim i senzitivnijim biomarkerom za postavljenje dijagnoze sepse, od PCT-a, CRP-a i IL-6 je presepsin (solubilni CD 14-podtip-s CD14-ST). Literaturni podaci govore u prilog tome da je nivo presepsina kod bolesnika sa sepsom značajno povišen u odnosu na nivo ovog biomarkera kod bolesnika sa SIRS-om neinfektivne etiologije. Eksperimenti koji su rađeni na životinjama su pokazali da je porast koncentracije ovog biomarkera brži u odnosu na porast IL-6 tokom bakterijemije (97, 98). Vrednosti preko 415 pg/ml govore u prilog sepse, a senzitivnost ovog biomarkera je 80,1%, dok specifičnost iznosi 81%. Navedeni podaci ukazuju da presepsin može biti značajan biomarker u dijagnostici sepse i razlikovanju sepse od SIRS-a neinfektivne etiologije, međutim nema još dovoljno podataka u literaturi o prognostičkom značaju ovog biomarkera u praćenju toka sepse, kao ni o njegovom značaju u modeliranju antibiotske terapije (97).

S obzirom na činjenicu da literaturni podaci govore u prilog tome da više od 170 proučavanih biomarkera, kao ni najčešće upotrebljavani biomarkeri, koji se koriste u svakodnevnoj kliničkoj praksi kod bolesnika sa sepsom, nemaju dovoljnu specifičnost ni senzitivnost za postavljanje dijagnoze sepse ili predviđanje toka i ishoda ovog oboljenja, postoji potreba za novim istraživanjima u cilju identifikacije boljeg dijagnostičkog i prognostičkog pokazatelja ili kombinacije biomarkera koja bi bolje i preciznije odgovorila ovim zahtevima (13, 87).

### **1.4.2. Skoring sistemi za procenu težine i ishoda bolesnika sa sepsom**

Skoring sistemi su našli primenu u jedinicama intenzivnog lečenja pre tri decenije, a kreirani su u cilju koršćenja dostupnih podataka o stanju bolesnika na prijemu za predviđanje toka i ishoda bolesti. Ovi sistemi omogućavaju procenu težine stanja bolesnika, kao i procenu intrahospitalnog mortaliteta. (29)

Skoring sistemi se dele na opšte, kojima se može procenjivati stanje i predviđati mortalitet svih kritično obolelih pacijenata koji se leče u jedinicama intenzivnog lečenja i specifične skoring sisteme koji se odnose na konkretno oboljenje ili sistem organa (29).

Opšti skoring sistemi se mogu dodatno podeliti na:

- prediktivne skoring sisteme, koji vrše procenu težine opšteg stanja bolesnika na prijemu u jedinicu intenzivnog lečenja
- skoring sisteme koji služe da procene stepen disfunkcije određenih sistema organa
- skoring sisteme koji služe za procenu opterećenja osoblja zaposlenog u jedinicama intenzivnog lečenja (29).

Važna upotreba skoring sistema se ogleda u olakšavanju donošenja određene terapijske odluke kliničarima (99).

Idealan skoring sistem bi trebalo da bude zasnovan na dnevnoj proceni lako dostupnih varijabli, da ima visok nivo diskriminacije, primenljiv na različite populacije bolesnika, upotrebljiv u različitim državama, kao i da ima mogućnost procene funkcionalnog statusa i kvaliteta života nakon otpusta bolesnika iz jedinice intenzivnog lečenja (99).

### 1.4.2.1.APACHE II

APACHE (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*) scoring sistem je razvijen 1981. godine u cilju klasifikacije pacijenata u odnosu na težinu oboljenja, a tematski je podeljen u dve celine. Prva celina se odnosi na ocenu fizioloških funkcija bolesnika, koje će u odnosu na stepen poremećaja dati podatke o težini akutno nastalog oboljenja, dok se druga tematska celina odnosi na procenu hroničnog zdravstvenog stanja bolesnika (99).

Originalni APACHE scoring sistem, u koji je inicijalno bilo uključeno 34 varijable, je 1985. godine revidiran, te je formiran APACHE II scoring sistem, jedan od najčešće upotrebljvanih scoring sistema u jedinicama intenzivnog lečenja, koji uključuje 12 varijabli (99, 100). Ova verzija APACHE scoring sistema je takođe prošla kroz revizije, međutim kako novi modeli nisu bili superiorniji, APACHE II i nakon skoro trideset godina ostaje jedan od vodećih scoring sistema u proceni stanja bolesnika tokom prvih 24 časa od prijema u jedinicu intenzivnog lečenja (29, 99).

Uticaj godina i hroničnog zdravstvenog stanja bolesnika su direktno inkorporirani u ovaj model procene stanja bolesnika, uz druge pokazatelje fizioloških funkcija. Za procenu stanja fizioloških pokazatelja se uzimaju najgori rezultati koji su zabeleženi unutar prva 24 časa, a u ovaj model za ocenjivanje težine stanja bolesnika je uračunat i uzrok prijema pacijenta u jedinicu intenzivnog lečenja, koji se smatra zasebnim pokazateljem težine oboljenja, čak i ukoliko su prethodno zdravstveno stanje i aktuelni pokazatelji zdravstvenog stanja nepoznati. Maksimalan broj bodova, koji je pokazatelj stepena težine oboljenja u smislu goreg ishoda je 69 (99).

Iako je primarno dizajniran kao prediktivni model za ocenu težine stanja bolesnika i predviđanje mortaliteta, pre svega za upotrebljavanje u kliničkoj praksi, ovaj scoring sistem je postao značajan i u naučnoistraživačkom polju, s obzirom na to da se upotrebljava kako u cilju odluke za

uključivanje određenih pacijenata u pojedina istraživanja, tako i za poređenje i stratifikaciju bolesnika u istraživanjima, pa čak i za odluke o primeni pojedinih terapijskih sredstava kod bolesnika koji, na osnovu vrednosti APACHE II skora spadaju u grupu posebno ugroženih bolesnika (29, 99).

#### **1.4.2.2.SOFA**

SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) skor je razvijen 1994. godine na konzensus konferenciji o sepsi. Inicijalni naziv ovog skora je bio „*Sepsis-related organ failure assessment*“ i primarno je modeliran u cilju objektivne i kvantitativne procene stepena disfunkcije ili insuficijencije organskih sistema kod bolesnika sa sepsom, dok je kasnije ovaj scoring sistem preimenovan u „*Sequential Organ Failure Assessment*“ i našao je primenu u sveukupnoj populaciji bolesnika koji se leče u jedinicama intenzivnog lečenja (25, 101).

SOFA scoring sistem je dizajniran pre svega da bi se kvantifikovale i što objektivnije ocenile fiziološke funkcije, odnosno, stepen disfunkcije pojedinih organskih sistema. Ovaj scoring sistem nije zamišljen kao model koji predviđa ishod kritično obolelih pacijenata, već mogući tok bolesti-komplikacija koje mogu da se jave i dovedu do insuficijencije organskih sistema (25, 101, 102).

Stepen (dis)funkcije šest organskih sistema se kvantifikuje prilikom izračunavanja SOFA skora: respiratorni, kardiovaskularni, bubrežni, jetreni, koagulacioni i centralni nervni sistem. Stepen oštećenja svakog organskog sistema se kvantifikuje bodovima od 0 (normalne vrednosti) do 4 (maksimalno odstupanje od referentnog opsega), a maksimalan broj bodova je 24. U obzir se uzimaju najveća odstupanja od referentnog opsega vrednosti zabeležena u toku dana (29).

S obzirom na to da je razvoj disfunkcije organa i organskih sistema dinamičan proces koji treba shvatiti kao kontinuum, SOFA skor je veoma dragocen kvantitativni model koji opisuje stepen



disfunkcije rada organskih sistema (25, 101, 102). Činjenica da su podaci koji su potrebni za izračunavanje ovog skora lako i široko dostupni, kao i jednostavnost samog procesa računanja, čine ovaj model još dragocijenijim alatom u proceni stepena težine oboljenja pacijenata koji se leče u jedinicama intenzivnog lečenja (102).

### **1.4.3. Značaj biomarkera aktivacije endotela i koagulacionog statusa u sepsi**

Veoma je dobro poznato da je insuficijencija rada organa i organskih sistema tokom prvih 48 sati od prijema u jedinicu intenzivnog lečenja jedan od najboljih pokazatelja potencijalnog razvoja smrtnog ishoda (103, 104). Zbog toga je veoma važno rano prepoznati i prevenirati multiorgansku disfunkciju (103, 105).

U svakodnevnoj kliničkoj praksi se kod septičnih bolesnika rutinski istražuju mnogobrojni biomarkeri, koji su pokazatelji stepena funkcije kako vitalnih organa, kao što su bubrezi, jetra i srce, tako i imunološkog statusa i prisustva sistemske inflamacije. Međutim, ne postoje smernice i preporuke za rutinsko praćenje biomarkera pokazatelja funkcije vaskularnog, odnosno endotelnog integriteta i funkcije, iako ovaj sistem organa ima centralnu ulogu u patogenezi sepse i iako poremećaji njegove funkcije dovode do opsežnih reperkusija na druge vitalne organe i organske sisteme (103).

Interpretacija pojedinih laboratorijskih parametara, pokazatelja poremećaja mehanizma hemostaze, nije inkorporirana u prediktivne skorove, kao ni u skorove pokazatelje disfunkcije organskih sistema, dok je i njihova upotreba u cilju prepoznavanja ranog rizika od razvoja DIK-a još uvek nedovoljno promovisana i samim tim često nedostupna i nepouzdana (61, 106, 107).

### 1.4.3.1. Trombocitopenija

Trombocitopenija je jedan od najčešćih poremećaja hemostaznog sistema kod kritično obolelih pacijenata i javlja se u 15-60% slučajeva (108). Trombocitopenija se definiše kao broj trombocita manji od  $150 \times 10^9/l$ , međutim predloženo je da se kod kritično obolelih pacijenata za definiciju trombocitopenije koristi broj trombocita manji od  $100 \times 10^9/l$  (108-110). Kod kritično obolelih pacijenata, etiologija trombocitopenije može biti multifaktorijalna (povećana potrošnja i destrukcija trombocita, smanjena produkcija, dilucija ili sekvestracija, ili kombinacija ovih faktora) dok se uvek mora imati na umu i mogućnost pojave pesudotrombocitopenije (108, 111).

Najveća incidencija trombocitopenije među kritično obolelim pacijentima se javlja kod bolesnika sa teškog sepsom (108, 112-115).

Specifičnost trombocitopenije u dijagnostici DIK-a je ograničena, međutim postojanje trombocitopenije kod bolesnika sa DIK-om ima velik značaj, s obzirom na dodatno povećanje rizika od krvarenja (61). Istraživanja pokazuju da je DIK nezavisni prediktor razvoja organske disfunkcije i mortaliteta kod pacijenata sa sepsom.

Nezavisno od razvoja DIK-a, samo postojanje trombocitopenije koje perzistira duže od 4 dana od prijema u jedinicu intenzivnog lečenja, ili pad u broju trombocita za više od 50% u toku hospitalizacije, su povezani sa porastom mortaliteta za 4-6 puta (78). Pojedine studije su pokazale da broj trombocita može biti bolji prediktor mortaliteta u jedinicama intenzivnog lečenja od složenih scoring sistema, kao što je APACHE II (78, 116).

### **1.4.3.2. Osnovni pokazatelji funkcije mehanizma hemostaze- koagulacioni testovi**

Poremećaji mehanizma hemostaze koji se javljaju kod pacijenata obolelih od sepse se mogu manifestovati različitom težinom poremećaja koagulacije, od blagog stepena aktivacije koagulacionog mehanizma, preko pada broja trombocita ili produženja vremena koagulacije, do teških poremećaja, kao što je DIK (8, 9). Epidemiološka istraživanja pokazuju da su ovakvi poremećaji u 50-70% slučajeva klinički značajni, a da 35% pacijenata sa sepsom ima pozitivne DIK kriterijume (12, 117).

#### **1.4.3.2.1. Protrombinsko vreme-PT**

Protrombinsko vreme-PT služi za monitoring funkcije puta tkivnog faktora i dela zajedničkog puta koagulacije. S obzirom na to da senzitivnost reagenasa pomoću kojih se određuje PT može varirati, PT se može izraziti kao internacionalni normalizovani odnos ili količnik-INR (56).

Iako je PT produženo ukoliko postoji deficijencija F VII, X, V i II, kao i fibrinogena, koji se javljaju kod deficijencije ili primene antikoagulantne terapije antagonistima vitamina K, kao i u jetrenoj insuficijenciji, ukoliko je PT produženo bez promena u vrednostima APTT-a, to ukazuje na deficijenciju FVII, s obzirom da je on jedinstven u analizi ovog „spoljašnjeg puta“ koagulacije (56, 58, 118).

#### **1.4.3.2.2. Aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme- APTT**

Aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme je pokazatelj koagulacione aktivnosti unutrašnjeg i zajedničkog puta koagulacije. Vrednosti se, kao i za PT izražavaju u sekundama, ili u odnosu na normalnu kontrolnu plazmu. Ovo vreme će biti produženo ukoliko postoji deficijencija F XII, XI, X, IX, VIII, V, II i fibrinogena, prilikom administracije heparina ili kod bolesnika sa

antifosfolipidnim sindromom. S obzirom na to da veći broj faktora koagulacije ima uticaj na vrednosti ovog laboratorijskog pokazatelja, smatra se da je dovoljno da je prisutno samo oko 30% vrednosti pojedinačnih faktora koagulacije pa da APTT ne bude produženo. Manji stepen deficijencije multiplih faktora koagulacije takođe mogu produžiti APTT. Prekalikrein i kininogen, kao i deficijencije F XII će takođe produžiti APTT, a ovaj efekat imaju i antifosfolipidna antitela, međutim, to neće imati uticaja na povećan rizik od krvarenja, uprkos produženom APTT-u (56, 58, 118).

#### **1.4.3.2.3. Trombinsko vreme- TT**

Trombinsko vreme meri period konverzije fibrinogena u polimere fibrina nakon dodavanja egzogenog trombina plazmi. Trombinsko vreme je produženo kod hipo- i disfibrinogenemija, terapije heparinom, kao i prisustva fibrin- degradacionih produkata i faktora koji mogu uticati na polimerizaciju (npr. prisustvo paraproteina kod bolesnika sa mijelomom) (118).

#### **1.4.3.2.4. Fibrinogen**

Iako su vrednosti fibrinogena dugo važile kao koristan marker za postavljanje dijagnoze DIK-a, u savremenoj naučnoj literaturi podaci pokazuju da je senzitivnost fibrinogena iznosila svega 28% za postavljanje dijagnoze DIK-a, kao i da je hipofibrinogenemija bila prisutna kod bolesnika sa veoma teškim stepenom DIK-a. Ovo se može tumačiti time što je fibrinogen reaktant akutne faze, i uprkos povećanom iskorišćavanju, njegov nivo u plazmi može ostati u referentnom opsegu tokom dužeg vremenskog perioda (61, 118).

#### **1.4.3.2.5. Fibrin degradacioni produkti- D-dimer**

Ne postoji pouzdan test za određivanje intravaskularnog stvaranja fibrina u plazmi, merenje raspadnih produkata fibrina indirektno govori o intravaskularnom formiranju ugrušaka (61). Međutim, ovi testovi nisu dovoljno specifični, jer se visok nivo fibrin- degradacionih produkata može naći i nakon hirurških intervencija, traume, inflamacije i kod pacijenata sa malignim oboljenjima, te je zabeleženo da su fibrin degradacioni produkti povišeni kod 42% bolesnika lečenih u jedinicama intenzivnog lečenja, kod 80% bolesnika nakon traume i kod 99% bolesnika sa DIK-om (61, 119, 120). Koncentracija raspadnih produkata fibrina će biti povišena i kod jetrenih i bubrežnih oboljenja, s obzirom na smanjenu ekskreciju (61, 64).

D-dimer je fibrin-degradacioni produkt koji se odlikuje većom specifičnošću, s obzirom da nastaje degradacijom fibrina iz intaktnog ugruška, dok drugi nespecifični raspadni produkti fibrina mogu nastati i ukoliko ne postoji ugrušak (56, 61).

#### **1.4.3.2.6. Euglobulinsko vreme lize koaguluma**

Vreme razlaganja koaguluma iznosi 2 do 4 sata, te se test euglobulinskog vremena lize koaguluma koristi kako za dijagnostiku hiperfibrinolize, tako i u cilju dijagnostike snižene fibrinolizne aktivnosti. Test se zasniva na činjenici da euglobulinska frakcija plazme sadrži sve neophodne faktore, kako za zgrušavanje, tako i za lizu koaguluma, kao što su aktivator plazminogena i sam plazminogen. Ukoliko je razlaganje kraće od dva sata, to se označava kao povišena fibrinolizna aktivnost, koja može biti uzrok hemoragijskog sindroma, dok je vreme duže od 4 sata oznaka snižene fibrinolizne aktivnosti i znak je postojanja pretromboznog stanja (121, 122).

#### **1.4.3.2.7. Testovi za određivanje stvaranja trombina- Endogeni trombinski potencijal (ETP)**

Iako su vremena koagulacije u širokoj upotrebi u kliničkoj praksi za sticanje uvida u funkciju mehanizma hemostaze, ova vremena nisu precizan pokazatelj generisanja trombina (123). Endogeni trombinski potencijal (ETP) je parametar koji kvantitativno daje uvid u proces stvaranja trombina, odnosno u kombinaciju aktivnosti pro- i antikoagulantnog sistema, nakon što dođe do aktivacije mehanizma hemostaze. ETP predstavlja ukupnu količinu formiranog trombina, odnosno predstavlja površinu ispod konstruisane krive (*area under the curve- AUC*) generisanja trombina (124). Povišene vrednosti ETP-a ukazuju na protrombotička stanja, dok je snižen ETP povezan sa hemoragijskim poremećajima (125). S obzirom na to da trombin tokom sistemske inflamacije indukuje ekspresiju citokina i na taj način modelira inflamatorni odgovor, određivanje stvaranja trombina, odnosno procena vrednosti ETP-a kod bolesnika sa sepsom ima značaj ne samo zbog uvida u stanje mehanizma hemostaze tokom sepse, već i zbog potencijalnog uvida u smer kliničkog toka sistemske inflamacije (125, 126).

#### **1.4.3.2.8. Merenje koncentracije prirodnih inhibitora koagulacije**

U fiziološkim uslovima, antikoagulantni mehanizmi su konstantno aktivirani u cilju sprečavanja nastanka krvnog ugruška na površini endotelih ćelija krvnih sudova (80, 127). Tri glavna faktora koja kontrolišu i sprečavaju nastanak koagulacije, kao što je već objašnjeno su AT, TFPI i PC zajedno sa svojim kofaktorom PS, a posredstvom trombomodulina (koji se smatra i pokazateljem aktivacije i oštećenja endotela) (80, 127, 128).

Pirodni inhibitori koagulacije su dragoceni indikatori aktivacije koagulacije. Snižene vrednosti koncentracije prirodnih inhibitora koagulacije se javljaju u 90% slučajeva pacijenata sa DIK-om (61, 129).

Tokom sistemske inflamacije nivo AT je snižen ne samo zbog povećane potrošnje, već i zbog smanjene sinteze i povećane degradacije od strane aktiviranih neutrofila (61).

Nivo PC se smatra dobrim indikatorom težine DIK-a, kao i prediktorom ishoda. Tokom sistemske inflamacije, kao i u stanjima DIK-a, sistem funkcionisanja PC postaje neefikasan zbog disregulacije trombomodulina na površini endotela izazvane citokinima TNF- $\alpha$  i IL1- $\beta$  (61, 130).

Nizak nivo PS, koji se javlja u stanjima sistemske inflamacije takođe može dovesti do problema u funkciji sistema PC, što se dalje može imati uticaja i na proces koagulacije i sistemske inflamacije (61, 62, 67).

### **1.4.3.3. Pokazatelji aktivacije i (dis)funkcije endotela u sepsi**

Brojni biomarkeri, kao što su anigopoetini, selektini, vaskularni faktori rasta, faktori rasta trombocita, inhibitori serin proteaza, degradirajući produkti fibrina, kao i molekuli specifični za aktivaciju endotela su našli prostor u kliničkim istraživanjima, a rezultati govore u prilog da ovi molekuli predstavljaju dragocene pokazatelje prisustva i težine oboljenja u čijoj osnovi leže promene u funkciji endotela, s posebnim osvrtom na njihov značaj u sepsi (103, 131).

#### **1.4.3.3.1. Fon Vilebrandov faktor (von Willebrand factor- vWF)**

FVIII se sastoji od dva dela: koagulacijskog, koji se sintetiše u jetri pod kontrolom gena na X hromozomu, i vWF koji je kofaktor hemostaze i produkuje ga endotelne ćelije i megakariociti. Ovaj faktor ima sposobnost formiranja velikih multimera koji cirkulišu u krvi. vWF ima dve važne

funkcije u organizmu: vezuje za sebe koagulacijski deo FVIII i tako sprečava njegov brz katabolizam i pomaže u adheziji i agregaciji trombocita (103, 132, 133).

Literaturni podaci pokazuju da ovaj molekul ima značaj u proceni težine i ishoda bolesnika sa sepsom (103, 131).

#### **1.4.3.3.2. Specifični molekul endotelnih ćelija 1- Endokan**

Endokan je proteoglikan koji se može detektovati u ljudskoj krvi, a njegovu ekspresiju vrše endotelne ćelije i ćelije bubrega i pluća (134). Ovaj molekul je otkriven 1996. godine i prvo je dobio naziv specifični molekul endotelnih ćelija-1 (ESM-1), a potom je označen kao endokan. Istraživanja pokazuju da endokan ima potencijalnu ulogu u nastanku vaskularnih oboljenja, kao i u procesima inflamacije i drugim patološkim dešavanjima koje su u vezi sa promenama na endotelu (135). Podaci ukazuju i da je povećana ekspresija endokana prisutna kod tumorskih procesa, te se ovaj molekul smatra markerom angiogeneze i onkogeneze (135).

Sintezu i oslobađanje endokana promovišu proinflamatorni citokini, kao što su TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$  (134-136).

S obzirom na to da se ovaj molekul oslobađa usled stimulacije proinflamatornim citokinima, kao i da je u osnovi patofizioloških dešavanja u sepsi prisutno oštećenje endotela, istraživanja koja su se bavila određivanjem koncentracije endokana kod bolesnika sa sepsom su pokazala da je povišena koncentracija ovog molekula povezana sa težinom bolesti kod obolelih od sepse, kao i da su vrednosti ovog molekula značajno povišene kod bolesnika koji su imali sepsu u odnosu na ispitanike koji su imali SIRS neinfektivne etiologije (103, 107, 138, 139).



Istraživanja pokazuju da se endokan može smatrati biomarkerom koji je u mogućnosti da rano detektuje isključivo oštećenje endotela (kao posebnog organa), te bi merenje koncentracije endokana kod obolelih od sepse imalo značaj u detekciji endotelne disfunkcije, kao disfunkcije posebnog organskog sistema kod ovih bolesnika (103, 107, 138, 139).

## 2. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

### Hipoteze:

1. Vrednosti bioloških markera endotelne aktivacije, kao i poremećaja mehanizma hemostaze su statistički značajno povišene **kod obolelih od sepse** u odnosu na njihove vrednosti u zdravoj populaciji, dok su vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije statistički značajno snižene kod obolelih od sepse **u odnosu na njihove vrednosti u zdravoj populaciji**.

2. Vrednosti biomarkera endotelne disfunkcije i pokazatelja poremećaja mehanizma hemostaze koje su statistički značajno povišene u odnosu na zdravu populaciju, kao i vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije koje su statistički značajno snižene u odnosu na zdravu populaciju su značajni **u postavljanju dijagnoze sepse i značajni su prediktori komplikacija**.

3. Vrednosti biomarkera endotelne disfunkcije i pokazatelja poremećaja mehanizma hemostaze koje su statistički značajno povišene u odnosu na zdravu populaciju, kao i vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije koje su statistički značajno snižene u odnosu na zdravu populaciju su značajni **u proceni ishoda** obolelih od sepse.

### Ciljevi istraživanja:

1. Odrediti koncentraciju markera endotelne aktivacije, aktivacije koagulacije, aktivnost prirodnih inhibitora koagulacije i funkcionalnost fibrinolize kod obolelih od sepse u odnosu na njihove vrednosti u zdravoj populaciji.

2. Ispitati mogućnost upotrebe markera endotelne disfunkcije i pokazatelja poremećaja mehanizma hemostaze za postavljanje dijagnoze sepse i predikciju pojave komplikacija.

3. Ispitati mogućnost upotrebe markera endotelne disfunkcije i pokazatelja poremećaja mehanizma hemostaze za procenu ishoda kod obolelih od sepse.

### 3. ISPITANICI I METODE

Istraživanje je sprovedeno analitičkom metodom u formi studije preseka, a obuhvatilo je pacijente lečene na Odeljenju anestezije i reanimacije Urgentnog centra Kliničkog centra Vojvodine i na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine, u Novom Sadu. Istraživanje je sprovedeno tokom 2012. i 2013. godine u trajanju od dve godine.

Istraživanje je obuhvatilo osobe oba pola starije od 18 godina.

U studiju je bilo uključeno 180 ispitanika od kojih je 150 imalo postavljenu dijagnozu sepse prema definisanim kriterijumima za uključivanje u studiju. 30 ispitanika koji su činili kontrolnu grupu su klinički i biohemijski zdravi ispitanici, dobrovoljni davaoci krvi Zavoda za transfuziju krvi Vojvodine.

Svakom ispitaniku, ili njegovoj porodici ukoliko bolesnik nije bio u mogućnosti da svesno učestvuje u studiji zbog zdravstvenog stanja, su uzeti detaljni anamnestički podaci i objašnjen im je cilj istraživanja, proces dijagnostičke obrade i specifičnosti učešća ispitanika u istraživanju.

Na osnovu anamnestičkih podataka, podataka iz istorije bolesti, druge medicinske dokumentacije, kao i drugih pokazatelja kliničkog stanja, eliminisani su oni ispitanici koji ne odgovaraju u potpunosti kriterijumima za uključivanje u ispitivanje.

Saglasnost za učešće u studiji ispitanici, ili njihova porodica ukoliko nisu bili u stanju da svesno učestvuju u studiji zbog određenog zdravstvenog stanja, su overili svojim potpisom nakon pročitanoog teksta za informisanje ispitanika.

### 3.1. KRITERIJUMI ZA UKLJUČIVANJE U STUDIJU

#### 3.1.1. Bolesnici sa dijagnozom sepse

- Punoletni pacijenti oba pola lečeni na Odeljenju anestezije i reanimacije Urgentnog centra kliničkog centra Vojvodine ili na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine koji ispunjavaju kriterijume za postavljanje dijagnoze sepse unutar 24 časa od prijema u bolnicu, koji su dogovoreni od strane članova stručne ACCP/SCCM konsenzus konferencije o sepsi i insuficijenciji organa i revidirani na Internacionalnoj konferenciji za definisanje sepse 2001. i 2012. godine (3,15,16).

Sepsa se definiše kao prisustvo dokumentovane ili suspektne infekcije uz pozitivna dva ili više navedenih kriterijuma: telesna temperatura  $<36,0^{\circ}\text{C}$  i/ili  $>38,3^{\circ}\text{C}$ ; srčana frekvenca  $>90$  ili više za 2 SD od normalnih vrednosti za godine; respiratorna frekvenca  $>30$  u minuti; broj leukocita  $>12\ 000/\mu\text{l}$  ili  $<4\ 000/\mu\text{l}$  i/ili  $>10\%$  nezrelih oblika; prisustvo poremećaja stanja svesti; prisustvo signifikantnih edema; pozitivan bilans tečnosti; hiperglikemija u odsustvu diabetes melitusa: glikemija  $>120\ \text{mg/dl}$  ili  $7,7\ \text{mmol/l}$ ; arterijska hipotenzija: sistolni pritisak  $90\ \text{mm Hg}$ , medijalni arterijski pritisak  $70\ \text{mmHg}$ , ili pad sistolnog pritiska za  $40\ \text{mm Hg}$  kod odraslih ili za 2 SD u odnosu na referentni opseg za godine; akutna oligurija  $<0,5\ \text{ml/kg/h}$  tokom 2 h uprkos adekvatnoj nadoknadi tečnostima; porast kreatinina  $> 0,5\ \text{mg/dl}$  ili  $44,2\ \mu\text{mol/l}$ ; arterijska hipoksemija  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$ ; poremećaji koagulacije-INR  $> 1,5$  ili APTT  $> 60\text{s}$ ; Ileus (odsustvo peristaltike); trombocitopenija  $<100\ 000/\mu\text{l}$ ; hiperbilirubinemija  $>4\ \text{mg/dl}$  ili  $70\ \mu\text{mol/l}$ ; hiperlaktemija  $>1\ \text{mmol/l}$ ; smanjeno kapilarno punjenje.

- Bolesnici koji su dali pismeni pristanak za učešće u istraživanju (ili njihova porodica, ukoliko pacijenti nisu bili u mogućnosti da potpišu pristanak zbog određenog zdravstvenog stanja).

Kod svih bolesnika su evidentirani pol, uzrast, podaci o ranijim oboljenjima, upotrebi lekova i štetnim navikama (pušenje, alkoholizam, narkomanija), kao i o početku i manifestacijama aktuelnih tegoba.

Na prijemu su, u okviru rutinske dijagnostike kod sumnje na sepsu, određivane sledeće laboratorijske analize: kompletna krvna slika sa diferencijalnom krvom slikom; vrednost glikemije; koncentracije elektrolita- natrijuma i kalijuma u serumu; vrednost bilirubina (ukupni i direktni); vrednost uree i kreatinina; koncentracije alanin-amino transferaze i aspartat-amino transferaze, kao i gama-glutamil-peptidtransferaza; gasne analize arterijske krvi, kao i vrednosti CRP-a i PCT-a. Navedene laboratorijske analize su vršene u laboratoriji Urgentnog centra Kliničkog centra Vojvodine.

Fizikalnim pregledom, radiološkim dijagnostičkim procedurama, i laboratorijskim mikrobiološkim nalazima (uzorci su uzimani na prijemu u bolnicu) je, ukoliko je bilo moguće, identifikovano ishodište, kao i uzročnik sepse.

Mikrobiološka potvrda infekcije je verifikovana rezultatima biograma uzoraka telesnih tečnosti poslatih na analizu u Institut za javno zdravlje Vojvodine, ili PCR (*polimeraze chain reaction*) analizom- *SeptiFast* uzoraka krvi uzetih na prijemu u bolnicu.

U toku prvih 24 časa od prijema u bolnicu, nakon potpisanog pristanka za učešće u studiji, uzet je uzorak krvi za analize predviđene istraživanjem (5 ml venske krvi).

Takođe, u roku 24 časa od trenutka prijema, izračunati su prediktivni APACHE II i SOFA numerički pokazatelji procene težine bolesti ispitanika (24,25,99).

Ispitanici su kategorisani u četiri grupe u odnosu na kliničko stanje i laboratorijske nalaze unutar prvih 24 časa od prijema: bolesnici sa sepsom, teškom sepsom, septičkim šokom i multiorganskom disfunkcijom na prijemu. U određenu grupu, ispitanici su svrstavani prema smernicama datim od strane članova stručne ACCP/SCCM konsenzus konferencije o sepsi i insuficijenciji organa i revidirani na Internacionalnoj konferenciji za definisanje sepse 2001. i 2012. godine (3, 15, 16).

Teška sepsa je definisana kao sepsa udružena sa hipotenzijom ili disfunkcijom organa. U pokazatelje disfunkcije organa se ubrajaju: vrednosti laktata iznad referentnog opsega; poremećaj stanja svesti; diureza manja od 0,5 ml/kg/h u periodu dužem od 2 h uprkos adekvatnoj nadoknadi tečnostima; akutno oštećenje pluća- ALI (*Acute lung injury*): odnos PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> indeksa manji od 250 u odsustvu pneumonije kao izvora infekcije, odnosno manji od 200 ukoliko je pneumonija izvor infekcije; vrednost kreatinina veća od 2,0 mg/dl (176,8 μmol/l); vrednost bilirubin veća od 2mg/dl (34,2 μmol/l); broj trombocita manji od 100 000/μl; prisustvo koagulopatije (INR veći od 1,5) (3, 15, 16).

Septički šok je definisan kao hipotenzija koja je sepsom indukovana, uprkos adekvatnoj nadoknadi cirkulatornog volumena, odnosno stanje koje je praćeno laktatnom acidozom ili hipoperfuzijom organa, a koje se ne može poboljšati intravenskom nadoknadom tečnosti.

MODS je definisan kao prisustvo insuficijencije dva ili više organskih sistema, čija se homeostaza ne može održati primenom interventnih postupaka, prema prethodno navedenim kriterijumima disfunkcije organa u sepsi.

U toku 48 časova od prijema, bolesnici koji nisu imali MODS na prijemu su intenzivno praćeni u cilju evidentiranja razvoja multiorganske disfunkcije, dok su bolesnici koji su imali MODS praćeni radi evidentiranja perzistiranja ili eventualne rezolucije MODS-a.

Zdravstveno stanje bolesnika je praćeno tokom 28 dana od trenutka uključivanja u studiju i nakon tog perioda je evidentiran ishod lećenja u smislu preživljavanja ili smrtnog ishoda.

### **3.1.2. Kontrolna grupa- zdravi ispitanici**

- Osobe oba pola, starosti od 18 do 55 godina
- Klinički i biohemijski zdravi ispitanici, dobrovoljni davaoci krvi Zavoda za transfuziju krvi Vojvodine
- Nepušači
- Ispitanici koji su nakon detaljnog upoznavanja sa ciljem i načinom izvođenja studije dali pismeni pristanak za učešće u istraživanju

## **3.2. KRITERIJUMI ZA NEUKLJUČIVANJE U STUDIJU**

### **3.2.1. Bolesnici sa sepsom**

- Politraumatizovani bolesnici
- Bolesnici u hemoragijskom šoku
- Pacijenti sa pridruženom malignom bolešću
- Bolesnici sa jetrenom insuficijencijom
- Trudnice
- Pacijenti sa srčanom insuficijencijom
- Pacijenti koji boluju od različitih formi naslednih i autoimunih koagulopatija



- Bolesnici koji primaju antikoagulantnu terapiju ili peroralnu terapiju antagonistima vitamina K (osim pacijenata koji primaju minimalne profilaktičke doze niskomolekularnih heparina (*nadroparin* 0,3ml/24h) kod kojih se krv uzorkuje 12 časova nakon aplikacije leka)
- Ispitanici koji ne potpišu pristanak
- Pacijenti sa opekotinama i sa dijagnozom pankreatitisa

### **3.2.2. Zdravi ispitanici**

- Ispitanici koji ne potpišu pristanak

## **3.3. LABORATORIJSKE ANALIZE POREMEĆAJA HEMOSTAZE I ENDOTELNE AKTIVACIJE**

Nakon zadovoljenja kriterijuma za uključivanje, bolesnicima je urađena venepunkcija kubitalne vene iglom 21 G i uzorci venske krvi (5ml) su uzimani u epruvete sa 3,2% natrijum- citratom. Nakon toga, unutar 2h od uzorkovanja, uzorci su centrifugirani 10 minuta na sobnoj temperaturi brzinom 4000 obrtaja u minuti, na aparatu *Nuve NF800*. Uzorci su potom zamrzavani na -70 C do momenta analize uzoraka (u proseku 6-9 meseci).

U okviru istraživanja, u Centru za laboratorijsku medicinu, na Odeljenju za trombozu, hemostazu i hematološku dijagnostiku Kliničkog centra Vojvodine, urađene su sledeće analize u cilju identifikacije i određivanja stepena poremećaja mehanizma hemostaze i aktivacije endotela u sepsi:

- Protrombinsko vreme (PT), trombinsko vreme (TT) i aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme (APTT) su određivani koagulacionom metodom IL-ovim reagensima (*Instrumentation Laboratory Milan, Italia*) na ACL 9000 aparatima
- Koncentracije fibrinogena određivana je koagulacionom metodom po *Clauss-u*, na ACL 9000 analizatoru uz korišćenje komercijalnih setova firme IL (*Instrumentation Laboratory Milan, Italia*)
- vWF- aktivnost i antigen i D-dimer su određivati *Latex-Immunoassay* metodologijom uz korišćenje IL-ovih reagenasa (*Instrumentation Laboratory Milan, Italia*)
- Nivo AT, PC i PS su određivani IL-ovim reagensima (*Instrumentation Laboratory Milan, Italia*) na ACL 9000 analizatoru
- Euglobulinsko vreme lize koaguluma je određivano manuelno tokom inkubacije na 37°C u vodenom kupatilu
- Endogeni trombinski potencijal (ETP) je određivan metodom sa hromogenim supstratom na aparatu *SIEMENS BCS XP*.

U laboratoriji Klinike za infektivne bolesti, Kliničkog centra Vojvodine su ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) metodom određene koncentracije:

- Specifičnog molekula endotelnih ćelija 1 (endokana) pomoću komercijalnog ELISA kita- *USCN Life Sciens, USA*, prema specifikaciji proizvođača, a vrednosti su izražene u ng/ml.
- Trombomodulina- pomoću komercijalnog ELISA kita- *Human Thrombomodulin/BDCA-3, R&D Systems*, prema specifikaciji proizvođača, a vrednosti su izražene u ng/ml.

### 3.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Za potrebe studije je kreirana posebna baza podataka u koju su bili unošeni podaci za svakog ispitanika (pol, godine, vrednost APACHE II i SOFA skora, težina kliničke slike sepse na prijemu, razvoj MODS-a u toku prvih 48 časova u bolnicu, razvoj organske disfunkcije bilo kog sistema organa u toku prvih 48 časova od prijema u bolnicu, prethodne bolesti, primarno ishodište sepse, da li je sepsa potvrđena mikrobiološki ili klinički, uzročnici sepse izolovani iz telesnih tečnosti, kao i broj trombocita, vrednosti APTT-a, PT-a, TT-a, D-dimera, fibrinogena, euglobulinskog vremena lize koaguluma, koncentracije PC, PS, AT, vWF, ETP-a, trombomodulina i endokana).

Statistička analiza je urađena pomoću *SPSS Statistics IBM 20,0* softvera. Podaci su predstavljani kao prosek ( $\bar{X}$ ), standardna devijacija (SD), 95% interval poverenja, najmanja vrednost (Min), najveća vrednost (Max), medijana sa interkvartilnim rasponom, broj (n) i procenat (%) u zavisnosti od vrste podataka.

Razlike među grupama zdravih i bolesnih, bolesnika sa razvojem MODS-a u prvih 48 časova i bolesnika kod kojih nije došlo do razvoja MODS-a, kao razlike između grupa preživelih i umrlih su procenjivane pomoću Man Vitnjevog U testa. Ukoliko je distribucija zavisnih varijabli bila normalna, za procenu razika među grupama upotrebljavan je t-test nezavisnih uzoraka.

Razlike između grupa pacijenata obolelih od sepse, teške sepse, septičkog šoka i MODS-a analizirane su pomoću jednofaktorske analize varijanse (ANOVA) ukoliko je raspodela varijabli bila normalna, odnosno pomoću Kruskal Volisovog testa za nenormalnu distribuciju varijabli.

Analiza kovarijanse (ANCOVA) je korišćena za istraživanje razlika između grupa kada se ukloni uticaj određene varijable.

Povezanosti među grupama ispitanika za kategorijalne podatke su procenjivane  $\chi^2$  testom nezavisnosti.

Procena prognostičke vrednosti ispitivanih biomarkera u cilju predviđanja preživljavanja i razvoja MODS-a u prvih 48 časova, kao i predviđanja ishoda u toku 28 dana od početka hospitalizacije je procenjivana upotrebom binarne logističke regresije.

Takođe, konstruisane su ROC krive (*Receiver operating characteristic*) u cilju procene pojedinačnih biomarkera kao prediktora razvoja MODS-a tokom prvih 48 časova i smrtnog ishoda unutar 28 dana od početka hospitalizacije. Određivana je površina ispod krive- AUC.

Nivo statističke značajnosti p, je tumačen kao statistički značajan ukoliko su vrednosti **p < 0,05**.

## **4. REZULTATI**

### **4.1. DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ MARKERA DISFUNKCIJE ENDOTELA I POREMEĆAJA MEHANIZMA HEMOSTAZE U SEPSI**

#### **4.1.1. Demografski podaci ispitanika u grupi bolesnika sa sepsom i kontrolnoj grupi zdravih ispitanika**

Istraživanjem je obuhvaćeno ukupno 180 ispitanika. 150 ispitanika su činili bolesnici sa postavljenom dijagnozom sepse, prema prethodno definisanim kriterijumima, dok je 30 ispitanika predstavljalo kontrolnu grupu, klinički i biohemijski zdravih ispitanika.

Demografski podaci ispitanika su predstavljeni u Tabeli 2.

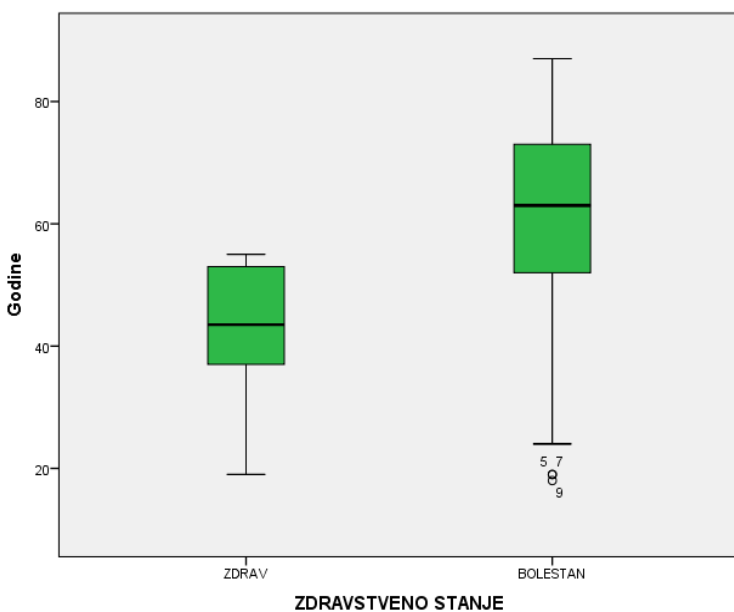
Tabela 2. Demografski podaci zdravih ispitanika i bolesnika sa sepsom

Grupa	Bolesnici sa sepsom n (150) ili $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	Zdravi ispitanici n (30) ili $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	Statistička značajnost P
Pol (n): muški/ženski*	89/61	22/8	0,21
Godine života**	60,15±16,44 (18-87)	43,53±10,23 (19-55)	<b><u>0,00</u></b>

\*-  $\chi^2$  test nezavisnosti, \*\*-Man Vitnijev test

Podaci iz tabele 2. pokazuju da prilikom analize polne strukture nije zabeležena statistički značajna razlika između grupe obolelih od sepse i kontrolne grupe ( $\chi^2=1,52$ ,  $p=0,21$ ). U obe grupe su brojniji bili ispitanici muškog pola- 59,33% u grupi obolelih od sepse, a 73,33% u ispitivanoj kontrolnoj grupi. Man Vitnijevim testom je utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa bolesnih i zdravih u odnosu na godine života ( $U=817,5$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-5,5$ ;  $r=0,41$ ).

Grafikon 1. Raspodela vrednosti godina života u grupama bolesnika sa sepsom i zdravih ispitanika



Vrednost medijane za godine života obolelih od sepse iznosi 63, a interkvartilni raspon 21, dok u ispitivanoj kontrolnoj grupi medijana iznosi 43,5, a interkvartilni raspon 16. Negativne vrednosti asimetrije zabeležene u obe grupe prikazuju da su ispitanici u obe grupe većinom imali više godina od proseka, što se može videti na Grafikonu 1.

#### 4.1.2. Osnovni pokazatelji funkcije mehanizma hemostaze u grupi bolesnika sa sepsom i u kontrolnoj grupi zdravih ispitanika

Tabela 3. Vrednosti osnovnih pokazatelja hemostaze u grupi bolesnika sa sepsom i u kontrolnoj grupi zdravih ispitanika

Parametar \ Grupa	Bolesnici sa sepsom n (150) ili ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min-Max)	Zdravi ispitanici n (30) ili ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min-Max)	Statistička značajnost P
APTT (R)**	1,50 $\pm$ 0,64 (0,66-4,33)	1,04 $\pm$ 0,82 (0,89-1,19)	<b><u>0,00</u></b>
PT (R)**	1,69 $\pm$ 0,78 (0,88-5,44)	1,00 $\pm$ 0,70 (0,92-1,15)	<b><u>0,00</u></b>
TT (R)**	0,89 $\pm$ 1,94 (0,66-2,50)	0,91 $\pm$ 0,36 (0,85-1,00)	<b><u>0,00</u></b>
D-dimer (ng/ml)**	2775,65 $\pm$ 4375,2 (133-33000)	161,30 $\pm$ 79,68 (58-422)	<b><u>0,00</u></b>
Fibrinogen (g/l)***	5,10 $\pm$ 1,65 (0,83-11,38)	2,83 $\pm$ 0,45 (2-4,23)	<b><u>0,00</u></b>
Euglobulinsko vreme lize koaguluma (n): >120 min / <120 min*	140/10	30/0	0,15

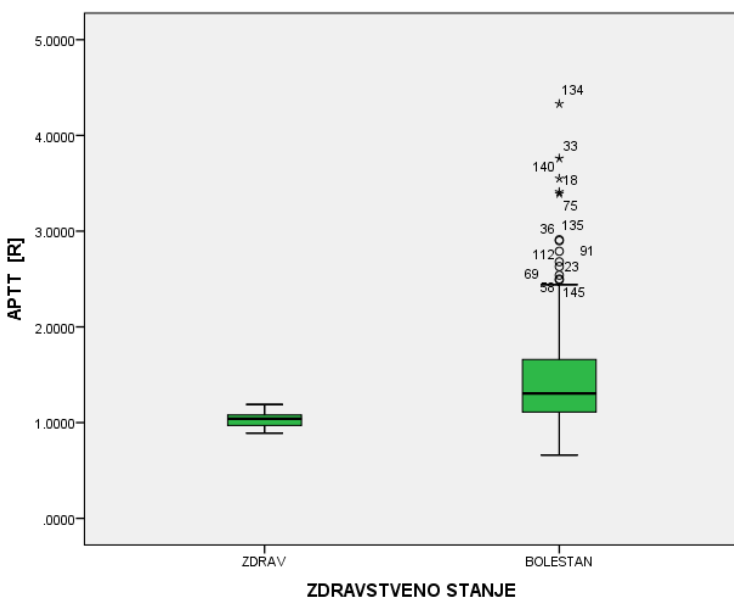
\*-  $\chi^2$  test nezavisnosti-Fišerov „ tačan pokazatelj verovatnoće“, \*\*-Man Vitnijev test, \*\*\*-T-test nezavisnih uzoraka



Podaci iz tabele 3. pokazuju da nije zabeležena statistički značajna razlika između grupe obolelih od sepse i kontrolne grupe prilikom analize euglobulinskog vremena lize koaguluma. U obe grupe kod većine ispitanika euglobulinsko vreme lize koaguluma je bilo duže od 120 minuta- kod 93,33% u grupi obolelih od sepse, a kod 100% ispitanika u kontrolnoj grupi ( $\chi^2=1,04$ ,  $p=0,15$ ).

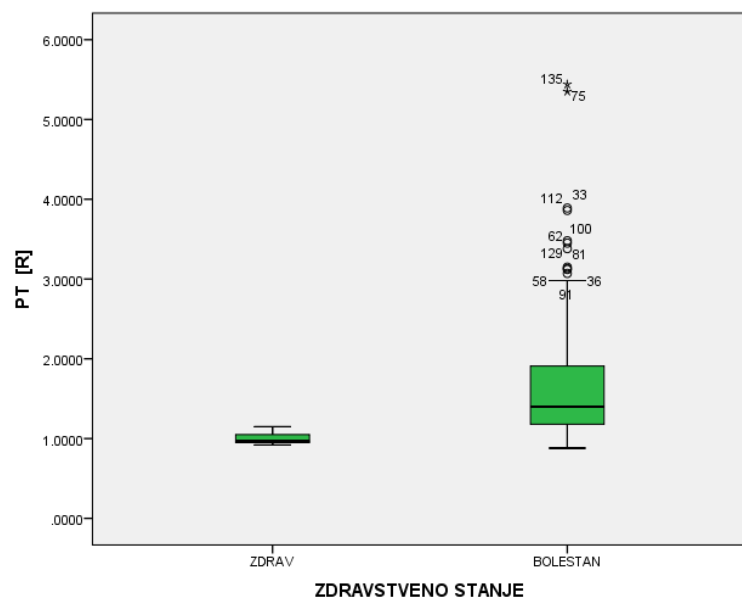
Man Vitnijevim testom je utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa bolesnih i zdravih u odnosu na vrednosti APTT-a ( $U=849,5$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-5,38$ ;  $r=0,4$ ), PT-a ( $U=199,0$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-7,87$ ;  $r=0,58$ ), TT-a ( $U=1473,5$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-2,98$ ;  $r=0,22$ ) i koncentracije D-dimera ( $U=21$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-8,56$ ;  $r=0,64$ ). Razlike među grupama za vrednosti fibrinogena su procenjivane T-testom nezavisnosti, i takođe je utvrđeno da je koncentracija fibrinogena značajno bila povišena kod obolelih od sepse u odnosu na zdravu populaciju ( $t=162,44$ ;  $p=0,00$ ; prosečna razlika  $-2,27$ ; 95% interval poverenja  $-2,58, -1,95$ ). Vrednosti APTT-a i PT-a su u grupi obolelih od sepse bila statistički značajno više u odnosu na kontrolnu grupu, dok je vrednost TT-a bila značajno niža u grupi obolelih od sepse u odnosu na zdrave ispitanike. Koncentracije fibrinogena i D-dimera su takođe bile statistički značajno više kod bolesnika sa sepsom u odnosu na vrednosti u zdravoj populaciji.

Grafikon 2. Raspodela vrednosti APTT-a u grupama bolesnika sa sepsom i zdravih ispitanika



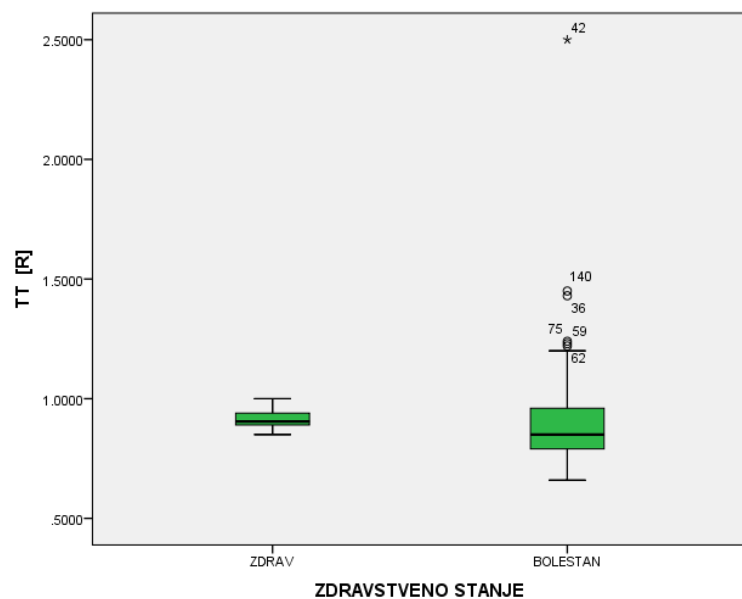
Vrednost medijane APTT-a (R) kod obolelih od sepse iznosi 1,30, a interkvartilni raspon 0,56, dok u ispitivanoj kontrolnoj grupi medijana iznosi 1,04 , a interkvartilni raspon 0,11. Na grafikonu 2. se može uočiti normalna raspodela vrednosti APTT-a u zdravoj populaciji, dok kod obolelih od sepse raspodela pokazuje pozitivnu asimetriju. Na ovom grafikonu se može videti da su pojedini bolesnici takođe imali ekstremno produženoj APTT.

Grafikon 3. Raspodela vrednosti PT-a u grupama bolesnika sa sepsom i zdravih ispitanika



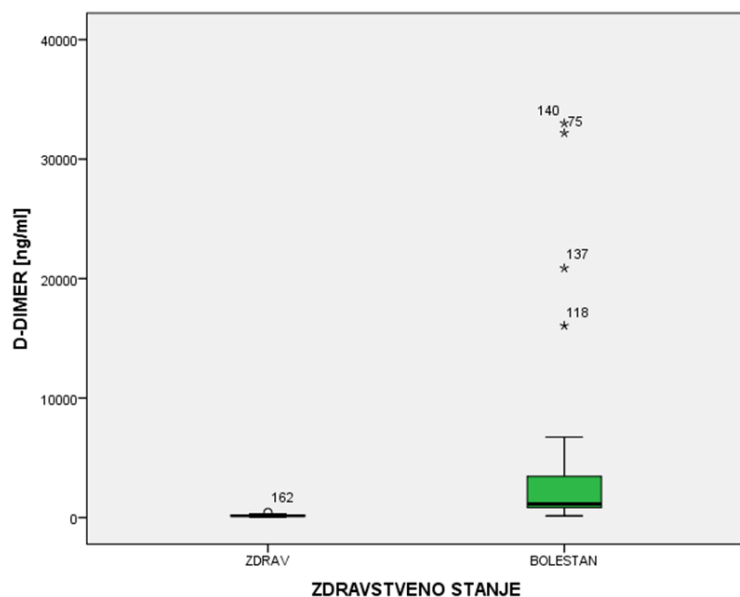
Vrednost medijane PT-a (R) kod obolelih od sepse iznosi 1,40, a interkvartilni raspon 0,73, dok u ispitivanoj kontrolnoj grupi medijana iznosi 0,96 , a interkvartilni raspon 0,10. Na grafikonu 3. se može uočiti da raspodela vrednosti PT-a i u zdravoj populaciji i kod obolelih od sepse pokazuje pozitivnu asimetriju, što znači da je veći broj ispitanika imao kraći PT od proseka. Na ovom grafikonu je uočljivo, kao i za vrednoati APPT-a, da su pojedini bolesnici imali ekstremno visoke vrednosti PT-a.

Grafikon 4. Raspodela vrednosti TT-a u grupama bolesnika sa sepsom i zdravih ispitanika



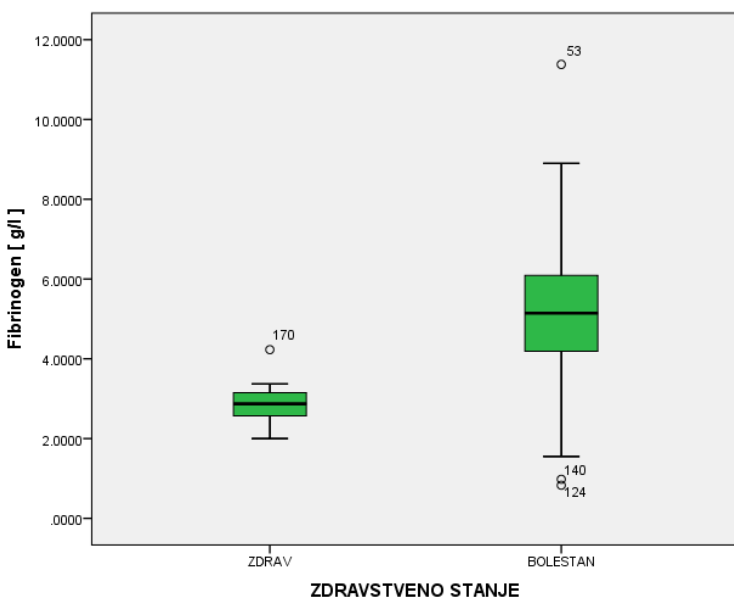
Vrednost medijane TT-a (R) kod obolelih od sepse iznosi 0,85 , a interkvartilni raspon 0,17, dok u ispitivanoj kontrolnoj grupi zdravih ispitanika medijana iznosi 0,90, a interkvartilni raspon 0,50. Na grafikonu 4. se može uočiti da raspodela vrednosti TT-a i u zdravoj populaciji i kod obolelih od sepse pokazuje pozitivnu asimetriju, što znači da je veći broj ispitanika imao kraći TT od proseka. Na ovom grafikonu takođe, kao i za vrednosti APPT-a i PT-a vidimo da su pojedini bolesnici takođe imali ekstremno produženo TT.

Grafikon 5. Raspodela vrednosti D-dimera u grupama bolesnika sa sepsom i zdravih ispitanika



Na grafikonu 5. se može uočiti normalna raspodela vrednosti D-dimera u zdravoj populaciji, dok kod obolelih od sepse raspodela pokazuje pozitivnu asimetriju, što znači da je veći broj bolesnika imao niže koncentracije D-dimera od proseka. Na ovom grafikonu se može videti da su pojedini bolesnici imali ekstremno visoke vrednosti D-dimera. Vrednost medijane D-dimera (ng/ml) kod obolelih od sepse iznosi 1127,0, a interkvartilni raspon 2627,0, dok u ispitivanoj kontrolnoj grupi medijana iznosi 147,5, a interkvartilni raspon 109.

Grafikon 6. Raspodela vrednosti fibrinogena u grupama bolesnika sa sepsom i zdravih ispitanika



Na grafikonu 6. se može uočiti normalna raspodela vrednosti fibrinogena u zdravoj populaciji i u populaciji bolesnika sa sepsom. Vrednost medijane fibrinogena (g/l) kod obolelih od sepse iznosi 5,10, a interkvartilni raspon 1,90, dok u ispitivanoj kontrolnoj grupi medijana iznosi 2,87, a interkvartilni raspon 0,58.

### 4.1.3. Vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije i trombomodulina u grupi bolesnika sa sepsom i u kontrolnoj grupi zdravih ispitanika

Tabela 4. Vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije (AT, PC i PS) u grupi bolesnika sa sepsom i u kontrolnoj grupi zdravih ispitanika:

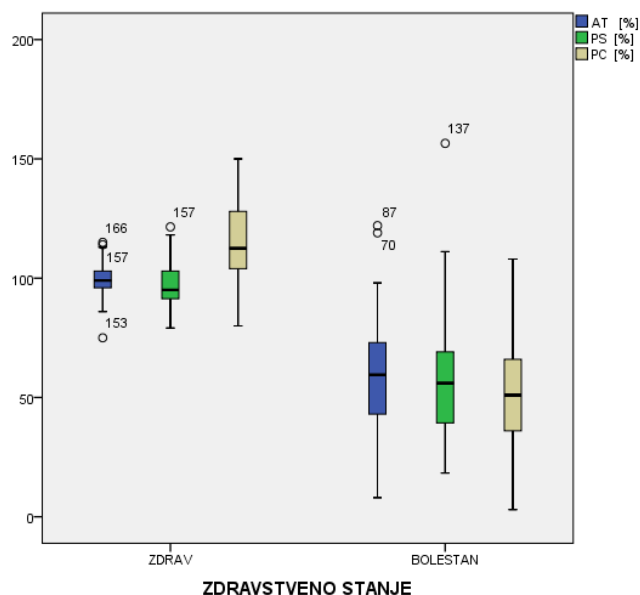
Parametar \ Grupa	Bolesnici sa sepsom n (150) $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	Zdravi ispitanici n (30) $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	Statistička značajnost p
AT (%)*	58,79±21,20 (8-122)	99,23±8,34 (75-115)	<b><u>0,00</u></b>
PC (%)**	50,94±21,86 (3-108)	113,7±16,07 (80-150)	<b><u>0,00</u></b>
PS (%)**	57,66± 23,10(18,30-156,50)	97,93±10,57 (79,10-121,5)	<b><u>0,00</u></b>

\*T-test nezavisnih uzoraka, \*\*-Man Vitnijev test

Podaci iz tabele 4. pokazuju da je zabeležena statistički značajna razlika između grupe obolelih od sepse i kontrolne grupe prilikom analize vredosti prirodnih antikoagulanasa. Razlike među grupama za vrednosti AT su procenjivane T-testom nezavisnosti i utvrđeno je da je koncentracija AT značajno bila snižena kod obolelih od sepse u odnosu na zdravu populaciju ( $t(114,89)=17,54$ ,  $p=0,00$ ; prosečna razlika =40,44; 95% interval poverenja 35,87-45).

Man Vitnijevim testom je utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa bolesnih i zdravih u odnosu na vrednosti PC ( $U=48,5$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-8,45$ ;  $r=0,63$ ), PS ( $U=323$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-7,40$ ;  $r=0,5$ ).

Grafikon 7. Raspodela vrednosti AT, PC i PS u grupama bolesnika sa sepsom i zdravih ispitanika



Na grafikonu 7. se može uočiti normalna raspodela vrednosti AT u zdravoj populaciji i u populaciji bolesnika sa sepsom. Vrednost medijane AT (%) kod obolelih od sepse iznosi 59,5, a interkvartilni raspon 21,2, dok u ispitivanoj kontrolnoj grupi medijana iznosi 99, a interkvartilni raspon 9. Takođe je prikazana normalna raspodela vrednosti PC u populaciji bolesnika sa sepsom, dok u zdravoj populaciji raspodela pokazuje diskretno pozitivnu asimetriju. Vrednost medijane PC(%) kod obolelih od sepse iznosi 51, a interkvartilni raspon 31, dok u ispitivanoj kontrolnoj grupi medijana iznosi 112,5, a interkvartilni raspon 9.

Vrednost medijane PS (%) kod obolelih od sepse iznosi 56, a interkvartilni raspon 30, dok u ispitivanoj kontrolnoj grupi medijana iznosi 95,1, a interkvartilni raspon 11,9. U grupi obolelih od sepse distribucija izmerenih vrednosti PS je normalna, dok je u grupi zdravih ispitanika pozitivno asimetrična.



#### 4.1.4. Vrednosti biomarkera endotelne aktivacije i ETP-a u grupi bolesnika sa sepsom i u kontrolnoj grupi zdravih ispitanika

Tabela 5. Vrednosti biomarkera endotelne aktivacije i ETP-a u grupi bolesnika sa sepsom i u kontrolnoj grupi zdravih ispitanika

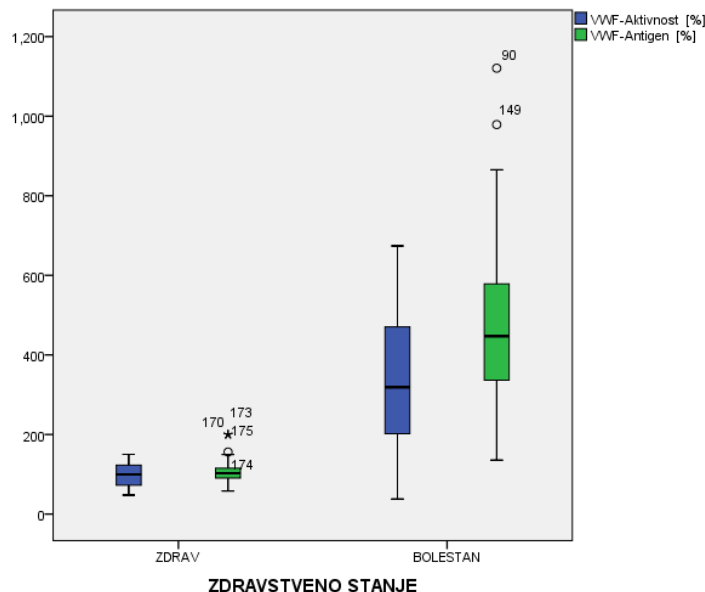
Grupa Parametar	Bolesnici sa sepsom n (150) $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	Zdravi ispitanici n (30) $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	Statistička značajnost p
vWF antigen (%)*	447,08± 164,24 (135,4-1120,5)	111,25±37,25 (58,1-199,8)	<b><u>0,00</u></b>
vWF aktivnost (%)*	339,29±167,63 (37,9-673,9)	100,06±31,25 (47,9-150,2)	<b><u>0,00</u></b>
Endokan (ng/ml)*	2,82±2,57 (0,37-10)	0,86±0,39 (0,25-2,05)	<b><u>0,00</u></b>
Trombomodulin (ng/ml)*	9,26±4,57 (3-24,50)	6,28±1,95 (3-12)	<b><u>0,00</u></b>
ETP (AUC%)*	77,37±34,52 (22-198)	87,80±12,14 (64-112)	<b><u>0,00</u></b>

\*-Man Vitnjev test

Podaci iz tabele 5. prikazuju da je zabeležena statistički značajna razlika između grupe bolesnika sa sepsom i zdravih ispitanika za vrednosti ispitivanih pokazatelja endotelne aktivacije (vWF aktivnosti i antigena, trombomodulina i endokana), kao i za vrednosti ETP-a. Man Vitnijevim testom je utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa bolesnih i

zdravih u odnosu na vrednosti vWF antigena ( $U=29,5$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-8,52$ ;  $r=0,63$ ), vWF aktivnosti ( $U=308$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-7,45$ ;  $r=0,55$ ), koncentracije endokana ( $U=686$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-6,00$ ;  $r=0,45$ ), koncentracije trombomodulina ( $U=1370$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-3,38$ ;  $r=0,25$ ) i ETP-a ( $U=1374$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-3,36$ ;  $r=0,25$ ).

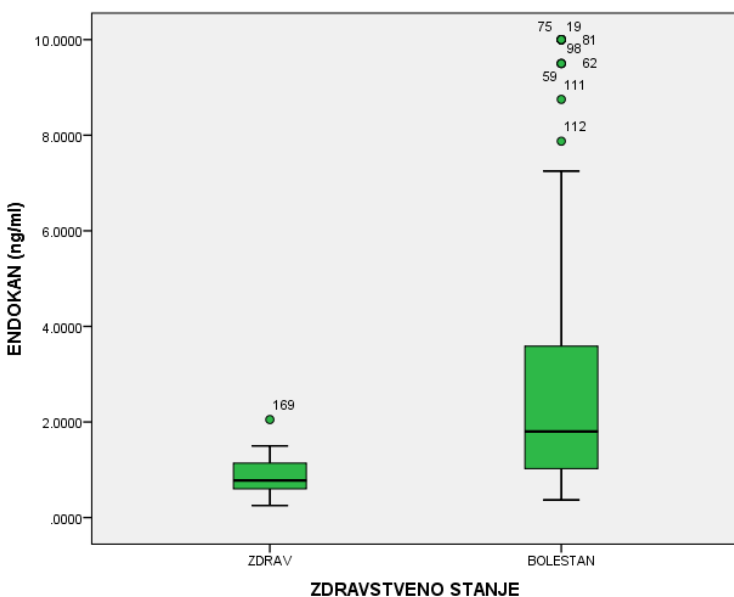
Grafikon 8. Raspodela vrednosti vWF antigena i aktivnosti u grupama bolesnika sa sepsom i zdravih ispitanika



Na grafikonu 8. se može uočiti normalna raspodela vrednosti aktivnosti vWF u zdravoj populaciji, dok je u populaciji bolesnika sa sepsom veoma diskretno pozitivno asimetrična. Vrednost medijane aktivnosti vWF (%) kod obolelih od sepse iznosi 318,95, a interkvartilni raspon 270,37, dok u ispitivanoj kontrolnoj grupi medijana iznosi 99, a interkvartilni raspon 51,5. Takođe je prikazana pozitivno asimetrična distribucija vrednosti vWF antigena (%) u obe ispitivane grupe. U grupi obolelih od sepse vrednosti vWF aktivnosti i antigena su statistički značajno više u odnosu na

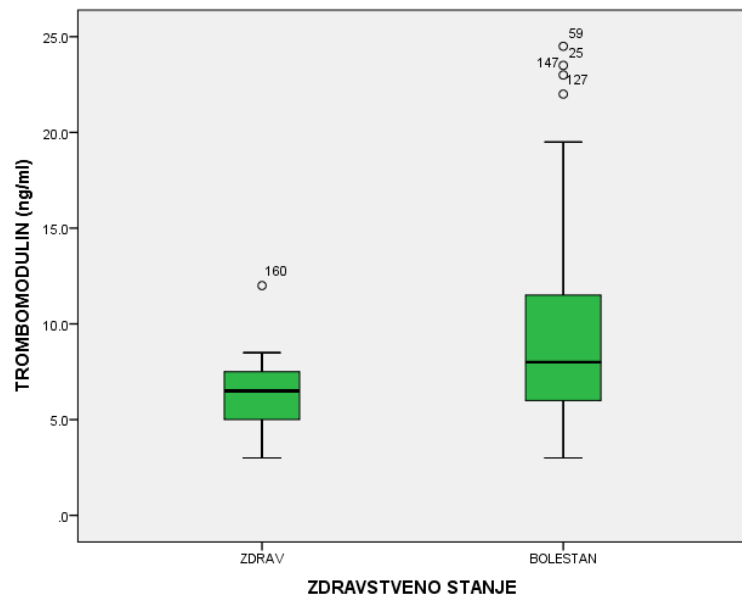
kontrolnu grupu zdravih ispitanika. Vrednost medijane vWF antigena (%) kod obolelih od sepse iznosi 447,15, a interkvartilni raspon 242,8, dok u ispitivanoj kontrolnoj grupi medijana iznosi 102,8, a interkvartilni raspon 27,2.

Grafikon 9. Raspodela vrednosti endokana u grupama bolesnika sa sepsom i zdravih ispitanika



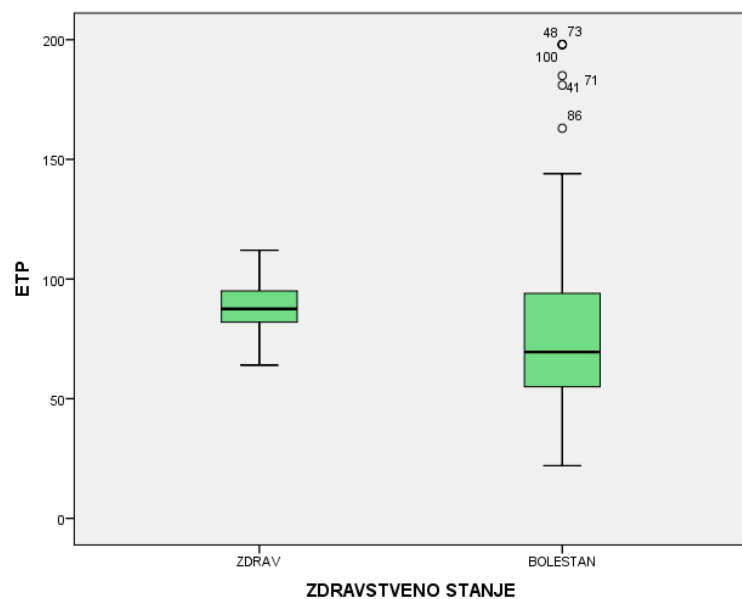
Na grafikonu 9. je prikazana raspodela vrednosti endokana, koja je i u zdravoj populaciji i kod obolelih pozitivno asimetrična, što znači da je veći broj ispitanika imao niže vrednosti od proseka. Na ovom grafikonu takođe je prikazano da su bolesnici sa sepsom imali statistički značajno povišene vrednosti endokana u odnosu na zdrave ispitanike, kao i da su pojedini bolesnici imali ekstremno visoke vrednosti endokana. Vrednost medijane endokana (ng/ml) kod obolelih od sepse iznosi 1,80, a interkvartilni raspon 2,58, dok u ispitivanoj kontrolnoj grupi medijana iznosi 0,77, a interkvartilni raspon 0,57.

Grafikon 10. Raspodela vrednosti trombomodulina u grupama bolesnika sa sepsom i zdravih ispitanika



Vrednost medijane trombomodulina (ng/ml) kod obolelih od sepse iznosi 8, a interkvartilni raspon 5,5, dok u ispitivanoj kontrolnoj grupi medijana iznosi 6,5, a interkvartilni raspon 2,6. U grupi zdravih ispitanika distribucija izmerenih vrednosti trombomodulina je normalna, dok je u grupi obolelih od sepse pozitivno asimetrična.

Grafikon 11. Raspodela vrednosti ETP-a (AUC%) u grupama bolesnika sa sepsom i zdravih ispitanika



Grafikon 11. prikazuje zabeleženu normalnu raspodelu vrednosti ETP-a u zdravoj populaciji, dok je u populaciji bolesnika sa sepsom distribucija ETP-a pozitivno asimetrična. Vrednost medijane ETP-a kod obolelih od sepse iznosi 69,5 , a interkvartilni raspon 40 , dok u ispitivanoj grupi zdravih ljudi medijana iznosi 87,5 a interkvartilni raspon 14. U grupi obolelih od sepse vrednosti ETP-a su statistički značajno niže u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika.

Tabela 6. Značaj uticaja ispitivanih parametara na zdravstveno stanje kada se ukloni uticaj rezultata starosti ispitanika

Ispitivani parametar	p	Parcijalni eta kvadrat	$\bar{X}$	Standardna greška	95% interval poverenj		Ispitivana grupa
					Min	Max	
APTT (R)*	p<0,05	0,087	0,99	0,11	0,77	1,22	Zdravi
			1,51	0,49	1,42	1,61	Bolesni
PT (R)*	p<0,05	0,124	0,93	0,14	0,66	1,20	Zdravi
			1,70	0,06	1,58	1,82	Bolesni
TT (R)*	0,25	0,008	0,93	0,035	0,86	1,0	Zdravi
			0,89	0,15	0,86	0,91	Bolesni
D-dimer (ng/ml)*	p<0,05	0,066	-189,91	776,23	-1721,76	1341,8	Zdravi
			2845,90	330,47	2193,73	3498,0	Bolesni
Fibrinogen (g/l)*	p<0,05	0,21	2,86	0,30	2,28	3,45	Zdravi
			5,10	0,13	4,85	5,34	Bolesni
AT (%)*	p<0,05	0,33	98,69	3,83	91,12	106,25	Zdravi
			58,90	1,63	55,68	62,12	Bolesni
PC (%)*	p<0,05	0,54	115,47	4,08	107,42	123,52	Zdravi
			50,59	1,74	47,16	54,01	Bolesni
PS (%)*	p<0,05	0,30	98,00	4,20	89,71	106,29	Zdravi

			57,65	1,79	54,12	61,18	Bolesni
Trombomodulin (ng/ml)*	p<0,05	0,035	6,85	0,82	5,23	8,46	Zdravi
			9,14	0,35	8,45	9,83	Bolesni
vWF antigen (%)*	p<0,05	0,35	126,17	29,25	68,46	183,89	Zdravi
			444,09	12,45	419,53	468,67	Bolesni
vWF aktivnost (%)*	p<0,05	0,22	101,46	29,99	42,28	160,63	Zdravi
			339,02	12,77	313,83	364,21	Bolesni
Endokan (ng/ml)*	p<0,05	0,086	0,76	0,46	-0,14	1,67	Zdravi
			2,83	0,20	2,45	3,22	Bolesni
ETP (AUC%)*	0,1	0,015	88,64	6,23	76,33	100,90	Zdravi
			77,21	2,65	71,97	82,44	Bolesni

\*-rezultati dobijeni jednofaktorskom analizom kovarijanse (ANCOVA)

U tabeli 6. su prikazani rezultati analize ANCOVA za ispitivane pokazatelje funkcije mehanizma hemostaze i endotelne aktivacije u grupama zdravih ispitanika i ispitanika sa sepsom kada se ukloni uticaj starosti ispitanika. Zabeležena je statistički značajna razlika između zdravih ispitanika i obolelih od sepse za vrednosti APTT-a, PT-a, D-dimera, fibrinogena, AT, PC, PS, trombomodulina, endokana, vWF antigena i aktivnosti, dok nije zabeležena statistički značajna razlika kada se ukloni uticaj godina za vrednosti TT-a i ETP-a. Parcijalnim eta kvadratom je prikazana veličina uticaja ispitivanih varijabli na zdravstveno stanje, a najjača veza je ustanovljena

između vrednosti PC, PS, AT, fibrinogena i vWF aktivnosti i antigena i zdravstvenog stanja ispitanika. Manji uticaj, ali svakako statistički značajan su imali i endokan, trombomodulin, APTT, PT i D-dimer. U tabeli 6. su takođe prikazane korigovane srednje vrednosti, sa vrednostima standardne greške i donjom i gornjom granicom 95% intervala poverenja, za ispitivane parametre u grupama zdravih ispitanika i ispitanika sa sepsom, kada je uticaj godina statistički uklonjen.

U cilju testiranja primene ispitivanih biomarkera, pokazatelja funkcije mehanizma hemostaze i endotelne aktivacije za razlikovanje zdravih ispitanika od obollih od sepse, konstruisali smo ROC krive za parametre koji su bili predmet istraživanja, a takođe smo izračunali i površinu ispod krive AUC za svaki ispitivani parametar.

Grafikon 12. i tabela 7. prikazuju ROC krive i AUC za osnovne pokazatelje funkcije mehanizma hemostaze- APTT, PT, TT, fibrinogen i D-dimer, na kojima se može uočiti da vrednosti D-dimera, a potom PT-a, APTT-a i fibrinogena imaju statistički značajnu i veoma visoku diskriminativnu sposobnost u poređenju grupa zdravih ispitanika i ispitanika obolelih od sepse. Vrednosti TT-a se nisu pokazale kao dobar diskriminativni faktor u poređenju bolesnika sa sepsom i zdravih ispitanika.



Grafikon 12. ROC kriva osnovnih pokazatelja funkcije mehanizma hemostaze za predviđanje zdravstvenog stanja ispitanika

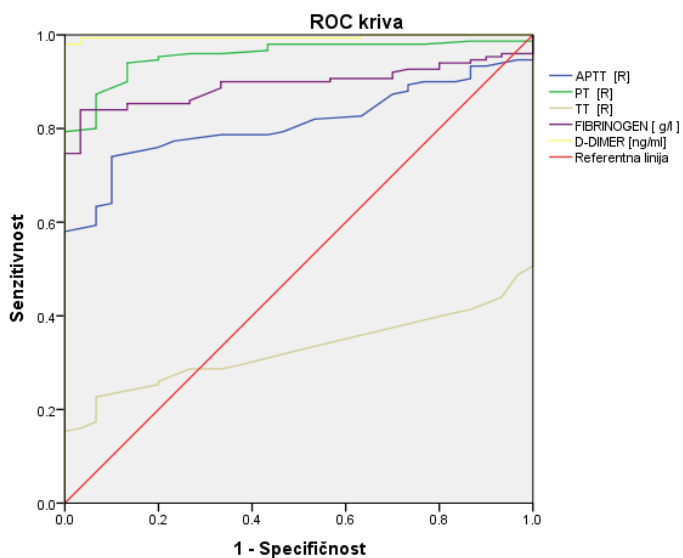


Tabela 7. Statistička značajnost i površina ispod (AUC) ROC krive osnovnih pokazatelja funkcije mehanizma hemostaze za predviđanje zdravstvenog stanja ispitanika (sepsa)

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)
APTT	<b><u>0,00</u></b>	0,81
PT	<b><u>0,00</u></b>	0,96
TT	<b><u>0,00</u></b>	0,33
Fibrinogen	<b><u>0,00</u></b>	0,89
D-dimer	<b><u>0,00</u></b>	0,99

Na grafikonu 13. i u tabeli 8. su prikazane ROC krive i AUC za prirodne inhibitore koagulacije: AT, PC, PS. Na navedenom grafikonu i u tabeli se može uočiti da vrednosti pre svega PC, a potom

i PS i AT imaju sttistički značajnu i veoma visoku sposobnost u razlikovanju grupa zdravih ispitanika i ispitanika sa sepsom. Niže vrednosti ispitivanih parametara upućuju na prisustvo oboljenja.

Grafikon 13. ROC kriva prirodnih inhibitora koagulacije za predviđanje zdravstvenog stanja ispitanika

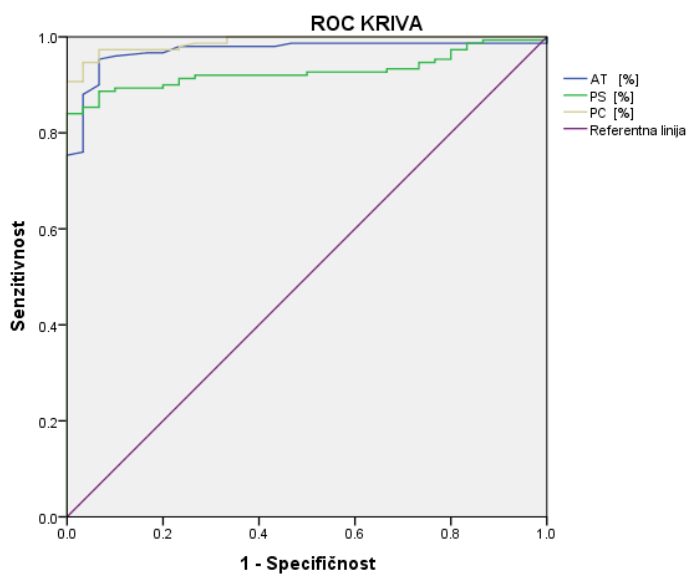


Tabela 8. Statistička značajnost i površina ispod (AUC) ROC krive prirodnih inhibitora koagulacije za predviđanje zdravstvenog stanja ispitanika (sepsa)

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)
AT	<b><u>0,00</u></b>	0,97
PC	<b><u>0,00</u></b>	0,99
PS	<b><u>0,00</u></b>	0,93

Grafikon 14. i Tabela 9. prikazuju ROC krive i AUC za osnovne pokazatelje aktivacije endotela, u koje se pored endokana i vWF aktivnosti i antigena, može uvrstiti i trombomodulin. ROC kriva, kao i AUC za vWF antigen i aktivnost pokazuju veoma izraženu statističku značajnost, kao i veoma visoku diskriminativnu sposobnost u poređenju grupe zdravih ispitanika i ispitanika obolelih od sepsa.

ROC kriva i AUC za endokan takođe pokazuje veoma visok stepen i statističku značajnost u poređenju grupe zdravih ispitanika i bolesnika sa sepsom, dok je vrednost AUC za trombomodulin u razlikovanju ispitivanih grupa bila nešto niža, mada i dalje statistički značajna, sa dobrim diskriminativnim potencijalom.

Grafikon 14. ROC pokazatelja aktivacije endotela za predviđanje zdravstvenog stanja ispitanika

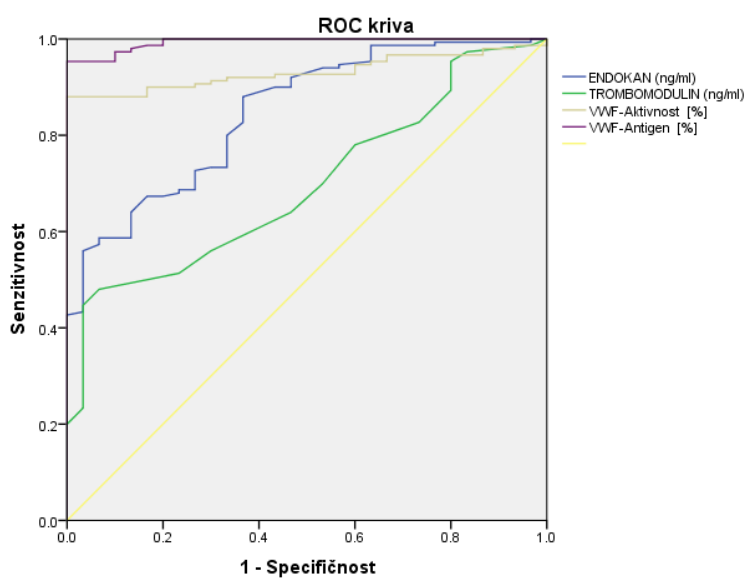


Tabela 9. Statistička značajnost i površina ispod (AUC) ROC krive pokazatelja aktivacije endotela za predviđanje zdravstvenog stanja ispitanika (sepsa)

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)
Endokan	<b><u>0,00</u></b>	0,85
Trombomodulin	<b><u>0,00</u></b>	0,7
vWF aktivnost	<b><u>0,00</u></b>	0,93
vWF antigen	<b><u>0,00</u></b>	0,99

## 4.2. PROGNOŠTIČKI ZNAČAJ MARKERA DISFUNKCIJE ENDOTELA I POREMEĆAJA MEHANIZMA HEMOSTAZE U SEPSI

### 4.2.1. Epidemiološke karakteristike bolesnika sa sepsom

Tabela 10. Epidemiološke karakteristike bolesnika sa sepsom

Vrsta sepse Parametar	Sepsa n(32) (21,33%) ili ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min-Max)	Teška sepsa n(69) (46%) ili ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min-Max)	Septički šok n (21) (14%) ili ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min-Max)	MODS n (28) (18,67%) ili ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min-Max)	Ukupno (%)	Statistička značajnost p
Pol:muški/ženski *	20/12	37/32	11/10	21/7	59,3%/40,7%	0,29
Godine života**	58 $\pm$ 18,35 (18-83)	61,29 $\pm$ 16,4 8 (19-87)	63,04 $\pm$ 18,0 9 (25-83)	57,61 $\pm$ 18,09 (25-83)	-	0,79
Potvrda žarišta: Klinička/Mikrobiološka*	22/10	44/25	15/6	16/12	64,7%/35,3%	0,71
Hemokulture: pozitivne	6/19/7	14/42/13	3/8/10	5/17/6	18,7%/57,3%/24%	0,26

/negativne/nije analizirano*						
Gram-negativne: da / ne *	8/24	13/56	3/18	5/23	19,3%/80,7%	0,82
Gram-pozitivne: da /ne *	2/30	12/57	3/18	7/21	16%/84%	0,25

\* $\chi^2$  test nezavisnosti, \*\*- Kruskal Volisov test

Prilikom analize polne strukture nije zabeležena statistički značajna razlika između različitih grupa pacijenata obolelih od sepse ( $\chi^2=4,33$ ,  $p=0,29$ ), a 59,3% ispitivanih bolesnika su bili muškarci, dok su 40,7% bile osobe ženskog pola. Kruskal Volisovim testom nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa pacijenata obolelih od sepse u odnosu na godine života ( $p=0,79$ ).

Od 150 bolesnika sa sepsom, kod 53 bolesnika (35,3%) žarište infekcije je bilo potvrđeno mikrobiološki, dok je kod 97 bolesnika (64,7%) dijagnoza infekcije postavljena klinički.

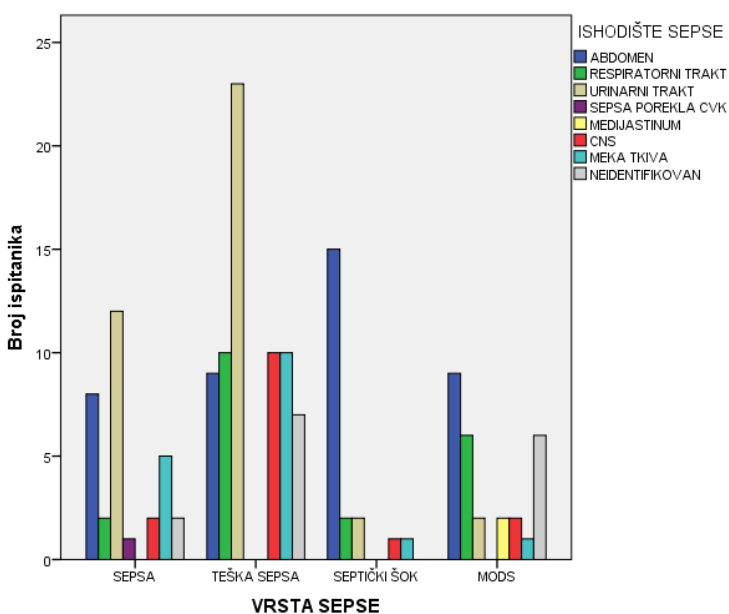
Hemokulture su bile pozitivne u 18,7% slučajeva, negativne u 57,3% slučajeva, a nisu analizirane u 24% slučajeva.

Gram-negativni uzročnici su izolovani u 19,3% slučajeva, dok su Gram-pozitivni uzročnici izolovani kod 16% ispitanika. Gljivice kao uzročnik sistemske infekcije nisu bile identifikovane.

Nije zabeležena statistički značajna veza između toga da li je žarište sepse bilo identifikovano klinički ili mikrobiološki i vrste sepse ( $\chi^2=1,37$ ,  $p=0,71$ ), kao ni između vrste sepse i identifikacije

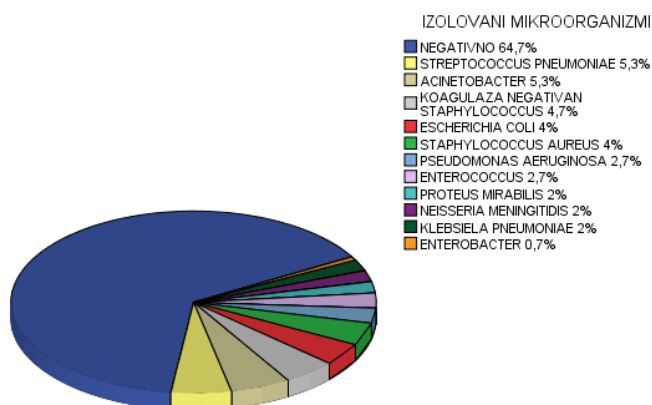
mikroorganizama iz hemokultura ( $\chi^2=7,69$ ,  $p=0,26$ ) ili između Gram-pozitivnih ( $\chi^2=4,1$ ,  $p=0,25$ ) i Gram-negativnih uzročnika i težine kliničke slike sepse na prijemu u bolnicu ( $\chi^2=1,05$ ,  $p=0,82$ ).

Grafikon 15. Primarno žarište- poreklo sepse u grupama ispitivanih bolesnika u odnosu na težinu kliničke slike sepse



Sepsa je najčešće bila posledica intraabdominalnih infekcija (uglavnom peritonitis)- u 27,3% slučajeva, koje su sledile urinarne infekcije (26%), respiratorne infekcije (13%), infekcije mekih tkiva (11%), infekcije centralnog nervnog sistema-CNS (10%), medijastinitisi (1,3%) i infekcije uzrokovane centralnim venskim kateterima-CVK (0,7%). Žarište infekcije je ostalo neidentifikovano u 10 % slučajeva.

Grafikon 16. Učestalost izolovanih mikroorganizama kod ispitivanih bolesnika



Nalazi biograma analiziranih telesnih tečnosti u 64,7% slučajeva nisu bili pozitivni u smislu identifikacije mikroorganizma, potencijalnog uzročnika sepse. Najčešće izolovan mikroorganizam iz kultura je bio *Streptococcus pneumoniae* i *Acinetobacter*-spp.(5,3%), koagulaza-negativan *Staphylococcus aureus* (4,7%), *Escherichia coli* (4%) i *Staphylococcus aureus* (4%). U manjem broju slučajeva su izolovani *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterococcus* (2,7%), *Proteus mirabilis*, *Neisseria meningitidis* i *Klebsiela pneumoniae* (3%). U najmanjem broju slučajeva je izolovan *Enterobacter* (0,7%). Nije zabeležena statistički značajna razlika između izolovanog uzročnika infekcije i kliničke slike sepse ( $\chi^2=38,34$ ,  $p=0,24$ ).

Takođe, nije zabeležena statistički značajna razlika između preživelih i umrlih u odnosu na to da li je infekcija bila izazvana Gram-pozitivnim ( $\chi^2=4,62$ ,  $p=0,06$ ) ili Gram-negativnim mikroorganizmima ( $\chi^2=0,24$ ,  $p=0,82$ ). Grupe bolesnika koje su imale smrtan ishod se nisu



statistički značajno razlikovale od pacijenata koji su imali povoljan ishod sepse u odnosu na to koji mikroorganizam je bio uzročnik sepse ( $\chi^2=13,32$ ,  $p=0,27$ ).

#### 4.2.2. Opšte karakteristike bolesnika sa sepsom

Tabela 11. Opšte karakteristike bolesnika sa sepsom

Vrsta sepse  Parametar	Sepsa	Teška sepsa	Septički šok	MODS	Statistička značajnost  p
	n (32)  (21,33%) ili  ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD  (Min-Max)	n (69)  (46%) ili  ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD  (Min-Max)	n (21)  (14%) ili  ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD  (Min-Max)	n (28)  (18,67%) ili  ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD  (Min-Max)	
APACHE II**	8,03 $\pm$ 3,73  (3-15)	14,55 $\pm$ 5,56  (5-32)	15,47 $\pm$ 4,41  (7-24)	23,71 $\pm$ 8,28  (12-44)	<b>0,00</b>
SOFA**	2,16 $\pm$ 1,44  (0-7)	4,83 $\pm$ 2,04 (1- 10)	7,33 $\pm$ 2,24 (4- 11)	10,82 $\pm$ 3,72 (4- 19)	<b>0,00</b>
PCT (ng/ml)**	36,58 $\pm$ 73,59  (0,5-270)	57,24 $\pm$ 119,17  (0,5-611,50)	77,57 $\pm$ 84,29  (1,76-365,8)	69,59 $\pm$ 101,21  (0,56-468,7)	<b>0,00</b>
CRP (mg/l)**	198,3 $\pm$ 68,3  (65,7-354,0)	228,27 $\pm$ 91,05  (6,80-477,30)	210,43 $\pm$ 84,29  (60,9-337,8)	257,74 $\pm$ 143,94  (30-730)	0,19
Broj leukocita ( $\times 10^9/l$ )**	15,47 $\pm$ 9,58  (2,63-44,9)	17,09 $\pm$ 12,65  (0,6-72)	10,68 $\pm$ 7,20  (1,20-27,61)	18,03 $\pm$ 16,9  (1,60-81,5)	0,07

Broj komorbiditeta**	1,12±1,01(0-4)	1,07±1,03 (0-4)	0,86±1,01 (0-3)	1,07±0,86 (0-3)	0,70
Dan prijema**	2,87±2,18 (1-10)	3,83± 3,20(1-20)	2,19±1,75 (1-7)	2,71±1,18 (1-5)	<b><u>0,02</u></b>
Dužina hospitalizacije**	13,94±8,8 (3-42)	15±7,99 (1-38)	18,10±13,90 (1-49)	17,03±16,76 (1-56)	0,47
MODS u prvih 48 h:da/ne (40%/60%)*	0/32 (0%)	19/50 (27,5%)	13/8 (61,9%)	28/0 (100%)	<b><u>0,00</u></b>
Mortalitet: da/ne (31,3%/68,7%)*	1/31 (3,1%)	17/52 (24,6%)	9/12 (42,9%)	20/8 (71,4%)	<b><u>0,00</u></b>

\*-  $\chi^2$  test nezavisnosti, \*\* Kruskal Volisov test

Podaci iz tabele 11. pokazuju da je Kruskal Volisovim testom zabeležena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa za vrednosti APACHE II skora na prijemu, odnosno u ispitivanim grupama bolesnici sa težom kliničkom slikom na prijemu su imali značajno više vrednosti APACHE II skora ( $p=0,00$ ).

Takođe, KruskalVolisovim testom je zabeležena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa u odnosu na težinu kliničke slike sepse na prijemu u bolnicu ( $p=0,00$ ), u odnosu na vrednosti SOFA skora. Grupe bolesnika sa težom kliničkom slikom sepse na prijemu u bolnicu su imale statistički značajno više vrednosti SOFA skora.

Vrednosti PCT-a su bile statistički značajno povišene u grupama bolesnika sa težom kliničkom slikom sepse na prijemu u bolnicu (Kruskal Volisov test,  $p=0,00$ ), osim u grupi kod bolesnika sa

MODS-om, kod kojih je vrednost koncentracije PCT-a bila statistički značajno povišena u odnosu na grupu ispitanika sa sepsom i teškom sepsom. Iako su vrednosti PCT-a bile niže u grupi bolesnika sa MODS-om u odnosu na grupu bolesnika koji su imali septički šok na prijemu u bolnicu Man-Vitnijevim testom nije utvrđena statistički značajna razlika između vrednosti PCT-a u grupama ispitanika sa septičkim šokom i MODS-om na prijemu ( $p=0,49$ ). Među ostalim ispitivanim grupama u međusobnom poređenju postoji statistički značajna razlika (sepsa-teška sepsa:  $U=707,5$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-2,89$ ;  $r=0,24$ ; sepsa-septički šok:  $U=165$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-3,11$ ;  $r=0,25$ ; sepsa-MODS:  $U=244$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-3,02$ ;  $r=0,25$ ; teška sepsa-septički šok:  $U=506$ ;  $p=0,04$ ;  $z=-2,08$ ;  $r=0,17$ ).

Kruskal Volisovim testom nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike za vrednosti CRP-a i leukocita među ispitivanim grupama ( $p=0,19$  i  $0,07$  sledstveno).

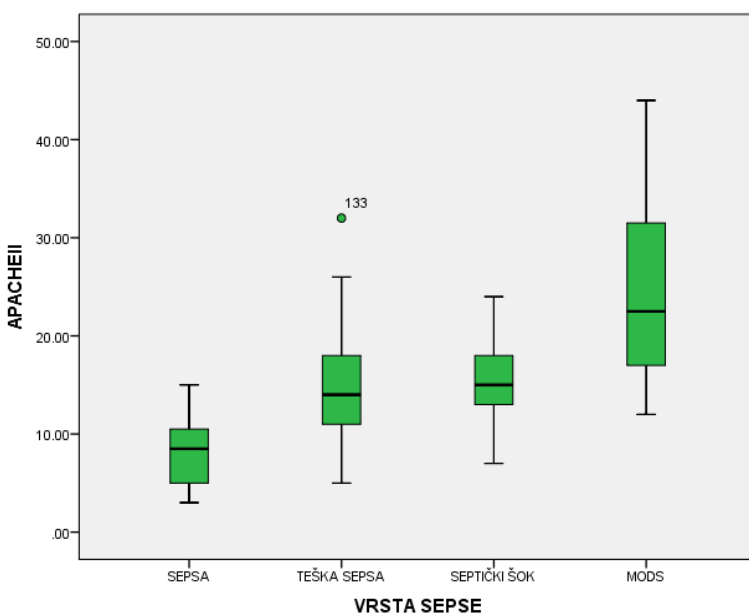
Kruskal Volisovim testom nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa pacijenata obolelih od sepse u odnosu na broj komorbiditeta ( $p=0,7$ ).

U tabeli 11. se takođe može uočiti da je dan prijema u bolnicu od pojave prvih simptoma bolesti bio značajan statistički parametar u odnosu na kliničku sliku sepse na prijemu (Kruskal Volisov test,  $p=0,02$ ). Detaljnijom analizom zabeleženo je da je statistička značajnost ove razlike među grupama dobijena zahvaljujući razlici između grupe sa teškom sepsom na prijemu u odnosu na grupu sa septičkim šokom na prijemu ( $U=419,5$ ,  $p=0,03$ ,  $z=-2,97$ ,  $r=0,24$ ), dok među ostalim grupama ispitanika nije zabeležena statistički značajna razlika.

Kruskal Volisovim testom nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa pacijenata obolelih od sepse u odnosu na dužinu hospitalizacije ( $p=0,47$ ).

$\chi^2$  testom je zabeležena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa pacijenata u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu u bolnicu, u smislu razvoja ili perzistiranja MODS-a u toku prvih 48 časova, a ukupno 40 % bolesnika je imalo zabeležen MODS u prvih 48 h hospitalizacije ( $\chi^2 = 71,99$  p=0,00). Zabeležena je statistički značajna razlika između ispitivanih grupa bolesnika u odnosu na razvoj mortaliteta tokom 28 dana hospitalizacije ( $\chi^2 = 35,49$ , p=0,00).

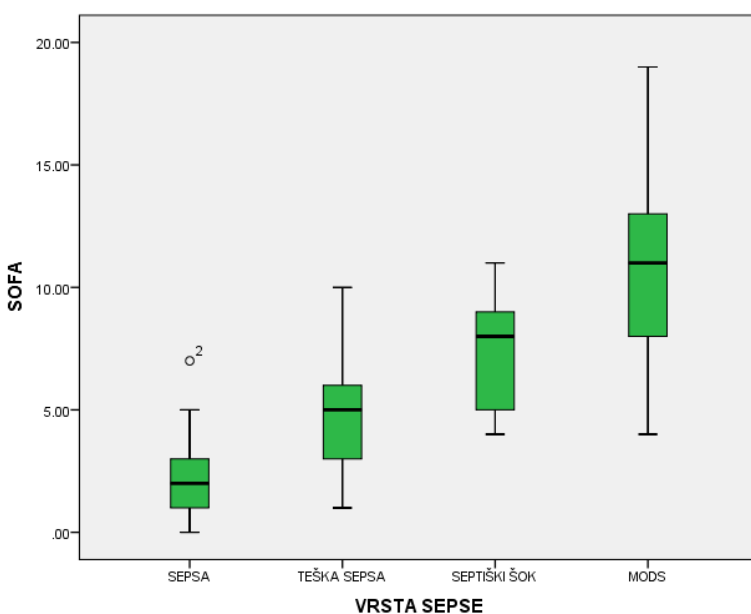
Grafikon 17. Raspedela vrednosti APACHE II skora u grupama bolesnika sa sepsom, teškom sepsom, septičkim šokom i MODS-om na prijemu u bolnicu



Medijana vrednosti APACHE II testa u grupi bolesnika sa sepsom je iznosila 8,5, a interkvartilni raspon 5,75. Kod bolesnika sa teškom sepsom zabeležena vrednost medijane je 14, dok je interkvartilni raspon 7. U grupi bolesnika koji su na prijemu imali kliničku sliku septičkog šoka, vrednost medijane za APACHE II skor je bila 8, dok je interkvartilni raspon iznosio 4, a u grupi

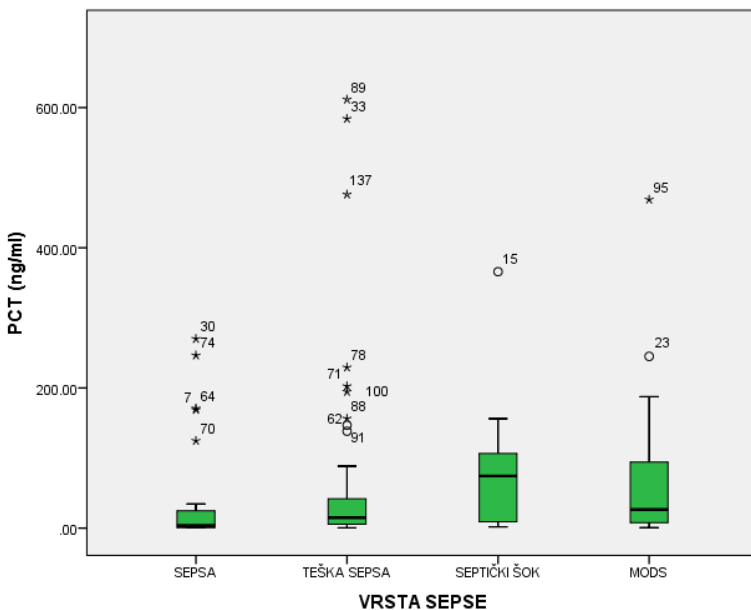
pacijenata koji su na prijemu u bolnicu imali MODS, medijana APACHE II skora je bila 22,5, a interkvartilni raspon 14,75.

Grafikon 18. Raspodela vrednosti SOFA skora u grupama bolesnika sa sepsom, teškom sepsom, septičkim šokom i MODS-om na prijemu u bolnicu



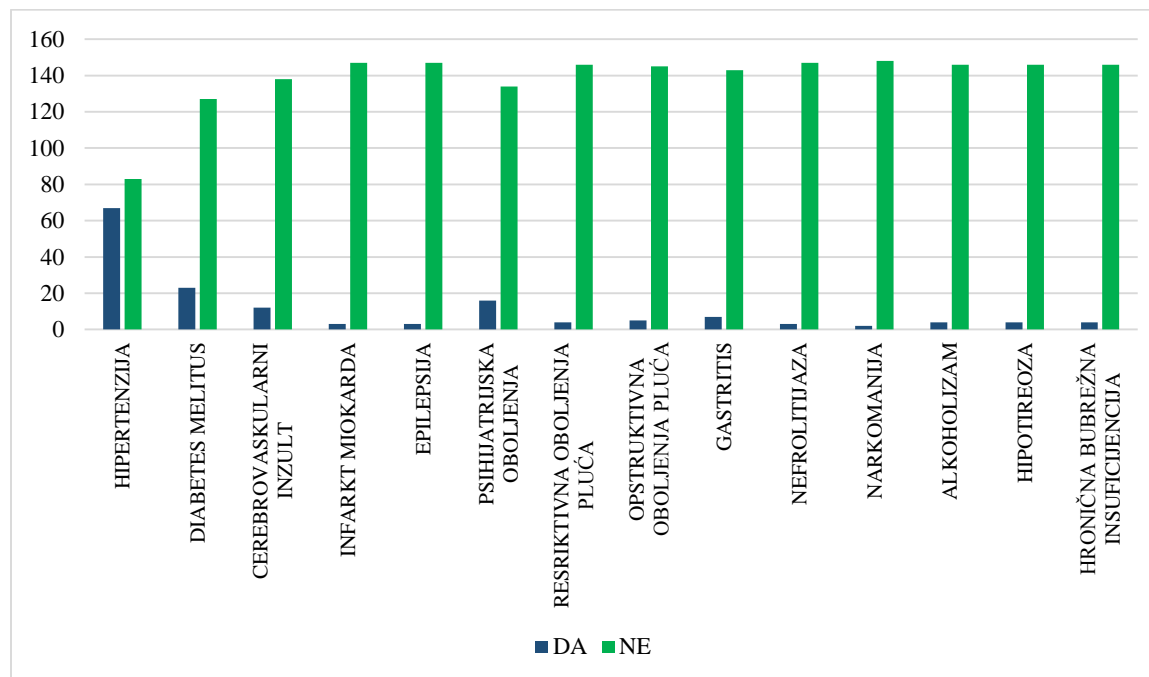
Najviša vrednost medijane za SOFA skor je zabeležena u grupi bolesnika sa MODS-om na prijemu i iznosila je 11, a vrednost interkvartilnog rapona u toj grupi ispitanika iznosi 5. U grupi pacijenata koji su imali septički šok medijana SOFA skora je iznosila 8, a interkvartilni raspon 4. U grupi bolesnika sa teškom sepsom medijana je bila 5, a interkvartilni raspon 3,5, dok je u grupi pacijenata sa sepsom medijana iznosila 2, a interkvartilni raspon je bio 2.

Grafikon 19. Raspodela vrednosti koncentracije PCT-a u grupama bolesnika sa sepsom, teškom sepsom, septičkim šokom i MODS-om na prijemu u bolnicu



Vrednosti medijane PCT-a (ng/ml) u različitim grupama bolesnika u odnosu na težinu kliničke slike sepse na prijemu u bolnicu su bile: za sepsu 3,52 (interkvartilni raspon 24,39); za tešku sepsu 14,9 (interkvartilni raspon 39,40); za septički šok 74,42 (interkvartilni raspon 98,22); za MODS 26,6 (interkvartilni raspon 468,7). Na grafikonu 19. su prikazane i zabeležene ekstremno visoke izmerene vrednosti PCT-a u koje su bile prisutne u svim ispitivanim grupama bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu u bolnicu. Pozitivna asimetrija koja je zabeležena u ispitivanim grupama govori u prilog tome da je većina vrednosti PCT-a bila manja od prosečne vrednosti za svaku grupu.

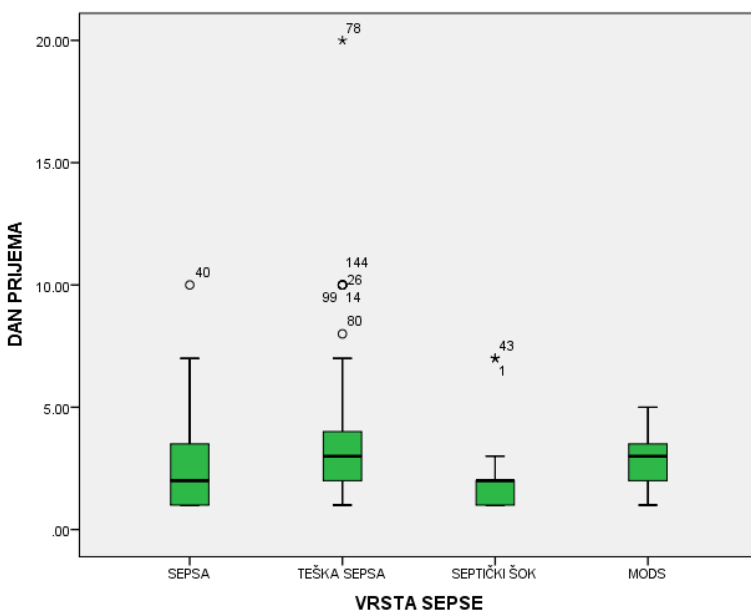
Grafikon 20. Registrovani komorbiditeti kod obolelih ispitanika



Na grafikonu 20. se može uočiti da je od komorbiditeta u najvećem broju slučajeva bila prisutna arterijska hipertenzija (44,7%), kao i diabetes (15,3%), a potom psihijatrijska oboljenja (10,7%), cerebrovaskularnom inzult (8%), dok su druga oboljenja, i štetne navike bile zastupljene u malom broju slučajeva.

$\chi^2$  testom nezavisnosti nije utvrđeno postojanje statistički značajne veze između svakog pojedinačno registrovanog komorbiditeta i težine kliničke slike na prijemu (arterijska hipertenzija,  $\chi^2=0,76$ ,  $p=1,0$ ; šećerna bolest,  $\chi^2=1,66$   $p=0,65$  ; psihijatrijska oboljenja,  $\chi^2=4,6$ ,  $p=0,2$  ; cerebrovaskularni inzult,  $\chi^2=0,89$ ,  $p=0,83$ ; opstruktivna bolest pluća,  $\chi^2=5,36$ ,  $p=0,15$  ; gastritis,  $\chi^2=2,98$ ,  $p=0,39$ ; restriktivna oboljenja pluća  $\chi^2=2,29$ ,  $p=0,51$  ; infarkt miokarda,  $\chi^2=4,01$ ,  $p=0,26$ ; epilepsija,  $\chi^2=1,72$ ,  $p=0,63$ ; hipotireoza,  $\chi^2=1,16$ ,  $p=0,76$ ; nefrolitijaza,  $\chi^2=4,06$ ,  $p=0,26$ ; hronična bubrežna insuficijencija,  $\chi^2=3,79$   $p=0,28$ ; alkoholizam,  $\chi^2=5,16$ ,  $p=0,16$ ; narkomanija,  $\chi^2=2,38$ ,  $p=0,50$ ).

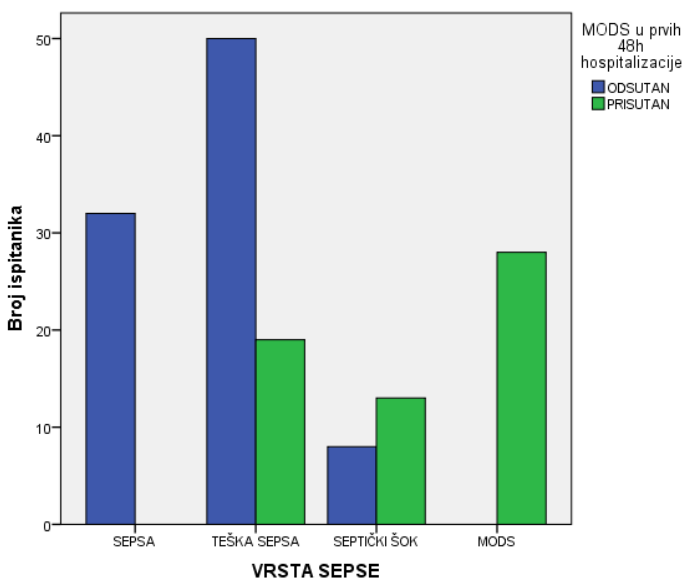
Grafikon 21. Raspodela vrednosti broja dana od pojave prvih simptoma bolesti do dana prijema u bolnicu u grupama bolesnika sa sepsom, teškom sepsom, septičkim šokom i MODS-om



Vrednost medijane broja dana od pojave prvih simptoma bolesti do dana prijema u bolnicu u različitim grupama bolesnika sa različitom težinom kliničke slike sepse na prijemu je sledstveno iznosila: za sepsu 2 (interkvartilni raspon 2,75); za tešku sepsu 3 (interkvartilni raspon 2); za septički šok 2 (interkvartilni raspon 13); za MODS na prijemu 3 (interkvartilni raspon 1,75). Na Grafikonu 21 su prikazane i zabeležene ekstremne vrednosti broja dana do prijema u bolnicu u različitim grupama bolesnika sa sepsom.

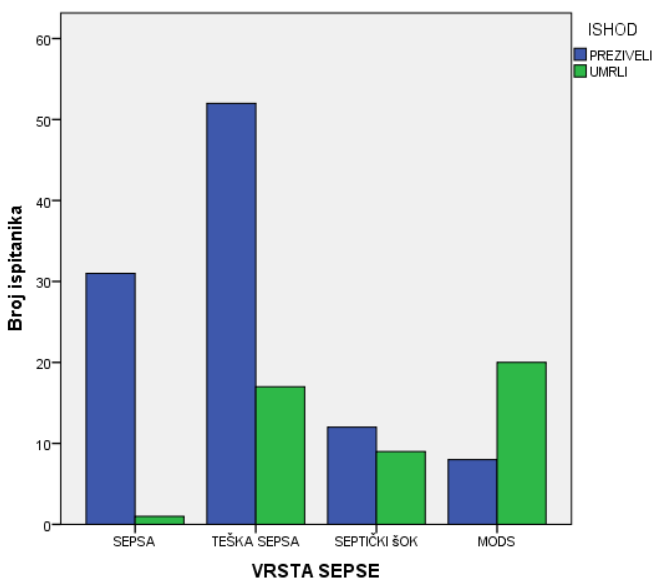


Grafikon 22. Razvoj ili perzistiranje MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije kod različitih grupa bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike



Viši procenat razvoja MODS-a zabeležen je sukcesivno u grupama sa težom kliničkom slikom. U grupi bolesnika sa kliničkom slikom obične sepsa, nijedan bolesnik nije razvio MODS (0%), u grupi bolesnika sa teškom sepsom na prijemu kod 27,5% bolesnika je došlo do razvoja MODS-a, kod bolesnika sa septičkim šokom 61,9% bolesnika je imalo MODS u toku prvih 48 časova hospitalizacije, dok kod bolesnika koji su u bolnicu primljeni sa već postojećim MODS-om, ni kod jednog bolesnika nije došlo do rezolucije MODS-a tokom prvih 48 časova (100%). Procenti su izraženi u odnosu na ukupan broj bolesnika sa MODS-om.

Grafikon 23. Mortalitet u različitim grupama bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike



Ukupni mortalitet je iznosio 31,3 %. Grupe pacijenata sa težom kliničkom slikom su imale zabeležen viši mortalitet, osim u grupi bolesnika sa septičkim šokom, u kojoj je mortalitet bio niži u odnosu na grupu bolesnika sa teškom sepsom: u grupi bolesnika sa sepsom 2,1%, sa teškom sepsom 36,2%, sa septičkim šokom 19,1% i sa MODS-om 42,6%, u odnosu na ukupni mortalitet.

### 4.2.3. Prognošički značaj pokazatelja poremećaja hemostaze i biomarkera endotelne aktivacije u odnosu na kliničku sliku sepse

Tabela 12. Vrednosti osnovnih pokazatelja mehanizma hemostaze u grupi bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike

Vrsta sepsa  Parametar	Sepsa	Teška sepsa	Septički šok	MODS	Statistička značajnost  p
	n (32)  (21,33%) ili  $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	n (69)  (46%) ili  $(\bar{X}) \pm SD$ (Min- Max)	n (21)  (14%) ili  $(\bar{X}) \pm SD$ (Min- Max)	n (28)  (18,67%) ili  $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	
APTT (R)*	1,35±0,64  (0,85-4,33)	1,45±0,56 (0,66- 3,41)	1,66±0,71(0,90- 3,76)	1,70±0,71  (0,83-3,55)	<b><u>0,02</u></b>
PT (R)*	1,34±0,36(1, 01-2,77)	1,57±0,61 (0,88- 3,48)	1,99±1,06 (1,06- 5,35)	2,14±1,01  (0,71-1,15)	<b><u>0,00</u></b>
TT (R)*	0,87±0,11  (0,71-1,15)	0,87±0,13 (0,66- 1,12)	0,83±0,12 (0,66- 1,12)	0,99±1,34  (0,66-2,50)	0,21
D-dimer (ng/ml)*	1951,13±167  7,86 (459- 6734)	2076,97±2892,96  (133-20870)	2297,29±1684,71  (568-6464)	5798,5±8216,92  (569-33000)	<b><u>0,00</u></b>
Fibrinogen (g/l)**	5,42±1,33  (0,98-8,90)	5,36±1,41 (1,66- 8,21)	4,36±2,07 (1,96- 11,38)	4,66±1,95  (0,83-8,42)	<b><u>0,03</u></b>

Euglobulinsko vreme lize koaguluma > 120min(93,3%)/ 120min (6,7%)*	31/1	65/4	18/3	28/2	0,44
Broj trombocita ( $\times 10^9/l$ )*	250 $\pm$ 139,1 (7,60-560)	195 $\pm$ 133,7 (9-641)	188,52 $\pm$ 100,89 (47-513)	146,81 $\pm$ 117,75 (3-441)	<b><u>0,02</u></b>

\* Kruskal Volisov test , \*\*- Jednofaktorska ANOVA;\*\*\*  $\chi^2$  test nezavisnosti

U tabeli 12. su prikazane vrednosti osnovnih pokazatelja funkcije mehanizma hemostaze, kao i broj trombocita u grupama bolesnika sa različitom težinom kliničke slike na prijemu u bolnicu. Vrednosti APTT-a su se statističke značajno razlikovale između grupa pacijenata u odnosu na težinu kliničke slike sepse na prijemu, sa tendencijom produženja u grupama bolesnika sa težom kliničkom slikom sepse na prijemu u bolnicu (Kruskal Volisov test,  $p=0,02$ ).

Vrednosti PT-a su takođe bile značajno više u grupama bolesnika sa težom kliničkom slikom na prijemu u bolnicu. (Kruskal Volisov test,  $p=0,00$ ).

KruskalVolisovim testom nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa pacijenata obolelih od sepse u odnosu na vrednosti TT-a ( $p=0,21$ ).

Vrednosti D-dimera su bile statistički značajno povišene u grupama bolesnika sa težom kliničkom slikom sepse na prijemu u bolnicu (Kruskal Volisov test,  $p= 0,00$ ).

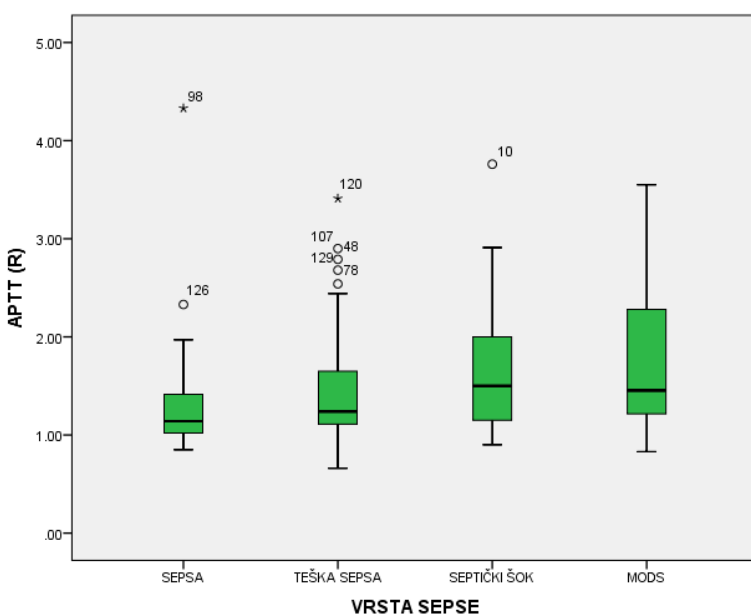
Vrednosti koncentracije fibrinogena su se takođe statistički značajno razlikovale između obolelih od sepse u odnosu na težinu kliničke slike, sa tendencijom pada vrednosti kod obolelih sa težom

kliničkom slikom (jednofaktorska ANOVA,  $p=0,03$ ). Naknadna poređenja pomoću *Turkey*-evog testa ukazuju da nije zabeležena statistički značajna razlika u vrednostima fibrinogena prilikom poređenja svih grupa ispitivanih bolesnika međusobno.

$\chi^2$  testom nije zabeležena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa pacijenata u odnosu na vrednosti euglobulinskog vremena lize koaguluma, a većina ispitivanih bolesnika (93,3%) je imala vreme lize koaguluma duže od 120 minuta ( $\chi^2= 2,69$ ,  $p=0,44$ ).

Kruskal Volisovim testom je verifikovano postojanje statistički značajno nižeg broja trombocita kod bolesnika sa težom kliničkom slikom sepse na prijemu u bolnicu ( $p=0,02$ ).

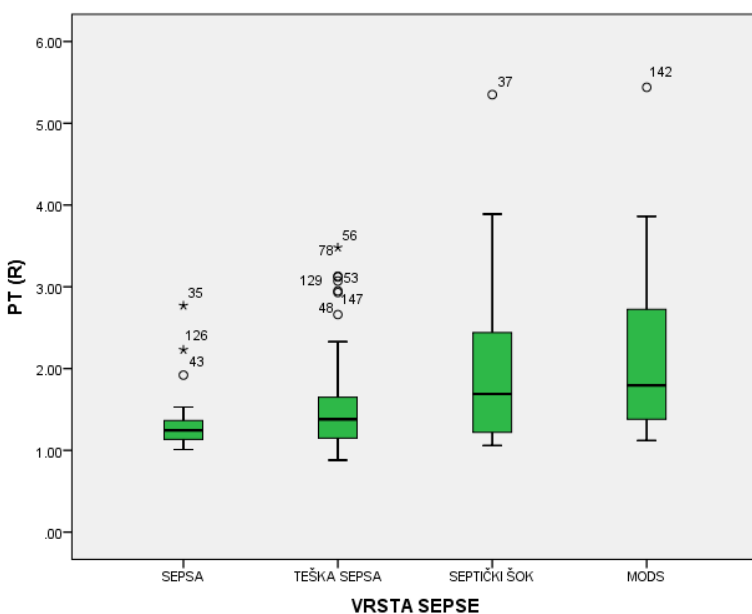
Grafikon 24. Raspodela vrednosti APTT-a u grupama bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu



Vrednost medijane APTT-a (R) kod obolelih od sepse u zavisnosti od kliničke slike na prijemu sledstveno iznosi: sepsa-1,14, teška sepsa-1,24, septički šok-1,5 i MODS-1,45, a interkvartilni raspon: sepsa-0,41, teška sepsa-0,55, septički šok-0,9 i MODS-1,08

Na grafikonu 24., se može uočiti da na uzorku ispitivanih pacijenata obolelih od sepse raspodela vredosti APTT-a pokazuje pozitivnu asimetriju, što znači da je veći broj bolesnika imao kraći APTT od proseka. Na ovom grafikonu takođe vidimo da su pojedini bolesnici u grupi bolesnika sa sepsom, teškom sepsom i septičkim šokom imali ekstremno produženo APTT.

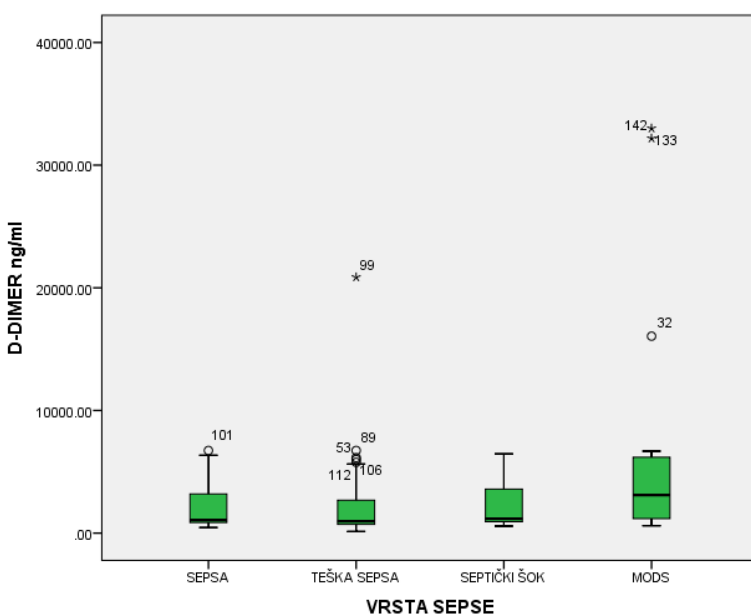
Grafikon 25. Raspodela vrednosti PT-a u grupama bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu



Vrednost medijane PT-a (R) kod obolelih od sepse iznosi 1,24, a interkvartilni raspon 0,25, a kod obolelih od teške sepse medijana je 1,38, a interkvartilni raspon 0,53. U grupi pacijenata sa

kliničkom slikom septičkog šoka na prijemu medijana je bila 1,69, a interkvartilni raspon 1,24, dok je u ispitivanoj grupi bolesnika sa MODS-om na prijemu medijana iznosila 1,76, a interkvartilni raspon 1,38. Na grafikonu 25. se može uočiti da raspodela vrednosti PT-a u ispitivanim grupama pacijenata obolelih od sepse pokazuje pozitivnu asimetriju, što znači da je veći broj ispitanika imao kraći PT od proseka. Na ovom grafikonu se takođe može uočiti da su pojedini bolesnici u svim ispitivanim grupama imali ekstremno produženo PT.

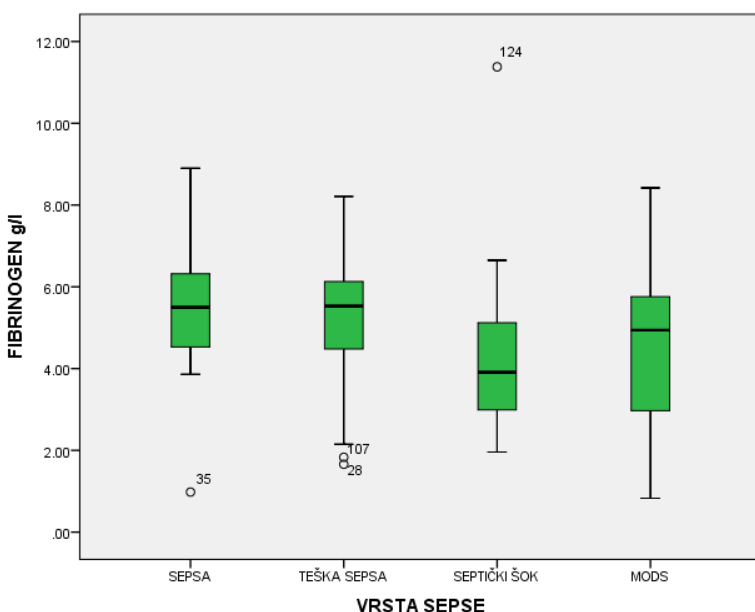
Grafikon 26. Raspodela vrednosti D-dimera u grupama bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu



Na grafikonu 26. je prikazana raspodela vrednosti D-dimera (ng/ml) u ispitivanim grupama pacijenata obolelih od sepse koja pokazuje pozitivnu asimetriju u grupi bolesnika sa sepsom, teškom sepsom i septičkim šokom, što znači da je veći broj bolesnika u ovim grupama imao niže koncentracije D-dimera od proseka, dok je u grupi bolesnika koji su imali septički šok raspodela

veoma diskretno negativno asimetrična. Vrednost medijane D-dimera kod obolelih od sepse iznosi 1066, kod obolelih od teške sepse 969, kod pacijenata sa septičkim šokom 1167, a kod bolesnika sa MODS-om 3109. Interkvartilni raspon u grupi bolesnika sa sepsom iznosi 2388, sa teškom sepsom 2114, sa septičkim šokom 2702 i sa MODS-om 5021,5. Na ovom grafikonu takođe vidimo da su pojedini bolesnici imali ekstremno visoke vrednosti D-dimera u svim ispitivanim grupama.

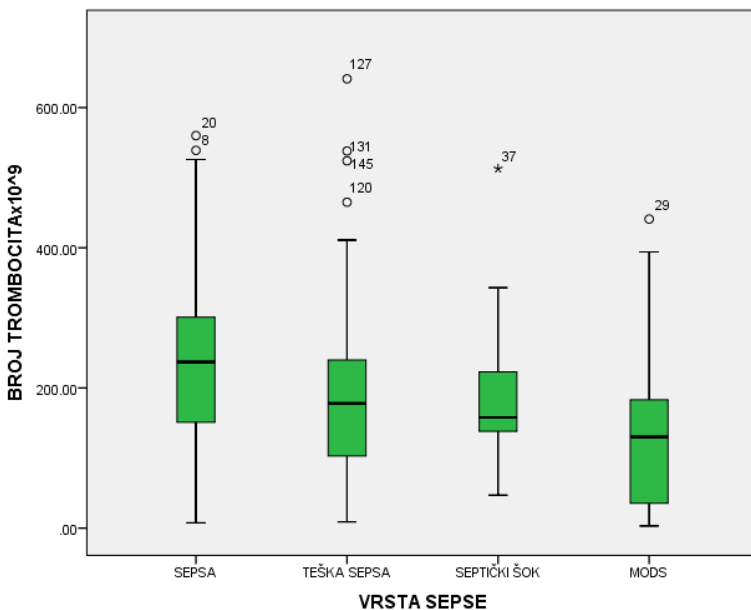
Grafikon 27. Raspodela vrednosti fibrinogena u grupama bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu



Na grafikonu 27. se može uočiti da je raspodela koncentracije fibrinogena bila normalna u svim ispitivanim grupama bolesnika sa sepsom. Vrednost medijane fibrinogena (g/l) kod obolelih od sepse iznosi 5,5, a interkvartilni raspon 1,81, kod ispitanika sa teškom sepsom 5,53, a interkvartilni raspon 1,78, kod bolesnika sa septičkim šokom 3,91, a interkvartilni raspon 2,19 i kod bolesnika sa MODS-om 4,942, a interkvartilni raspon 2,80.



Grafikon 28. Raspodela vrednosti broja trombocita ( $\times 10^9/l$ ) u grupama bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu



Na grafikonu 28. se može uočiti da je na uzorku ispitivanih pacijenata obolelih od sepse raspodela vredosti broja trombocita normalna, dok u grupama bolesnika sa teškom sepsom, septičkim šokom i MODS-om na prijemu u bolnicu pokazuje pozitivnu asimetriju, što znači da je veći broj bolesnika imao manji broj trombocita od proseka. Vrednost medijane broja trombocita ( $\times 10^9/l$ ) kod obolelih od sepse u zavisnosti od kliničke slike na prijemu sledstveno iznosi: sepsa-237, teška sepsa-178, septički šok-158 i MODS-130, a interkvartilni raspon: sepsa-155, teška sepsa-159,5, septički šok-87 i MODS-152,75.

Tabela 13. Vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije u grupi bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike

Vrsta sepse	Sepsa	Teška sepsa	Septički šok	MODS	Statistička značajnost
Parametar	n=32 (21,33%) $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	n=69 (46%) $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	n=21 (14%) $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	n=28 (18,67%) $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	p
AT (%)*	65,81±18,03 (35-94)	64,68±20,43 (17-122)	47,52±15,84 (23-80)	44,71±20,44 (8-85)	<b><u>0,00</u></b>
PC (%)*	62,5±16,86 (13-91)	53,32±23,41 (3-108)	43,19±16,55 (14-84)	37,68±18,06 (6-82)	<b><u>0,00</u></b>
PS (%)**	65,29±21,07 (24,3-105,3)	61,09±24,83 (18,3-156)	44,78±18,91 (22,2-102,1)	50,14±18,22 (20-100,5)	<b><u>0,00</u></b>

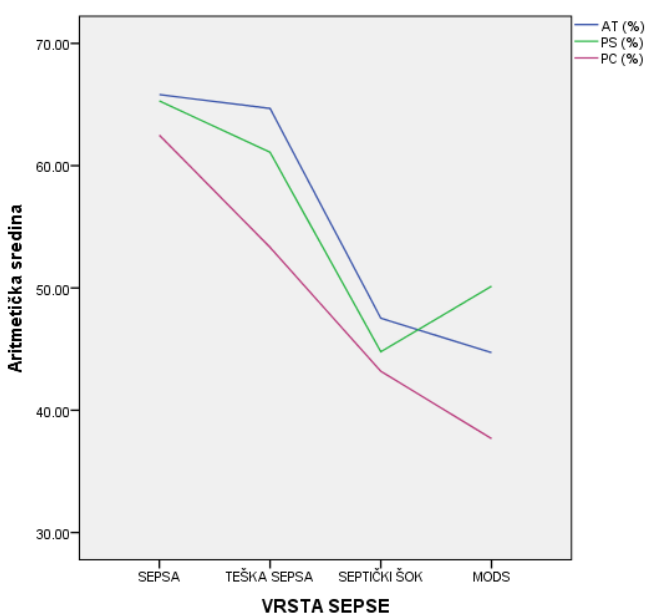
\*-Kruskal Volisov test; \*\*- Jednofaktorska ANOVA

Podaci iz tabele 13. pokazuju da je zabeležena statistički značajna razlika između različitih grupa obolelih od sepse u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu u bolnicu prilikom analize vrednosti prirodnih antikoagulanasa. Statističkom metodom jednofaktorska ANOVA utvrđeno je da su vrednosti AT (p=0,00) bile statistički značajno niže u grupama bolesnika sa težom kliničkom slikom sepse na prijemu u bolnicu, kao i vrednosti PC (p=0,00). Naknadna poređenja pomoću *Turkey*-evog testa ukazuju da nije zabeležena statistički značajna razlika u vrednostima AT među ispitanicima sa kliničkom slikom sepse i teške sepse (0,99) na prijemu u bolnicu, dok se među

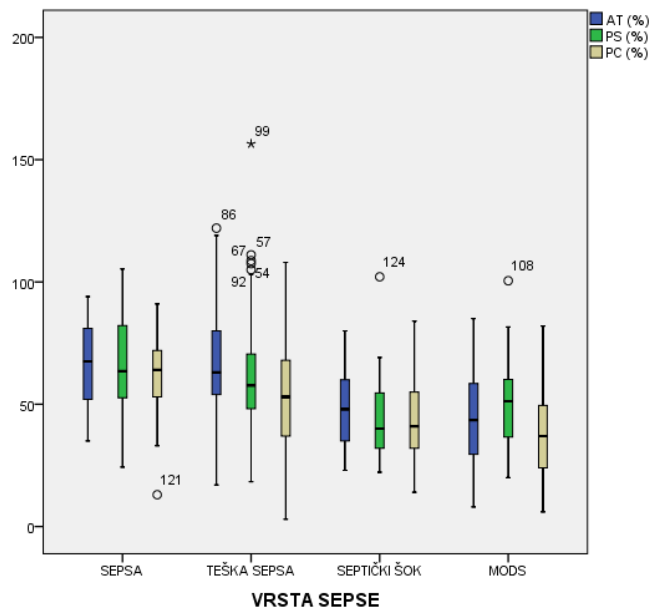
ostalim grupama vrednosti statistički značajno razlikuju. Takođe vrednosti PC, iako različite između ispitivanih grupa, takođe naknadnim testom nisu pokazale statistički značajnu razliku između bolesnika sa sepsom i teškom sepsom na prijemu ( $p=0,15$ ).

Vrednosti PS takođe pokazuju tendenciju smanjivanja u grupama sa težom kliničkom slikom na prijemu (Kruskal Volisov test,  $p=0,00$ ), s tim da su vrednosti ovog prirodnog antikoagulansa bile neznačajno više u grupi bolesnika sa MODS-om u odnosu na grupu bolesnika sa septičkim šokom na prijemu (ManVitnijev test,  $p=0,25$ ).

Grafikon 29. Vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije kod ispitanika sa različitom težinom kliničkog oblika sepse na prijemu u bolnicu



Grafikon 30. Raspodela vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije u grupama bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu



Na grafikonu 30. se može uočiti normalna raspodela vrednosti AT i PC u ispitivanim grupama bolesnika sa sepsom. Vrednosti PS su takođe normalno distribuirane u grupama bolesnika sa sepsom, septičkim šokom i MODS-om, dok je distribucija u grupi bolesnika sa teškom sepsom pozitivno asimetrična. Vrednost medijane AT (%) kod obolelih od sepse iznosi 67,5, a interkvartilni raspon 30, a kod obolelih od teške sepse medijana je 63, a interkvartilni raspon 28. U grupi pacijenata sa kliničkom slikom septičkog šoka na prijemu medijana je bila 43,5 a interkvartilni raspon 26, dok je u ispitivanoj grupi bolesnika sa MODS-om na prijemu medijana iznosila 1,76, a interkvartilni raspon 32,5. Vrednost medijane PC (%) kod obolelih od sepse iznosi 64, kod obolelih od teške sepse 53, kod bolesnika sa septičkim šokom 41, a kod bolesnika sa MODS-om 37. Interkvartilni raspon za ovaj ispitivani parametar je u grupi bolesnika sa sepsom bio 19,5, u grupi bolesnika sa teškom sepsom 31,5, u grupi bolesnika sa septičkim šokom 25, a u

grupi bolesnika sa MODS-om 26,25. Vrednost medijane i interkvartilnog raspona PS (%) kod obolelih od sepse su sledstveno iznosile: sepsa- medijana 63,5, interkvartilni raspon 30,77; teška sepsa: medijana 57,7, interkvartilni raspon 22,65; septički šok- medijana 40, interkvartilni raspon 23; MODS- medijana 51,25, interkvartilni raspon 2,03.

Tabela 14. Vrednosti biomarkera endotelne aktivacije i ETP-a u grupi bolesnika u odnosu na težinu sepse

Parametar	Vrsta sepse	Sepsa	Teška sepsa	Septički šok	MODS	Statistička značajnost
		n=32 (21,33%) $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	n=69 (46%) $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	n=21 (14%) $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	n=28 (18,67%) $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	P
vWF antigen (%)*		440,69±155,14 (149,5-797,4)	481,33±178,28 (145,1-1120,5)	375,66± 137,68 (154-599,5)	423,52±139,8 (135,4-599,5)	0,09
vWF aktivnost (%)*		301±187,95 (37,9-647)	357±167,8 (80,3-647,6)	336±156,61 (62,6-600)	341±151,29 (68-673,9)	0,49
Endokan (ng/ml)*		2,16±2,04 (0,65-10)	2,23±1,87 (0,37-10)	2,39±2,63 (0,65-10)	5,35±3,16 (1,05-10)	<b>0,00</b>

Trombomodulin (ng/ml)*	6,95±3,16 (3,50-17)	9,28±4,27 (3- 23,5)	8,19±3 (4,50-16)	12,63±5,69 (4,50-24,5)	<b><u>0,00</u></b>
ETP (AUC%)*	94,34±32,87 (59-198)	76,42±26,33 (26-163)	65,71±32,58 (31-198)	69,04±47,77 (22-198)	<b><u>0,00</u></b>

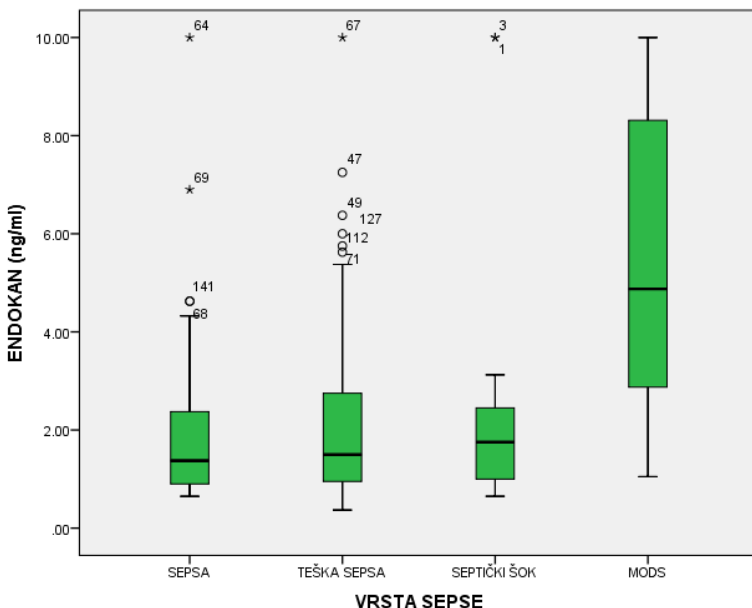
\*Kruskal Volisov test

Podaci iz tabele 14. prikazuju da nije zabeležena statistički značajna razlika među grupama ispitanika obolelih od sepse u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu u bolnicu za vrednosti vWF aktivnosti ( $p=0,49$ ) i antigena ( $p=0,09$ ).

Vrednosti endokana ( $p=0,00$ ), trombomodulina ( $p=0,00$ ) i ETP-a ( $p=0,00$ ) su se statističke značajno razlikovale između grupa pacijenata u odnosu na težinu kliničke slike sepse na prijemu (Kruskal Volisov test). Vrednosti koncentracije endokana su bile statistički značajno više što je forma sepse bila klinički teža. Takođe, vrednosti trombomodulina su pokazivale trend porasta u grupama ispitanika sa težom formom oboljenja, međutim, prosečna vrednost u grupi bolesnika sa septičkim šokom je bila nešto niža u odnosu na koncentraciju trombomodulina u grupi bolesnika sa teškom sepsom, ali ova razlika nije bila statistički značajna (ManVitnijev test  $p=0,45$ ).

Vrednosti ETP-a, iako statistički značajno niže u grupama sa težom kliničkom slikom na prijemu u bolnicu su takođe bile diskretno više u grupi bolesnika sa septičkim šokom u odnosu na grupu bolesnika sa MODS-om, međutim ManVitnijevim testom nije utvrđena statistički značajna razlika između vrednosti ETP-a u ovim grupama ispitanika ( $p=0,18$ ).

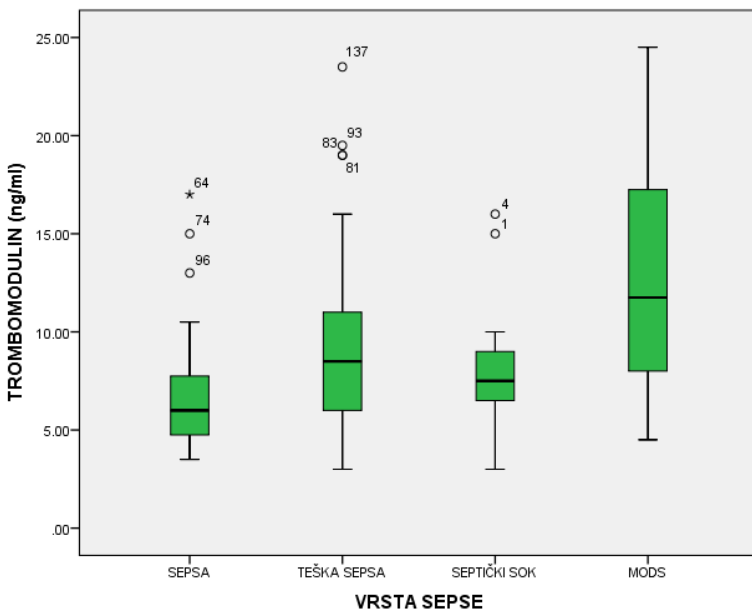
Grafikon 31. Raspodela vrednosti endokana u grupama bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu



Vrednost medijane endokana (ng/ml) kod obolelih od sepse u zavisnosti od kliničke slike na prijemu sledstveno iznosi: sepsa-1,38, teška sepsa-1,5, septički šok-1,75 i MODS-4,87, a interkvartilni raspon: sepsa-1,55, teška sepsa-1,89, septički šok-1,57 i MODS-5,72.

Na grafikonu 31. se može uočiti da na uzorku ispitivanih pacijenata obolelih od sepse, kao i u grupi bolesnika sa teškom sepsom i septičkim šokom raspodela vrednosti endokana pokazuje pozitivnu asimetriju, odnosno ukazuje na to da je veći broj bolesnika imao niže vrednosti endokana od proseka u ispitivanim grupama. U grupi bolesnika sa MODS-om međutim, raspodela je negativno asimetrična, odnosno ukazuje na to da je većina ispitanika u ovoj grupi imala vrednosti endokana više od prosečne. Na ovom grafikonu takođe vidimo da su pojedini bolesnici u grupi bolesnika sa sepsom, teškom sepsom i septičkim šokom imali ekstremno visoke vrednosti endokana u odnosu na ostale vrednosti registrovane u navedenim grupama.

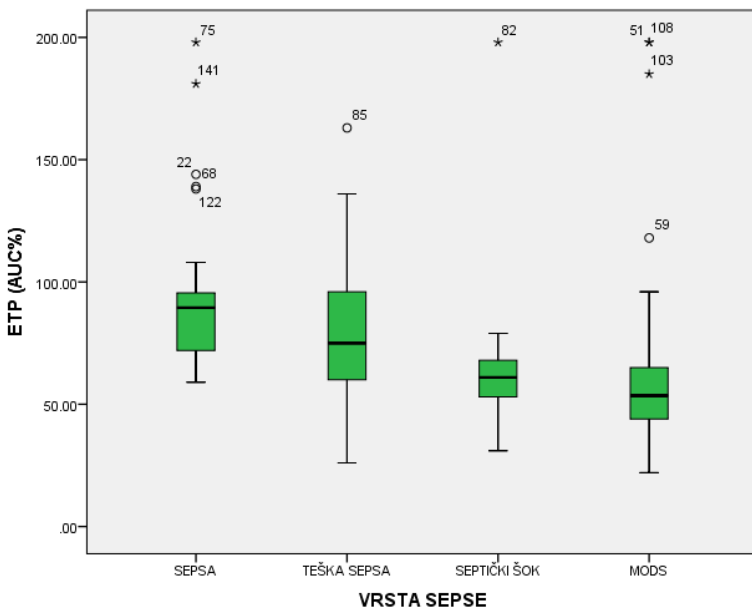
Grafikon 32. Raspodela vrednosti trombomodulina u grupama bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu



Na grafikonu 32. se može uočiti da raspodela vrednosti trombomodulina u grupama bolesnika sa sepsom, teškom sepsom, i MODS-om na prijemu u bolnicu pokazuje pozitivnu asimetriju, što znači da je veći broj bolesnika imao manje vrednosti koncentracije trombomodulina od proseka. Na uzorku ispitivanih pacijenata koji su imali septički šok na prijemu u bolnicu raspodela vrednosti trombomodulina je bila normalna. Vrednost medijane trombomodulina (ng/ml) kod obolelih od sepse u zavisnosti od kliničke slike na prijemu su iznosile: sepsa-6, teška sepsa-8,5, septički šok-7,5 i MODS-11,75, a interkvartilni raspon: sepsa-3,25, teška sepsa-5,25, septički šok-3,25 i MODS-9,63.



Grafikon 33. Raspodela vrednosti ETP-a u grupama bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu



Vrednost medijane ETP-a (AUC%) kod obolelih od sepse iznosi 89,5, a interkvartilni raspon 24,25, a kod obolelih od teške sepse medijana je 75, a interkvartilni raspon 36,5. U grupi pacijenata sa kliničkom slikom septičkog šoka na prijemu medijana je bila 61, a interkvartilni raspon 16,5, dok je u ispitivanoj grupi bolesnika sa MODS-om na prijemu medijana iznosila 53,5, a interkvartilni raspon 22,25. Na grafikonu 33. se može uočiti da raspodela vrednosti ETP-a u ispitivanim grupama pacijenata obolelih od sepse, pacijenata koji su imali septički šok i MODS na prijemu u bolnicu pokazuje pozitivnu asimetriju, što znači da je veći broj ispitanika imao niže vrednosti ETP-a od proseka u ovim grupama. U grupi bolesnika sa teškom sepsom raspodela vrednosti ETP-a je bila normalna. Na ovom grafikonu se takođe može uočiti da su pojedini bolesnici u svim ispitivanim grupama imali ekstremno visoke vrednosti ETP-a.

#### 4.2.4. Prognošički značaj pokazatelja poremećaja hemostaze i biomarkera endotelne aktivacije u smislu razvoja MODS-a u prvih 48 časova hospitalizacije

Tabela 15. Opšte karakteristike bolesnika u odnosu na razvoj MODS-a u toku prvih 48 časova

MODS Parametar	MODS u prvih 48 časova PRISUTAN ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min-Max) ili n=60 (40%)	MODS u prvih 48 časova ODSUTAN ( $\bar{X}$ ) $\pm$ SD (Min-Max) ili n= 90 (60%)	Statistička značajnost p
Pol:muški/ženski (59,3%/40,7%)*	38/22	51/39	0,5
Godine života**	61,03 $\pm$ 16,20 (24-87)	59,56 $\pm$ 16,66 (18-85)	0,64
APACHE II**	20,62 $\pm$ 6,93 (6-44)	11,26 $\pm$ 5,28 (3-32)	<b>0,00</b>
SOFA**	8,92 $\pm$ 3,48 (2-19)	3, 6 $\pm$ 1,94 (0-8)	<b>0,00</b>
PCT (ng/ml)**	90,71 $\pm$ 130,61 (0,56-611,5)	36,16 $\pm$ 72,28 (0,5-476)	<b>0,00</b>
CRP (mg/l)**	232,09 $\pm$ 123,09 (23-730)	220,07 $\pm$ 79,72 (6,80-477,3)	0,94
Broj leukocita (x10 <sup>9</sup> /l)**	15,62 $\pm$ 13,17 (1,60-81,5)	16,29 $\pm$ 12,09 (0,6-72)	0,54
Broj komorbiditeta**	1,03 $\pm$ 1,03 (0-4)	1,07 $\pm$ 0,96 (0-3)	0,68
Dan prijema**	2,7 $\pm$ 1,78 (1-10)	3,51 $\pm$ 2,98 (1-20)	0,17
Dužina hospitalizacije**	16,78 $\pm$ 14,42 (1-56)	14,81 $\pm$ 8,28 (3-42)	0,78

Mortalitet:	da/ne	33/27	14/76	<b><u>0,00</u></b>
(31,3%/68,7%)*				

\*-  $\chi^2$  test nezavisnosti, \*\*-Man Vitnijev test

Analizom polne strukture ( $\chi^2=0,66$ ,  $p=0,5$ ) i uzrasta bolesnika (Man Vitnijev test,  $p=0,64$ ) u grupama nije zabeležena statistički značajna razlika između bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a tokom prvih 48 časova i kod bolesnika kod kojih nije došlo do razvoja MODS-a.

U ispitivanim grupama bolesnici kod kojih je došlo do razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova su imali statistički značajno više vrednosti APACHE II ( $U=600$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-8,07$ ;  $r=0,66$ ) i SOFA skora ( $U=419$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-8,79$ ;  $r=0,72$ ).

Vrednosti PCT-a su bile statistički značajno povišene u grupi bolesnika kod kojih je došlo do razvoja i perzistiranja kliničke slike MODS-a u okviru sepse ( $U=1577,5$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-4,31$ ;  $r=0,35$ ).

Nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike među ispitivanim grupama za vrednosti koncentracije CRP-a i broja leukocita, broja komorbiditeta i broja dana pred prijem u bolnicu (ManVitnijev test:  $p=0,93$ ;  $p=0,54$ ;  $p=0,68$ ;  $p=0,17$ ).

Grupa bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova od prijema u bolnicu i grupa pacijenata sa sepsom koja nije imala MODS se nisu statistički značajno razlikovale u odnosu na dužinu trajanja hospitalizacije (Man Vitnijev test,  $p=0,78$ ).

Zabeležena je statistički značajna razlika između ispitivanih grupa bolesnika u odnosu na razvoj mortaliteta tokom 28 dana hospitalizacije, a grupa kod koje je došlo do razvoja MODS-a je imala

viši procenat smrtnog ishoda (55%) u odnosu na grupu ispitanika kod kojih nije došlo do razvoja MODS-a (15,6%) ( $\chi^2= 26,03$  p=0,00).

Grafikon 34. ROC kriva vrednosti APACHE II i SOFA skora i PCT (ng/ml) za predviđanje razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije

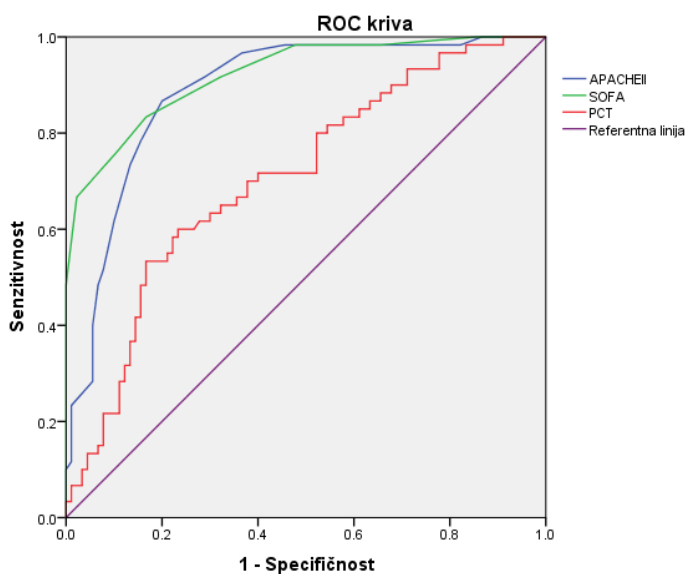


Tabela 16. AUC ROC krive vrednosti APACHE II, SOFA skora, i PCT-a za predviđanje razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)
APACHE II skor	<b><u>0,00</u></b>	0,90
SOFA skor	<b><u>0,00</u></b>	0,92
PCT	<b><u>0,00</u></b>	0,71

Na grafikonu 34. i u tabeli 16. se na osnovu ROC krivih i površine ispod krivih (AUC) za APACHE II i SOFA skor može uočiti da ovi skorovi imaju statistički značajnu i veoma visoku diskriminativnu sposobnost u poređenju grupa u cilju predviđanja razvoja MODS-a tokom prvih 48 časova hospitalizacije kod septičnih bolesnika. Vrednosti PCT-a, iako statistički značajne kao marker razvoja MODS-a tokom prvih 48 časova kod bolesnika sa sepsom su pokazale manju diskriminativnu sposobnost u odnosu na navedene skorove.

Tabela 17. Osnovni pokazatelji mehanizma hemostaze u grupi bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj i prisustvo MODS-a

MODS Parametar	MODS u prvih 48 časova PRISUTAN $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max) ili n=60 (40 %)	MODS u prvih 48 časova ODSUTAN $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max) ili n= 90 (60%)	Statistička značajnost p
APTT (R)*	1,63±0,66 (0,76-3,55)	1,41±0,62 (0,66-4,33)	<b><u>0,01</u></b>
PT (R)*	1,97±0,98 (1,06-5,44)	1,50±0,55 (0,88-3,89)	<b><u>0,00</u></b>
TT (R)*	0,92±0,27 (0,66-2,50)	0,87±0,12 (0,69-1,43)	0,8
D-dimer (ng/ml)*	4487,95±6321,91 (510-33000)	1634,12±1502,80 (133-6734)	<b><u>0,00</u></b>

Fibrinogen (g/l)**	4,88±1,84 (0,83-11,38)	5,27±1,49 (0,98-8,90)	0,12
Euglobulinsko vreme lize koaguluma > 120min (93,3%)/ 120min (6,7%)*	5/55	5/85	0,52
Broj trombocita (x10 <sup>9</sup> /l)*	159,01±117,49 (3-538)	222,78±133,9 (7,60-641)	p<0,05

\* Man Vitnjev test, \*\*- T-test nezavisnih uzoraka,\*\*\*-  $\chi^2$  test nezavisnosti

U tabeli 17. su prikazane vrednosti osnovnih pokazatelja funkcije mehanizma hemostaze, kao i broj trombocita u grupama bolesnika sa sepsom u zavisnosti od toga da li je tokom prvih 48 časova hospitalizacije došlo do razvoja MODS-a. Vrednosti APTT-a (U=2045,5; p=0,01; z=-2,51; r=0,20) i PT-a (U=11904; p=0,00; z=-3,05; r=0,25) su bile statistički značajno više u grupi bolesnika sa MODS-om.

Man Vitnijevim testom nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa pacijenata obolelih od sepse u odnosu na vrednosti TT-a (p=0,80).

Vrednosti D-dimera su bile statistički značajno povišene u grupi bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a tokom prvih 48 časova hospitalizacije (Man Vitnjev test: U=1396; p=0,00; z=-5; r=0,41) .

T-testom nezavisnih uzoraka nije zabeležena statistički značajna razlika u vrednostima fibrinogena prilikom poređenja grupa ispitivanih bolesnika u odnosu na razvoj MODS-a tokom prvih 48 časova (p=0,12).

$\chi^2$  testom nije zabeležena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa pacijenata kod kojih je došlo do razvoja MODS-a u odnosu na vrednosti euglobulinskog vremena lize koaguluma kod bolesnika kod kojih nije došlo do razvoja MODS-a ( $\chi^2 = 0,45$ ,  $p=0,52$ ).

Verifikovano je postojanje statistički značajno nižeg broja trombocita kod bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a tokom prvih 48 časova od rijemu u bolnicu ( $U=1858$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-3,23$ ;  $r=0,26$ ).

Grafikon 34. ROC kriva vrednosti APTT-a, PT-a i D-dimera za predviđanje razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije

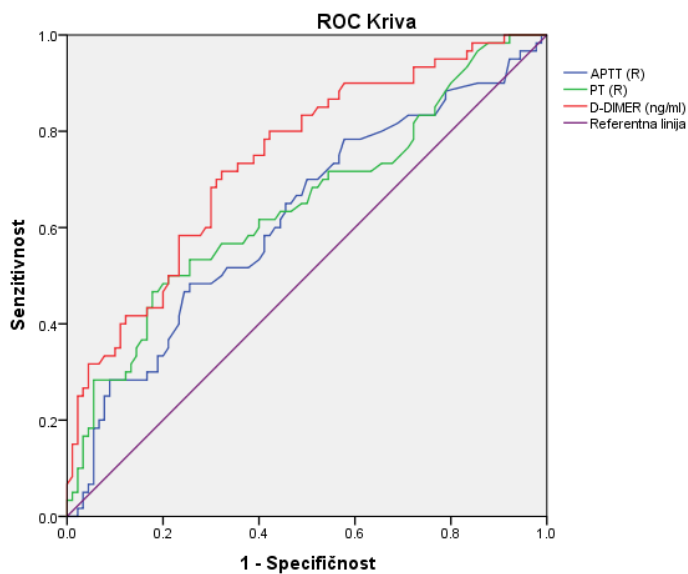
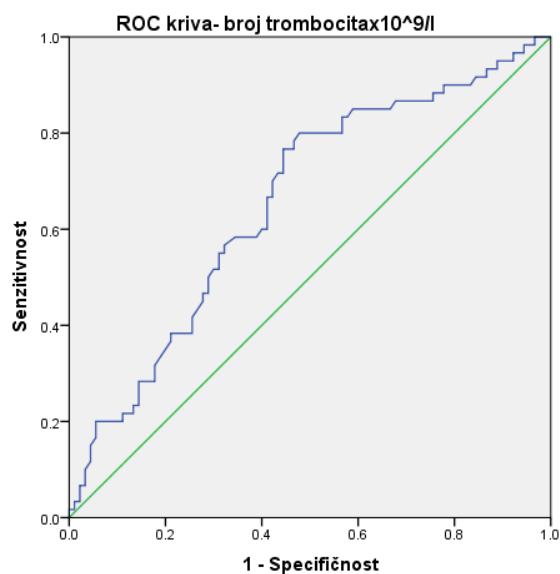


Tabela 18. AUC ROC krive vrednosti APTT-a, PT-a, D-dimera i broja trombocita za predviđanje razvoja MODS-a

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)
APTT (R)	<b><u>0,01</u></b>	0,62
PT (R)	<b><u>0,00</u></b>	0,65
D-dimer (ng/ml)	<b><u>0,00</u></b>	0,74
Broj trombocita ( $\times 10^9/l$ )	<b><u>0,00</u></b>	0,66

Grafikon 35. ROC kriva vrednosti broja trombocita ( $\times 10^9/l$ ) za predviđanje razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije



Na osnovu podataka prikazanih na grafikonima 34. i 35., kao i u tabeli 18., odnosno na osnovu konstruisanih ROC krivih i površine ispod krivih (AUC) za APTT, PT, D-dimer i broj trombocita



u cilju predviđanja razvoja MODS-a tokom prvih 48 časova hospitalizacije kod septičnih bolesnika, se može verifikovati da ovi pokazatelji koagulacionog statusa imaju statistički značajnu sposobnost u razlikovanju bolesnika kod kojih će doći do razvoja MODS-a, u odnosu na one kod kojih neće doći do razvoja MODS-a. Od navedenih parametara, najveću diskriminativnu sposobnost pokazuju vrednosti D-dimera.

Tabela 19. Vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije u grupi bolesnika u grupi bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj i prisustvo MODS-a tokom prvih 48 časova hospitalizacije

MODS Parametar	MODS u prvih 48 časova PRISUTAN $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max) n=60 (40%)	MODS u prvih 48 časova ODSUTAN $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max) n= 90 (60%)	Statistička značajnost p
AT (%)*	50,23±19,66 (8-98)	64, 5±20,33 (17-122)	<b><u>0,00</u></b>
PC (%)*	40,8±16,46 (6-82)	57,7±22,47 (3-108)	<b><u>0,00</u></b>
PS (%)**	53,81±23,38 (20-156)	60,23±22,78 (18,3-111,1)	<b><u>0,03</u></b>

\*T-test nezavisnih uzoraka, \*\*-Man Vitnijev test

Podaci iz tabele 19. pokazuju da je zabeležena statistički značajna razlika između grupe ispitanika obolelih od sepse kod kojih je došlo do razvoja MODS-a tokom prvih 48 časova hospitalizacije prilikom analize vrednosti prirodnih antikoagulanasa. Razlike među grupama za vrednosti AT i PC su procenjivane T-testom nezavisnosti, s obzirom da je raspodela vrednosti ovih antikoagulanasa

u ispitivanim grupama bila normalna. Utvrđeno je da je koncentracija AT značajno bila snižena kod bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a, u odnosu na ispitanike kod kojih nije došlo do razvoja MODS-a ( $t(148)=4,26$ ,  $p=0,00$ ; prosečna razlika =14,26; 95% interval poverenja 7,65-20, 78). Vrednosti PC su takođe bile statistički značajno snižene u grupi bolesnika koji su imali MODS tokom prvih 48 časova hospitalizacije ( $t(146,6)=5,31$ ,  $p=0,00$ ; prosečna razlika =16,90; 95% interval poverenja 10,61-23,19).

Man Vitnijevim testom je utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a i bolesnika kod kojih nije došlo do razvoja MODS-a, u odnosu na vrednosti PS ( $U=2130$ ;  $p=0,03$ ;  $z=-2,19$ ;  $r=0,18$ ).

Grafikon 36. ROC kriva vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije za predviđanje razvoja MODS-a utoku prvih 48 časova hospitalizacije

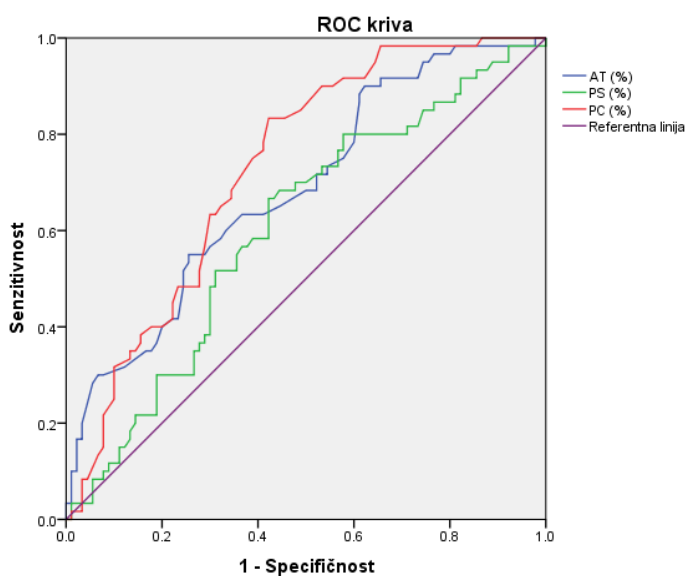


Tabela 20. Statistička značajnost i površina ispod (AUC) ROC krive prirodnih inhibitora koagulacije za predviđanje razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije kod bolesnika sa sepsom

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)
AT	<b><u>0,00</u></b>	0,69
PC	<b><u>0,00</u></b>	0,73
PS	<b><u>0,03</u></b>	0,61

Na osnovu podataka prikazanih na grafikonu 36. i u tabeli 20. se može uočiti da prirodni inhibitori koagulacije imaju statistički značajnu sposobnost u razlikovanju bolesnika sa sepsom kod kojih će doći do razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije, u odnosu na one bolesnike kod kojih neće doći do razvoja MODS-a, a vrednosti PC imaju najbolju diskriminativnu sposobnost u ovom smislu.

Tabela 21. Vrednosti biomarkera endotelne aktivacije i ETP-a kod bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije

Parametar	Grupa	MODS u prvih 48 časova	MODS u prvih 48 časova	Statistička značajnost p
		PRISUTAN $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max) n=60 (40%)	ODSUTAN $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max) n= 90 (60%)	
vWF antigen (%)*		457,94±157,21 (135,4-978,9)	439,83±169,23 (145,1-1120,5)	p=0,59
vWF aktivnost (%)*		364,37±151,67 (68-673,9)	322,57±176,31 (37,9-647,6)	p=0,1
Endokan (ng/ml)*		3,64±3,08 (0,65-10)	2,27±2 (0,37-10)	<b><u>0,00</u></b>
Trombomodulin (ng/ml)*		11,5±4,92 (4,50-24,5)	7,76±3,64 (3-23,5)	<b><u>0,00</u></b>
ETP (AUC%)*		67 ±35,47 (22-198)	84,28±32,25 (28-198)	<b><u>0,00</u></b>

\*-Man Vitnjev test

Podaci iz tabele 21. prikazuju da nije zabeležena statistički značajna razlika između grupe bolesnika sa sepsom kod kojih je došlo do razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije i kod bolesnika kod kojih nije došlo do razvoja MODS-a u vrednostima vWF aktivnosti i antigena. Vrednosti koncentracije endokana su bile statistički značajno povišene u grupi bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a (U=1927; p=0,00; z=-2,97-; r=0,24), a takođe i koncentracije

trombomodulina ( $U=1374$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-5,09$ ;  $r=0,42$ ). Zabeležena je statistički značajno niža vrednost ETP-a kod bolesnika kod kojih se razvio MODS ( $U=1549,5$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-4,41$ ;  $r=0,36$ ).

Grafikon 37. ROC kriva vrednosti biomarkera endotelne aktivacije za predviđanje razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije

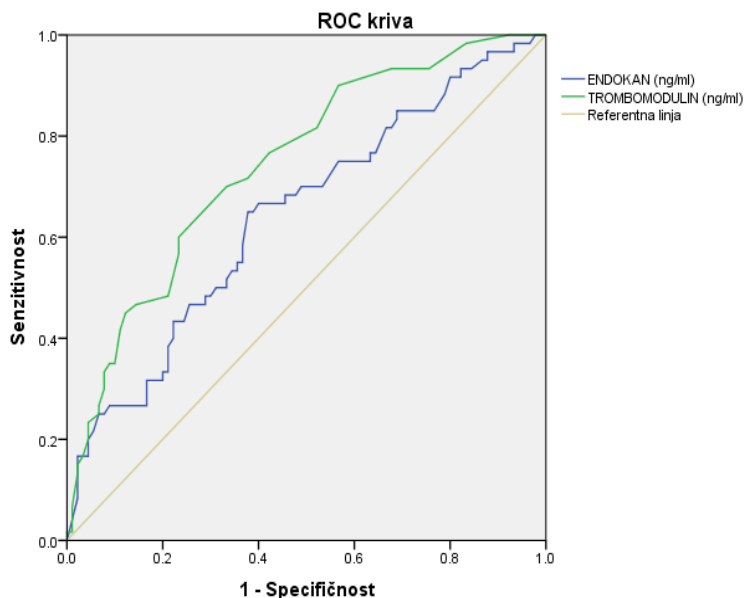
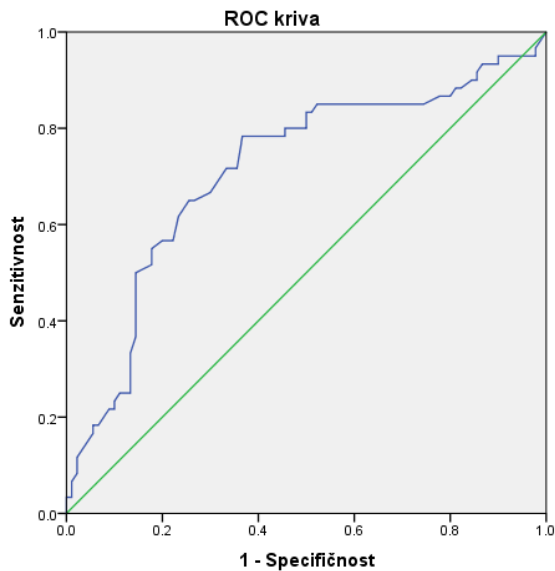


Tabela 22. Statistička značajnost i površina ispod (AUC) ROC krive vrednosti endokana, trombomodulina i ETP-a za predviđanje razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije kod bolesnika sa sepsom

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)
Endokan (ng/ml)	<b><u>0,00</u></b>	0,64
Trombomodulin (ng/ml)	<b><u>0,00</u></b>	0,75
ETP (AUC%)	<b><u>0,00</u></b>	0,71

Grafikon 38. ROC kriva vrednosti ETP-a za predviđanje razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije



Na osnovu podataka prikazanih na grafikonima 37. i 38., kao i u tabeli 22., odnosno na osnovu konstruisanih ROC krivih i površine ispod krivih (AUC) se uočava da pokazatelji endotelne aktivacije i ETP imaju statistički značajnu sposobnost u razlikovanju bolesnika kod kojih će doći do razvoja MODS-a, u odnosu na one kod kojih neće doći do razvoja MODS-a. Od navedenih parametara, najveću diskriminativnu sposobnost u ovom smislu pokazuje trombomodulin.

Tabela 23. Uticaj različitih faktora na verovatnoću razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije kod bolesnika sa sepsom

Statistički parametri Ispitivani prediktori MODS-a	B	Statistička značajnost p	Količnik verovatnoće	95% interval poverenja za količnik verovatnoće	
				Donja granica	Gornja granica
Trombomodulin (ng/ml)	0,17	<b><u>0,03</u></b>	1,18	1,01	1,38
Broj komorbiditeta	- 0,01	0,98	0,99	0,59	1,68
Dan prijema u bolnicu	- 0,24	0,1	0,78	0,59	1,05
D-dimer (ng/ml)	0,00	<b><u>0,04</u></b>	1	1	1
SOFA skor	0,82	<b><u>0,00</u></b>	2,27	1,67	3,1
PC (%)	- 0,00	0,31	0,99	0,96	1,01
PCT (ng/ml)	- 0,00	0,29	0,99	0,99	1,03

Binarna logistička regresija bila je sprovedena kako bi se ocenio uticaj više faktora na verovatnoću da će kod bolesnika sa sepsom u toku prvih 48 časova hospitalizacije doći do razvoja MODS-a. Ispitivani su uticaj dana prijema u bolnicu od pojave prvih simptoma bolesti, uticaj broja komorbiditeta, vrednosti SOFA skora izračunatih na prijemu, kao i vrednosti markera koagulacije

i endotelne aktivacije koji su pokazali najveću statističku značajnost u razlikovanju grupa bolesnika sa i bez MODS-a- vrednosti trombomodulina, D-dimera i PC.

Ceo model sa svim prediktorima pokazuje statističku značajnost  $\chi^2(6, N=150)=86,08$   $p < 0,00$ . Model u celini objašnjava između 53,8% i 72,7% varijanse i tačno klasifikuje 88% slučajeva. Tri nezavisne promenljive su dale statistički značajan doprinos modelu (vrednosti SOFA skora, koncentracija trombomodulina i D-dimera). Vrednost PCT-a, PC, dan prijemu u bolnicu i broj komorbiditeta nisu imali uticaj na predviđanje nastanka MODS-a.

#### 4.2.5. Prognostički značaj pokazatelja poremećaja hemostaze i biomarkera endotelne aktivacije za predviđanje smrtnog ishoda kod bolesnika sa sepsom

Tabela 24. Opšte karakteristike bolesnika u odnosu na razvoj smrtnog ishoda u toku 28 dana

ISHOD Parametar	PREŽIVELI n (103) (68,7%) ili $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	UMRLI n (47) (31,3%) ili $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	Statistička značajnost p
Pol: muški/ženski (59,3%/40,7%)*	61/42	28/19	p=1,0
Godine života**	58,34±17,25 (18-87)	64,10±13,86(32-83)	p=0,07
APACHE II**	12,68±6,1 (3-33)	20,08±7,94 (9-44)	<b><u>0,00</u></b>
SOFA**	4,68±3,04 (0-13)	8,02±4,07 (3-19)	<b><u>0,00</u></b>



PCT (ng/ml)**	63,53±111,86 (0,5-611,5)	45,84± 79,74 (0,50-468,7)	p=0,78
CRP (mg/l)**	226,14±96,7 (23-477,3)	222,11± 157,2 (6,80-730,0)	p=0,30
Broj leukocita ( $\times 10^9/l$ )**	15,33±10,77 (0,6-72)	17,53±15,64 (1,6-81,5)	p=0,66
Broj komorbiditeta**	0,98±2 (0-4)	1,21±1,06 (0-3)	p=0,22
Dan prijema**	3,03±2,19 (1-10)	3,53±3,31 (1-20)	p=0,51
Dužina hospitalizacije**	18,07±10,97 (2-49)	10,19±9,61 (1-28)	<b><u>0,00</u></b>

\*-  $\chi^2$  test nezavisnosti, \*\*-Man Vitnjev test

Analizom polne strukture i uzrasta bolesnika u grupama nije zabeležena statistički značajna razlika između bolesnika sa sepsom koji su preminuli u toku 28 dana hospitalizacije i kod bolesnika koji su preživeli ( $\chi^2=0,002$ ,  $p=1,0$ ; Man Vitnjev test  $p=0,07$ ).

U ispitivanim grupama bolesnika sa sepsom koji su imali nepovoljan ishod bolesti zabeležene su statistički značajno više vrednosti APACHE II ( $U=1095$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-1,79$ ;  $r=0,14$ ) i SOFA skora ( $U=1203,5$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-4,95$ ;  $r=0,4$ ).

Nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike među ispitivanim grupama u odnosu na ishod bolesti za vrednosti koncentracije PCT-a, CRP-a i broja leukocita (Man Vitnjev test:  $p=0,78$ ,  $p=0,30$  i  $0,66$  sledstveno). Vrednosti PCT-a su čak bile više u grupi bolesnika koji su imali povoljan ishod bolesti.

Nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa pacijenata u odnosu na ishod oboljenja u vezi sa brojem komorbiditeta (Man Vitnjev test,  $p=0,22$ ), ili brojem dana koji su protekli do prijema u bolnicu od pojave prvih simptoma bolesti (Man Vitnjev test,  $p=0,51$ ).

Zabeležena je statistički značajna razlika između ispitivanih grupa bolesnika u odnosu na razvoj mortaliteta tokom 28 dana hospitalizacije za dužinu ukupnog trajanja hospitalizacije, a bolesnici kod kojih je došlo do razvoja smrtnog ishoda su imali statistički značajno kraće trajanje hospitalizacije (Man-Vitnjev test:  $U=1230,5$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-4,83$ ;  $r=0,39$ ).

Grafikon 39. ROC kriva vrednosti APACHE II i SOFA skora u proceni nastanka smrtnog ishoda tokom 28 dana hospitalizacije

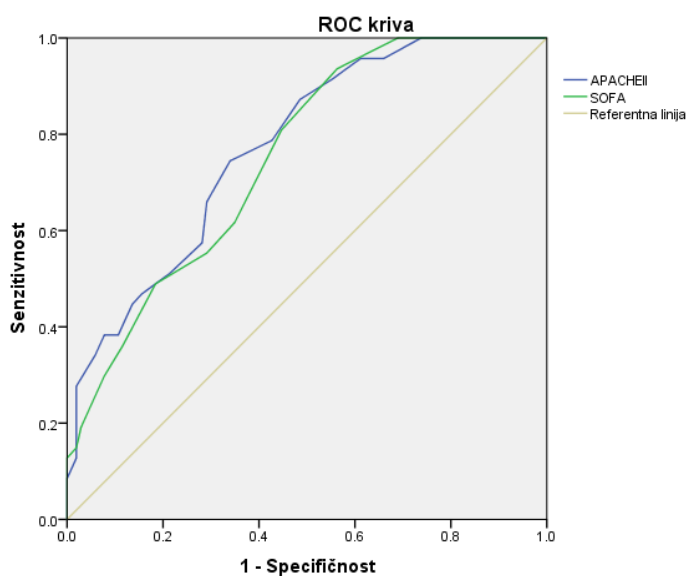


Tabela 25. AUC ROC krive vrednosti APACHE II i SOFA skora u proceni nastanka smrtnog ishoda tokom 28 dana hospitalizacije kod bolesnika sa sepsom

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)
APACHE II skor	<b><u>0,00</u></b>	0,77
SOFA skor	<b><u>0,00</u></b>	0,75

Na osnovu podataka sa grafikona 39. i iz tabeli 25. se može videti da APACHE II i SOFA skor i imaju statistički značajan potencijal u proceni da li će ishod oboljenja biti nepovoljan ili povoljan u toku 28 dana kod bolesnika sa sepsom.

Tabela 26. Vrednosti osnovnih pokazatelja mehanizma hemostaze u grupi bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj smrtnog ishoda u toku 28 dana

ISHOD Parametar	PREŽIVELI n (103) (68,7%) ili $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	UMRLI n (47) (31,3%) ili $(\bar{X}) \pm SD$ (Min-Max)	Statistička značajnost p
APTT (R)*	1,41±0,59 (0,66-4,33)	1,7±0,71 (0,76-3,76)	<b><u>0,00</u></b>
PT (R)*	1,53±0,67 (0,88-5,35)	2,03±0,91 (1,12-5,44)	<b><u>0,00</u></b>
TT (R)*	0,86±1,07 (0,69-1,23)	0,95±0,3 (0,66-2,50)	p=0,16

D-dimer (ng/ml)*	2153,4±2518,9 (133-20870)	4139,29±6720,76 (327-33000)	p=0,13
Fibrinogen (g/l)**	5,45±1,43 (0,98-11,38)	4,33±1,83 (0,83-8,42)	<b><u>0,00</u></b>
Euglobulinsko vreme lize koaguluma > 120min (93,3%)/ 120min (6,7%)*	5/55	5/85	0,72
Broj trombocita (x10 <sup>9</sup> /l)*	208,84±135,61 (3-641)	171,93±117,67 (11,8-538)	p=0,12

\* Man Vitnjev test, \*\*- T-test nezavisnih uzoraka,\*\*\*-  $\chi^2$  test nezavisnosti

Iz tabele 26. se uočava da su vrednosti APTT-a (U=1636,5; p=0,00; z=-3,18; r=0,26) i PT-a (U=1343,5; p=0,00; z=-4,36; r=0,36) bile statistički značajno više u grupi bolesnika kod kojih je došlo do smrtnog ishoda tokom 28 dana od početka hospitalizacije.

ManVitnjevim testom nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa pacijenata, u smislu ishoda bolesti, od sepsa u odnosu na vrednosti TT-a (p=0,16).

Vrednosti D-dimera se nisu statistički značajno razlikovale između bolesnika sa sepsom koji su imali nepovoljan ishod i bolesnika koji su preživeli (p=0,13).

Vrednosti fibrinogena su bile statistički značajno niže u grupi bolesnika sa sepsom kod kojih je došlo do smrtnog ishoda tokom 28 dana od početka hospitalizacije u odnosu na bolesnike kod kojih je klinički tok sepsa bio povoljan (T-test nezavisnih uzoraka t-72,77=3,69, p=0,00; prosečna razlika 1,11; 95% interval poverenja 0,51-1,72).

$\chi^2$  testom nije zabeležena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa pacijenata u zavisnosti od toga da li je došlo do razvoja smrtnog ishoda, odnosu na vrednosti euglobulinskog vremena lize koaguluma kod bolesnika kod kojih nije došlo do razvoja MODS-a ( $\chi^2=2,79$   $p=0,72$ ). Takođe, nije zabeležena statistički značajna razlika između bolesnika sa sepsom kod kojih je došlo do razvoja smrtnog ishoda i kod bolesnika koji su preživeli u vrednostima broja trombocita ( $p=0,11$ ).

Grafikon 40. ROC krive vrednosti APTT-a i PT-a kod bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj smrtnog ishoda u toku 28 dana

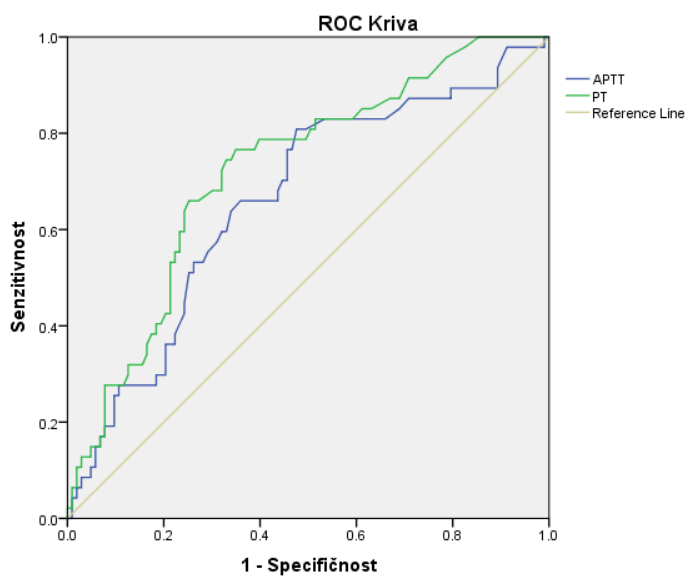
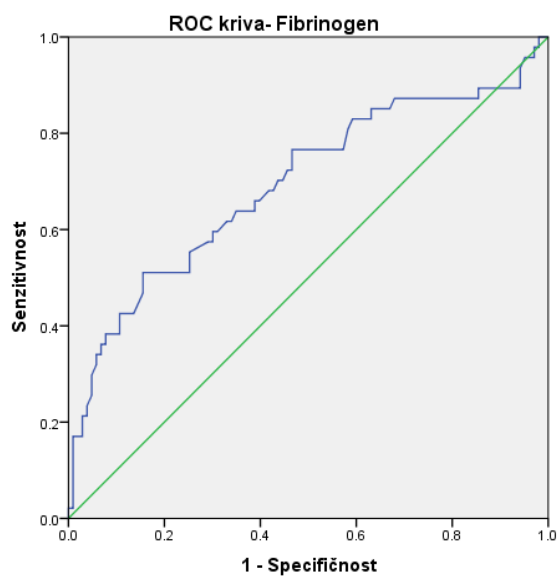


Tabela 27. Statistička značajnost i površina ispod (AUC) ROC krive vrednosti APTT-a, PT-a i fibrinogena kod bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj smrtnog ishoda u toku 28 dana

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)
APTT (R)	<b><u>0,00</u></b>	0,66
PT (R)	<b><u>0,00</u></b>	0,72
Fibrinogen (g/l)	<b><u>0,00</u></b>	0,69

Grafikon 41. ROC kriva vrednosti fibrinogena kod bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj smrtnog ishoda u toku 28 dana od početka hospitalizacije



Na osnovu podataka prikazanih na grafikonima 40. i 41., kao i u tabeli 27. se uočava da su APTT, PT i koncentracija fibrinogena kod bolesnika sa sepsom statistički značajni faktori koji mogu

doprineti identifikaciji bolesnika sa sepsom kod kojih će doći do nastanka smrtnog ishoda tokom 28 dana od početka hospitalizacije.

Tabela 28. Vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije u grupi bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj smrtnog ishoda u toku 28 dana

ISHOD Parametar	PREŽIVELI n=103 (68,7%) ( $\bar{X}$ ) ± SD (Min-Max)	UMRLI n=47 (31,3%) ( $\bar{X}$ ) ± SD (Min-Max)	Statistička značajnost p
AT(%)*	62,98±19,80 (20-122)	49,62±21,46 (8-98)	<b><u>0,00</u></b>
PC (%)*	53,59±20,99 (3-104)	45,13±22,82 (14-108)	<b><u>0,03</u></b>
PS (%)**	61,30±23,59 (22,2-156,5)	49,67±20,02 (18,3-111,1)	<b><u>0,00</u></b>

\*T-test nezavisnih uzoraka, \*\*-Man Vitnjev test

T-testom nezavisnosti je utvrđeno da je koncentracija AT značajno bila snižena kod bolesnika kod kojih je došlo do razvoja smrtnog ishoda u odnosu na ispitanike kod kojih nije došlo do razvoja smrtnog ishoda ( $t(148)=3,73$ ,  $p=0,00$ ; prosečna razlika =13,36; 95% interval poverenja 6,29-20,69). Vrednosti PC su takođe bile statistički značajno snižene u grupi bolesnika kod kojih je došlo do razvoja smrtnog ishoda ( $t(148)=2,23$ ,  $p=0,03$ ; prosečna razlika=8,46; 95% interval poverenja 0,96-15,97).

Man Vitnijevim testom je utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa bolesnika kod kojih je došlo do nastanka smrtnog ishoda i kod bolesnika kod kojih nije nastupio smrtni ishod, a koncentracija PS je bila niža u grupi sa nepovoljnijim ishodom ( $U=1682,5$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-2,9$ ;  $r=0,24$ ).

Grafikon 42. ROC krive vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije kod bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj smrtnog ishoda u toku 28 dana

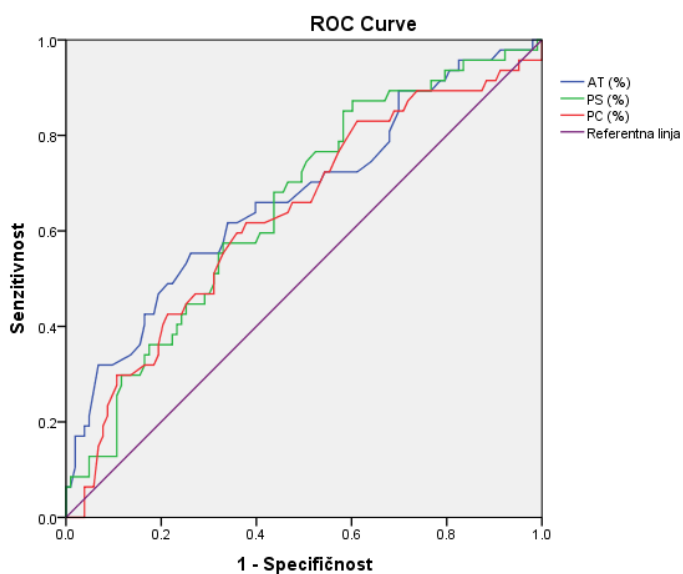




Tabela 29. Statistička značajnost i površina ispod (AUC) ROC krive prirodnih inhibitora koagulacije kod bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj smrtnog ishoda u toku 28 dana od početka hospitalizacije

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)
AT	<b><u>0,00</u></b>	0,67
PC	<b><u>0,01</u></b>	0,65
PS	<b><u>0,00</u></b>	0,63

Na osnovu podataka prikazanih na grafikonu 42. i u tabeli 29. se može uočiti da prirodni inhibitori koagulacije imaju statistički značajnu sposobnost, odnosno potencijal u razlikovanju bolesnika sa sepsom kod kojih će doći do razvoja smrtnog ishoda tokom 28 dana hospitalizacije, u odnosu na one bolesnike kod kojih neće doći do razvoja smrtnog ishoda.

Tabela 30. Vrednosti biomarkera endotelne aktivacije i ETP-a kod bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj smrtnog ishoda u toku 28 dana

ISHOD Parametar	PREŽIVELI n=103 (68,7%) ( $\bar{X}$ ) ± SD (Min-Max)	UMRLI n=47 (31,3%) ( $\bar{X}$ ) ± SD (Min-Max)	Statistička značajnost p
vWF antigen (%)*	463,9±171,09 (149,5-1120,5)	410,14±142,96 (135,4-599,5)	p=0,17
vWF aktivnost (%)*	349,5±173,31 (37,9-673,9)	316,93±153,84 (62,6-600,6)	p=0,31
Endokan (ng/ml)*	2,25±2,19 (0,37-10)	4,06±2,92 (0,53-10)	<b><u>0,00</u></b>
Trombomodulin (ng/ml)*	8,97±4,37 (3,5-24,5)	9,87±4,98 (3-23)	p=0,27
ETP (AUC%)*	81,79±32,15 (35-198)	67,66 ±37,79 (22-198)	<b><u>0,00</u></b>

\*-ManVitnijev test

Podaci iz tabele 30. prikazuju da nije zabeležena statistički značajna razlika između grupe bolesnika sa sepsom kod kojih je došlo do razvoja smrtnog ishoda tokom 28 dana od početka hospitalizacije u vrednostima trombomodulina, vWF aktivnosti i antigena. Vrednosti koncentracije endokana su bile statistički značajno povišene u grupi bolesnika kod kojih je došlo

do razvoja smrtnog ishoda ( $U=11337,5$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-4,39-$ ;  $r=0,36$ ), a zabeležena je statistički značajno niža vrednost ETP-a kod bolesnika koji nisu preživeli tokom 28 dana od početka hospitalizacije ( $U=1550,5$ ;  $p=0,00$ ;  $z=-3,53-$ ;  $r=0,29$ ).

Grafikon 43. ROC kriva za vrednosti endokana kod bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj smrtnog ishoda u toku 28 dana od početka

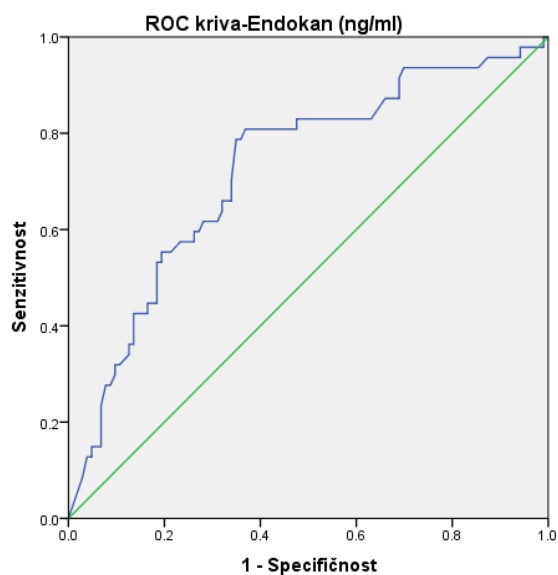
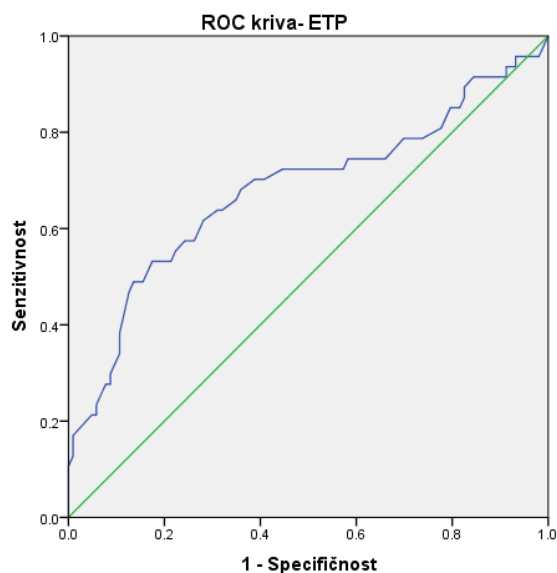


Tabela 31. Statistička značajnost i površina ispod (AUC) ROC krive vrednosti endokana i ETP-a (AUC%) kod bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj smrtnog ishoda u toku 28 dana

Parametar	Statistička značajnost p	Površina ispod ROC krive (AUC)
Endokan (ng/ml)	<b><u>0,00</u></b>	0,72
ETP (AUC%)	<b><u>0,00</u></b>	0,68

Grafikon 44. ROC (kriva vrednosti ETP-a kod bolesnika sa sepsom u odnosu na razvoj smrtnog ishoda u toku 28 dana



Na osnovu konstruisanih ROC krivih i površine ispod krivih (AUC) (podaci prikazani na grafikonima 43. i 44., kao i u tabeli 31.) se može uočiti da pokazatelj endotelne aktivacije-endokan, a takođe i ETP imaju statistički značajnu sposobnost u razlikovanju bolesnika kod kojih

će doći do razvoja smrtnog ishoda, u odnosu na one bolesnike kod kojih je će ishod sepsa biti povoljan nakon 28 dana od početka hospitalizacije.

Tabela 32. Uticaj različitih faktora na verovatnoću razvoja smrtnog ishoda tokom 28 dana od početka hospitalizacije kod bolesnika sa sepsom

Statistički parameter Ispitivani prediktor	B	Statistička značajnost p	Količnik verovatnoće	95% Interval poverenja za količnik verovatnoće	
				Donja granica	Gornja granica
Endokan (ng/ml)	.0,22	<b><u>0,01</u></b>	1,25	1,05	1,48
PCT (ng/ml)	-0,00	<b><u>0,05</u></b>	0,99	0,99	1
PT (R)	0,41	0,19	1,5	0,81	2,78
APACHE II	0,16	<b><u>0,00</u></b>	1,18	1,01	1,27
AT (%)	-.0,02	<b><u>0,05</u></b>	0,98	0,96	1

Binarna logistička regresija je bila sprovedena kako bi se ocenio uticaj više faktora na verovatnoću da će kod bolesnika sa sepsom u toku 28 dana od početka hospitalizacije doći do razvoja smrtnog ishoda. Ispitani su uticaj vrednosti koncentracije proinflamornog markera PCT, vrednosti APACHE II skora izračunatog na prijemu u bolnicu, kao i vrednosti markera koagulacije i endotelne aktivacije koji su pokazali najveću statističu značajnost u razlikovanju grupa bolesnika

kod kojih je došlo do razvoja smrtnog ishoda tokom 28 dana i bolesnika koji su imali povoljan ishod bolesti (PT (R), endokan (ng/ml) i AT (%)).

Ceo model sa svim prediktorima pokazuje statističku značajnost  $\chi^2(5, N=150)=55,2$   $p < 0,00$ . Model u celini objašnjava između 30,8% i 43,3% varijanse i tačno klasifikuje 79,3% slučajeva.

Pored vrednost APACHE II skora, koncentracija endokana je imala visoku statističku značajnost u vidu prediktora smrtnog ishoda, dok su vrednosti AT i PCT-a pokazale takođe statističku značajnost u predviđanju smrtnog ishoda, ali u manjoj meri.

## **5. DISKUSIJA**

### **5.1. DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ POKAZATELJA POREMEĆAJA HEMOSTAZE I BIOMARKERA ENDOTELNE AKTIVACIJE KOD BOLESNIKA SA SEPSOM**

Dijagnostika infekcije, a samim tim i sepse je često problem u jedinicama intenzivnog lečenja, s obzirom na to da kritično oboleli pacijenti uglavnom imaju i druga oboljenja i stanja zbog kojih im je uključena antibiotska terapija, te je oslanjanje na prisustvo dokumentovane infekcije kao osnove u postavljanju dijagnoze sepse veoma otežano (140). Prisustvo SIRS-a koje se javlja u toku sepse se klinički ne razlikuje od SIRS-a neinfektivne etiologije, jer i invazivna infekcija i sterilna nekroza tkiva dovode do aktivacije inflamacije i imunomodulatornih mehanizama koji se manifestuju identičnom kliničkom slikom (20). Zbog toga se u savremenoj literaturi sve više predlaže koncept dijagnostike sepse ne samo kao prisustva infekcije uz dva pozitivna SIRS kriterijuma (jer i blaže virusne infekcije mogu biti praćene febrilnošću i tahikardijom), već sepse kao odrednice koja će ukazivati na kritično obolele pacijente koji imaju infekciju sa sistemskim reperkusijama na organizam, koje dovode do određenog stepena disfunkcije organa i organskih sistema (20).

Imajući u vidu da se osnove patofizioloških promena u sepsi odigravaju na endotelu, dovodeći do njegovog oštećenja i aktivacije, što sledstveno modulira procese kako inflamacije, tako i koagulacije, jedan od ciljeva ovog istraživanja je bio da se ispita dijagnostički značaj pokazatelja endotelne aktivacije i markera koagulacije, kao pokazatelja (dis)funkcije endotela (kao posebnog organskog sistema) kod obolelih od sepse u odnosu na zdravu populaciju (4-10, 12).

### 5.1.1. Demografski podaci

Istraživanjem je obuhvaćeno ukupno 180 ispitanika, od čega je 150 ispitanika imalo postavljenu dijagnozu sepse, prema prethodno definisanim kriterijumima, dok je 30 ispitanika predstavljalo kontrolnu grupu, klinički i biohemijski zdravih ispitanika, dobrovoljnih davalaca krvi.

U obe grupe većina ispitanika su bile osobe muškog pola (59,33% u grupi obolelih od sepse, a 73,33% u ispitivanoj kontrolnoj grupi). Predominacija muškog pola u uzorku ispitivanih bolesnika je u saglasnosti sa literaturnim podacima po kojima muškarci imaju 30% više šanse da obole od sepse u odnosu na žene (32, 141). Takođe, predominacija muškog pola u uzorku zdravih ispitanika-dobrovoljnih davalaca krvi se objašnjava time što su osobe muškog pola u prilici da češće daju krv u odnosu na osobe ženskog pola (interval između davanja krvi je 3 meseca za muškarce i 4 meseca za žene u našoj državi) (142). Nije zabeležena statistički značajna razlika između grupe obolelih od sepse i kontrolne grupe zdravih ispitanika u odnosu na polnu strukturu.

Prosečna starost bolesnika sa sepsom je bila  $60,15 \pm 16,44$  godina, što je u skladu sa literaturnim podacima po kojima srednja vrednost godina pacijenata sa sepsom iznosi od 60 do 65 godina (141). Literaturni podaci takođe pokazuju da je incidenca sepse 13 puta veća u populaciji bolesnika koji su stariji od 65 godina, odnosno očekivano je da će hospitalizovani bolesnici sa kliničkom slikom sepse biti starije životne dobi (141).

Prosečna starost zdravih ispitanika je bila  $43,53 \pm 10,23$  godine. Utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa bolesnih i zdravih u odnosu na godine života, što se može objasniti činjenicom da je izbor kontrolne grupe zdravih ispitanika bio ograničen na ispitanike mlađe od 55 godina. Ovakav odabir kontrolne grupe ispitanika je konstruisan da bi se izbegao uticaj godina na promene koje se dešavaju u endotelu starenjem, kao što su atenuacija



endotelno-zavisnih dilatatornih sposobnosti krvnih sudova, promene ekspresije i aktivnosti endotelne NO-sintaze, kao i oslobađanje slobodnih kiseoničnih radikala, što je praćeno smanjenjem sposobnosti regeneracije endotela i povećanjem apoptoze endotelних ćelija, što bi sve zajedno moglo uticati na vrednosti koncentracije biomarkera aktivacije endotela (143). Da bismo proverili potencijalni uticaj godina na vrednosti pokazatelja funkcije mehanizma hemostaze i endotela, naknadno smo sprovedi dodatne analize koji su eliminisale ovu razliku u godinama između ispitanika kontrolne grupe i bolesnika sa sepsom.

### **5.1.2. Osnovni pokazatelji funkcije mehanizma hemostaze u grupi bolesnika sa sepsom i u kontrolnoj grupi zdravih ispitanika**

Prilikom analize osnovnih pokazatelja koagulacionog sistema dobijeni rezultati ukazuju da su vrednosti APTT-a i PT-a bile statistički značajno više u grupi bolesnika sa sepsom u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika. Takođe je uočljivo da su vrednosti ovih parametara koagulacionog mehanizma bile izvan referentnog opsega vrednosti, što je i očekivano jer je poremećaj koagulacije koji se manifestuje vrednostima INR-a višim od 1,5 ili APTT-om dužim od 60s jedan od kriterijuma za identifikaciju bolesnika sa sepsom, po najnovijim smernicama (3).

S obzirom na to da sistemska inflamacija značajno utiče na stanje hemostaznog mehanizma, naši rezultati potvrđuju činjenicu da se ove promene jednostavno mogu detektovati osnovnim testovima mehanizma hemostaze koji su lako dostupni u svakoj bolničkoj laboratoriji (4-10).

U naučnoj literaturi se ističe značaj kako produženja APTT-a, tako i pre svega bifazične krive APTT-a u identifikaciji bolesnika sa sepsom, kao dragocenog markera koji u 96% slučajeva tačno klasifikuje bolesnike u odnosu na to da li imaju ili nemaju sepsu, dok se značaj produženja PT-a

manje ističe u postavljanju dijagnoze sepse, iako literaturni podaci govore u prilog tome da je i ovo vreme koagulacije produženo kod obolelih od sepse u odnosu na zdravu populaciju (10, 11, 13, 143).

Za razliku od produženja APTT-a i PT-a kod ispitanika obolelih od sepse, u našem istraživanju TT je bilo statistički značajno kraće kod bolesnika sa sepsom u odnosu na zdrave ispitanike. U naučnoj literaturi koja se bavila istraživanjem poremećaja hemostaze kod bolesnika sa sepsom u odnosu na zdravu populaciju, nije istican značaj TT-a kao parametra koji bi mogao imati značaj uvida u poremećaje mehanizma hemostaze. To je razumljivo, s obzirom na to da se ovaj pokazatelj u kliničkoj praksi koristi uglavnom za praćenje lečenja intravenskom primenom nefrakcionisanog heparina kao i prisustva disfibrinogenemija, što nije bio predmet ovakvih istraživanja, dok se drugi poremećaji koji bi uticali na produženje TT-a kao što su hipofibrinogenemije, prisustvo fibrin-degradacionih produkata, odnosno razvoj DIK-a detektovani drugim metodama (10, 13, 61, 118, 143).

U našem istraživanju pojedni ispitanici u grupi obolelih od sepse su imali ekstremno produženo TT, iako je većina ispitanika imala vrednosti TT-a niže od prosečne vrednosti. Ovo ekstremno produženje TT-a je zabeleženo kod bolesnika koji su u okviru sepse razvili komplikacije u vidu DIK-a, te zabeleženo produženje TT-a, uz produženje APTT-a, PT-a i druge manifestne poremećaje koagulacije nije bio neočekivan nalaz (61, 70, 117, 118).

S obzirom na to da prosečne vrednosti TT-a nisu odstupale od referentnog opsega vrednosti ni u jednoj ispitivanoj grupi, kao i da razlika u vrednostima TT-a između ispitivanih grupa, iako je statistički značajna nema veliki uticaj ( $r=0,22$ ) vrednost TT-a kao parametra i pokazatelja funkcije

mehanizma koagulacije kod obolelih od sepse u odnosu na zdravu populaciju ostavlja prostor za dalja istraživanja.

Prilikom analize i interpretacije pokazatelja funkcije mehanizma hemostaze, analiza koncentracije fibrinogena i fibrin-degradacionih produkata, odnosno D-dimera su nezaobilazne ukoliko postoji sumnja na patološku aktivaciju koagulacionog mehanizma i potencijalni razvoj DIK-a (61, 70, 117, 118, 144).

Imajući u vidu činjenicu da se u toku sepse, uz razvoj sistemske inflamacije postepeno povećava aktivacija koagulacije koja se odvija posredstvom TF, što simultano dovodi do supresije fibrinolitičkog sistema i favorizovanja prokoagulantnog stanja koje može dovesti do nastanka trombova u malim krvnim sudovima, uz sekundarni razvoj potrošne koagulopatije i DIK-a, u našem istraživanju smo merili koncentracije D-dimera, fibrinogena, a takođe smo određivali i euglobulinsko vreme lize koaguluma da bismo detaljnije istražili razlike stanja, očuvanosti i aktivacije mehanizma hemostaze kod bolesnika sa sepsom, u odnosu na zdravu populaciju (4-10, 55).

Koncentracija D-dimera je bila statistički značajno više kod bolesnika sa sepsom u odnosu na vrednosti u zdravoj populaciji. Iako je većina ispitanika imala koncentracije D-dimera manje od zabeležene prosečne vrednosti u istraživanoj grupi, ove vrednosti su ipak značajno odstupale od referentnog opsega, za razliku od vrednosti D-dimera u zdravoj populaciji. Naši rezultati su slični sa rezultatima studije *Kinasewitz*-a i saradnika koji su, između ostalog, poredili i vrednosti D-dimera kod bolesnika sa sepsom u odnosu na vrednosti u zdravoj populaciji, kada je utvrđeno da 99,7% bolesnika sa sepsom ima povišenu koncentraciju D-dimera, čija srednja vrednost je u ovoj studiji iznosila 4200 ng/ml (10).

Iako se koncentracija fibrinogena, prema trenutno aktuelnim smernicama za dijagnostiku DIK-a, smatra jednim od značajnih pokazatelja mogućeg razvoja ovog dramatičnog disbalansa mehanizma hemostaze, u naučnoj literaturi sve više preovlađuju stavovi da s obzirom na činjenicu da je fibrinogen reaktant akutne faze, njegov nivo u plazmi može ostati u referentnom opsegu tokom dužeg vremenskog perioda i uprkos povećanoj potrošnji (61, 70, 144).

Razlika koncentracije fibrinogena je bila statistički značajno viša u grupi obolelih kod sepse u odnosu na zdravu populaciju. Povišene vrednosti fibrinogena u grupi bolesnika sa sepsom u našem uzorku se mogu objasniti upravo time što se koncentracije ovog molekula kao reaktanta akutne faze inicijalno rastu u stanjima inflamacije, u ovom slučaju prouzrokovane infekcijom (145). Novija istraživanja pokazuju da razvijanje DIK-a tokom sepse nema inicijalno predominantno karakteristike fibrinogenolize i fibrinolize, koje su karakteristične za DIK koji će se pretežno manifestovati nekontrolisanim krvarenjem, te je prema preporukama Japanskog udruženja za akutnu medicinu (*Japanese Association for Acute Medicine-JAAM*) iz scoring sistema za procenu rizika od razvoja DIK-a vrednost fibrinogena, kao zasebnog parametra izostavljena (146).

Prilikom analize vrednosti euglobulinskog vremena lize koaguluma nije zabeležena statistički značajna razlika između grupe obolelih od sepse i kontrolne grupe. U obe grupe kod većine ispitanika euglobulinsko vreme lize koaguluma je bilo duže od 120 minuta- kod 93,33% u grupi obolelih od sepse, a kod 100% ispitanika u kontrolnoj grupi. Hiperfibrinoliza (euglobulinsko vreme lize koaguluma kraće od 120 minuta) je zabeleženo kod 10 bolesnika sa sepsom, dok ostali pacijenti nisu imali poremećenu fibrinoliznu aktivnost detektabilnu ovim testom, što je takođe u skladu sa prethodno navedenim podacima da se poremećaji u fibrinolitičkoj aktivnosti u sepsi ne javljaju predominantno u vidu hiperfibrinolize (10, 143, 146).

U okviru poremećaja hemostaze koji se javljaju kod bolesnika sa sepsom evidentni su i poremećaji sistema prirodnih inhibitora koagulacije, koji se manifestuje sniženjem vrednosti koncentracije AT, PC i PS usled nedovoljne sinteze i povećane degradacije i potrošnje (10, 62-67, 81, 143). S obzirom na sniženu vrednost, pre svega AT i PC tokom sepse i sistemske inflamacije, postoji inicijativa po kojoj bi se ovi proteini nazvali negativnim proteinima akutne faze, za razliku od pozitivnih proteina akutne faze čije su vrednosti povišene u toku sistemske inflamacije (69, 147, 148). Ova činjenica je potvrđena i našim rezultatima, jer su kod bolesnika sa sepsom zabeležene statistički značajno niže koncentracije prirodnih inhibitora koagulacije- PC, PS i AT, dok su vrednosti ovih molekula u zdravoj populaciji bile u referentnom opsegu.

Kao što je već istaknuto, poremećaji mehanizma hemostaze koji se javljaju u toku razvoja sepse se često manifestuju produženim vremenima koagulacije, koja nisu idealan pokazatelj dešavanja hemostaze „in vivo“, s obzirom na to da se njima može steći uvid samo u ranu fazu hemostatskog procesa, kao i da na njih mogu delovati i drugi faktori koji remete uvid u fiziološko stanje. Ovo produženje vremena koagulacije upravo zbog toga ne upućuje *a priori* na to da u toku razvoja sepse inicijalno dolazi do povećanog rizika od krvarenja, što se često pogrešno interpretira u kliničkoj praksi i tretira primenom transfuzije sveže smrznute plazme (SSP), iako istraživanja pokazuju da koncentracije pojedinačnih faktora koagulacije i pored produženja vremena koagulacije nisu značajno snižene (143, 149, 150).

Iz ovih razloga, u cilju preciznijeg uvida u stanje hemostaznog mehanizma, analizirali smo vrednosti ETP-a kod obolelih od sepse u odnosu na zdravu populaciju, a dobijeni rezultati ukazuju na to da su vrednosti ETP-a u populaciji bolesnika sa sepsom bile statistički značajno niže u odnosu na populaciju zdravih ispitanika. Iako je zabeležena razlika relativn mala ( $r=0,25$ ), ipak može

ukazivati na to da su pojedini bolesnici sa sepsom već na prijemu u bolnicu imali hemostazu poremećenu u tolikom opsegu, da je postojao povećan rizik od krvarenja (10,123-125, 143).

Patofiziološke promene koje se odvijaju u sepsi pod uticajem proinflammatoryh citokina prevažno dovode do aktivacije i promena u endotelu, koje se inicijalno mogu detektovati samo sofisticiranim tehnikama koje podrazumevaju određivanje koncentracije molekula- pokazatelja oštećenja endotela, a kasnije mogu dovesti do veoma ozbiljnih komplikacija kao što su oštećenje organa i organskih sistema i razvoja DIK-a i MODS-a (8, 9, 12, 117). U cilju određivanja opsega oštećenja endotela i potencijalne upotrebe biomarkera pokazatelja aktivacije endotela, u grupama zdravih i ispitanika sa sepsom smo merili i upoređivali koncentracije endokana, trombomodulina i vWF antigena i njegove aktivnosti.

Vrednosti svih ispitivanih pokazatelja aktivacije endotela su bile statistički značajno više u odnosu na ispitivanu kontrolnu grupu dobrovoljnih davalaca krvi. Naši rezultati su u skladu sa literaturnim podacima po kojima su vrednosti vWF antigena bile značajno više kod bolesnika sa sepsom u odnosu na bolesnike sa SIRS-om neinfektivne etiologije, kao i u odnosu na druge kritično obolele pacijente koji nisu imali sepsu (131, 133, 151, 152). U istraživanju koje su sproveli *Hovinga* i saradnici zabeležene su i više vrednosti vWF aktivnosti kod bolesnika sa sepsom u odnosu na zdrave ispitanike (131, 152). Vrednosti svih navedenih biomarkera takođe su ukazivale na oštećenje endotela u okviru sistemske inflamacije u sepsi (103, 128, 131, 133, 134, 135, 138, 139, 151-155).

Iako se u pregledu literature trombomodulin ne označava primarno isključivo kao pokazatelj disfunkcije endotela, s obzirom da se fokus usmerava na njegovu funkciju konverzije prokoagulantnog trombina u antikoagulantni enzim i aktivaciju PC, ovaj molekul svakako

pronalazi mesto u paleti biomarkera pokazatelja disfunkcije endotela. Istraživanja pokazuju da se koncentracije solubilne frakcije ovog molekula povećavaju u plazmi u svim stanjima koja dovode do aktivacije i disfunkcije endotela, što naši rezultati takođe potvrđuju. U našem istraživanju koncentracija trombomodulina bila je statistički značajno viša kod obolelih od sepse u odnosu na zdravu populaciju (128, 153, 154).

Istraživanja koja su se bavila značajem koncentracije endokana u sepsi su malobrojna, jer je ovaj molekul identifikovan tek u prošloj deceniji, a povezanost njegove koncentracije sa potofiliološkim dešavanjima u sepsi je otkrivena 2006. godine (134, 135, 138). Koncentracija endokana, koja je u našem istraživanju bila statistički značajno povišena u grupi obolelih od sepse, je takođe potvrdila rezultate prethodnih istraživanja u kojima je koncentracija endokana bila povišena kod bolesnika sa sepsom u odnosu na bolesnike sa SIRS-om neinfektivne etiologije i zdrave ispitanike (103, 131, 138). Značajno povišena koncentracija endokana kod bolesnika preminulih od sepse u odnosu na kontrolnu grupu ispitanika koji nisu imali sepsu je opisana i u rezultatima istraživanja koje su ove godine sproveli *Palmiere* i *Augsburger*. Navedeni autori su određivali koncentraciju endokana *post mortem* u serumu i perikardnoj tečnosti ispitanika, te na taj način potvrdili značaj ovog molekula u identifikaciji bolesnika sa sepsom, čak i nakon smrti (139).

S obzirom na to da su se ispitivane grupe u našem istraživanju razlikovale statistički značajno u odnosu na godine života, nakon inicijalno sprovedenih statističkih analiza, uradili smo i dodatne statističke analize (ANCOVA) u cilju detaljnije provere statističke značajnosti za ispitivane pokazatelje funkcije mehanizma hemostaze i endotelne aktivacije u grupama zdravih ispitanika i ispitanika sa sepsom kada se ukloni uticaj starosti ispitanika.

Rezultati pokazuju da kada se ukloni uticaj godina nema statistički značajne razlike za vrednosti TT-a i ETP-a između zdravih ispitanika i bolesnika sa sepsom, što je i očekivano s obzirom da je i prethodnim analizama utvrđeno da zabeležena statistička značajnost nema veliki uticaj. Kao što je već objašnjeno, starenjem dolazi do određenih promena u endotelu koje mogu dovesti do uticaja na vrednosti ispitivanih parametara hemostaznog mehanizma, te se prethodno zabeležena značajna razlika u vrednostima ETP-a i TT-a može objasniti time što je grupa bolesnika sa sepsom bila starije životne dobi u odnosu na zdrave ispitanike, a literaturni podaci pokazuju da se kod osoba starije životne dobi javljaju starosno zavisne promene hemostaznog mehanizma, koje usled povećanja fibrinogena u ovoj populaciji, kao i povećane potrošnje faktora koagulacije mogu uticati na proces stvaranja trombina (143, 156, 157).

U studijama koje su sproveli *Petros* i saradnici i *Collins* i saradnici takođe nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između obolelih od sepse i zdravih ispitanika za vrednosti ETP-a, što dodatno potvrđuje naše rezultate, po kojim sa ETP ne može smatrati dobrim dijagnostičkim pokazateljem sepse (126, 143).

U cilju ocene diskriminativne sposobnosti ispitivanih parametara za postavljanje dijagnoze sepse, konstruisane su ROC krive i izračunate AUC za osnovne pokazatelje funkcije mehanizma hemostaze i endotelne aktivacije čije su vrednosti bile statistički značajno različite u grupi obolelih od sepse i zdravih ispitanika.

Dobijeni rezultati ukazuju da vrednosti APTT-a, PT-a, D-dimera, fibrinogena, prirodnih antikoagulanasa i markera endotelne aktivacije imaju statistički značajnu i veoma visoku diskriminativnu sposobnost u poređenju grupa zdravih ispitanika i ispitanika obolelih od sepse. Vrednosti PT-a i D-dimera, PC, PS, AT, vWF antigena i aktivnosti, kao i endokana su pokazale



najbolju diskriminativnu sposobnost u diferenciranju obolelih od sepse u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika, što ove molekule označava potencijalnim rani dijagnostičkim biomarkerima.

## **5.2. PROGNOŠTIČKI ZNAČAJ POKAZATELJA POREMEĆAJA HEMOSTAZE I BIOMARKERA ENDOTELNE AKTIVACIJE KOD BOLESNIKA SA SEPSOM**

### **5.2.1. Epidemiološki podaci bolesnika sa sepsom**

U našem istraživanju od 150 bolesnika sa sepsom 59,3% ispitivanih bolesnika su bile osobe muškog pola, dok su 40,7% bile osobe ženskog pola. Kao što je već istaknuto, muški pol predstavlja poznat individualni faktor rizika za razvoj sepse, iako nije poznato da li je uzrok ovome to što su muškarci skloniji razvoju infekcije ili kod njih lakše dolazi do progresije infekcije u sepsu, u odnosu na žene (32). Naši rezultati potvrđuju ovu činjenicu i u skladu su sa rezultatima dobijenim u epidemiološkim studijama koje su sprovedene u Hrvatskoj, Francuskoj, Nemačkoj i drugim evropskim državama, kao i u Kini (32, 141, 158-162).

Prilikom analize polne strukture u našem istraživanju nije zabeležena statistički značajna razlika između različitih grupa pacijenata obolelih od sepse u odnosu na pol.

Ispitivani bolesnici koji su ispunili kriterijume za uključivanje u studiju su bili starosti od 18 do 87 godina, a prilikom analize starosne strukture nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa pacijenata obolelih od sepse u odnosu na težinu kliničke slike sepse na prijemu u bolnicu. Prosečna vrednost godina života kod obolelih od sepse u našem uzorku bolesnika je iznosila  $58 \pm 18,35$  godina, kod obolelih od teške sepse  $61,29 \pm 16,48$  godina, kod

bolesnika sa septičkim šokom  $63,04 \pm 18,09$  godina, a kod bolesnika sa MODS-om na prijemu  $57,31 \pm 18,09$  godina. Pojedina epidemiološka istraživanja pokazuju da je teža klinička forma oboljenja češće prisutna u populaciji starije životne dobi, posebnim faktorom rizika se smatra starost od viša od 65 godina. Naši rezultati mogu se objasniti činjenicom da nijedna ispitivana grupa bolesnika u našem istraživanju nije bila starija od 65 godina, te starost nije značajno uticala na tok kliničke slike (27, 32, 141, 162).

U našem istraživanju kod 53 bolesnika (35,3%) žarište infekcije je bilo potvrđeno mikrobiološki, dok je kod 97 bolesnika (64,7%) dijagnoza infekcije postavljena klinički, što je u skladu sa rezultatima SOAP studije u kojoj je zabeleženo da je mikrobiološka potvrda infekcije bila prisutna kod 38,6% bolesnika (161). Prema epidemiološkim podacima, kod bolesnika sa sepsom mikrobiološka identifikacija žarišta prisutna u 50-60% slučajeva (141). Rezultati EPISEPSIS studije pokazuje da je procenat mikrobiološke potvrde sepse pao za 10%, što se tumači posledicom uvođenja rane empirijske antibiotske terapije kod bolesnika sa sepsom, ponekad ordinirane i pre nego što se uzmu uzorci telesnih tečnosti za mikrobiološka ispitivanja. Ova činjenica bi mogla objasniti i naše rezultate, s obzirom da se u našoj ustanovi poštuje pravilo ranog uvođenja antibiotske terapije širokog spektra kod septičnih bolesnika (159).

Nije zabeležena statistički značajna razlika između toga da li je žarište sepse bilo identifikovano klinički ili mikrobiološki i vrste sepse, što se opet može objasniti primenom rane antibiotske terapije kod ispitivanih bolesnika u našem istraživanju, a svakako i upućuju na činjenicu da se lečenje sepse mora sprovesti prema protokolima u odnosu na kliničku sliku, uprkos odsustvu pozitivnih mikrobioloških kultura.

Hemokulture su bile pozitivne u 18,7% slučajeva ispitivanih bolesnika, dok literaturni podaci pokazuju da su hemokulture uglavnom pozitivne kod jedne trećine bolesnika sa sepsom (141). Manji procenat pozitivnih hemokultura u našem istraživanju se može objasniti time da u 24% slučajeva hemokulture nisu analizirane, uglavnom zbog toga što je kod bolesnika došlo do razvoja smrtnog ishoda, a negativne hemokulture su zabeležene u 57,3% slučajeva, što je u skladu sa literaturnim podacima po kojima su negativne hemokulture prisutne kod dve trećine bolesnika sa sepsom (141).

Nije zabeležena statistički značajna razlika između različitih grupa ispitanika u odnosu na težinu kliničke slike na prijemu i toga da li su analizom hemokultura identifikovani mikroorganizmi u krvi. Ova činjenica takođe govori u prilog tome da se prilikom ordiniranja i revidiranja antibiotske terapije ne treba apsolutno oslanjati na identifikaciju mikroorganizama iz krvi bolesnika, jer klinička slika sepse može biti dramatična sa fatalnim posledicama, uprkos negativnim hemokulturama (163).

U našem istraživanju Gram-negativni uzročnici su izolovani u 19,3% slučajeva, a Gram-pozitivni uzročnici su izolovani kod 16% ispitanika, dok gljivice kao uzročnik sistemske infekcije nisu bile identifikovane. Iako se izazivačima sepse u literaturi uglavnom ističu Gram-negativni mikroorganizmi, koji i jesu bili češće identifikovani u našem istraživanju, slična proporcija Gram-pozitivnih i Gram-negativnih mikroorganizama identifikovanih u našem uzorku bolesnika sa sepsom se može objasniti potvrdom porasta incidence Gram-pozitivnih mikroorganizama kao uzročnika sepse u novijim naučnim podacima (27, 141). U našem istraživanju nije zabeležena statistički značajna razlika između grupa ispitivanih bolesnika u odnosu na to da li su u uzorcima telesnih tečnosti izolovani Gram-pozitivni ili Gram-negativni mikroorganizmi. Iako se u literaturi prisustvo Gram-negativnih mikroorganizama označava jednim od posebnih faktora rizika u

razvoju smrtnog ishoda, literaturni podaci ne ističu značaj Gram-negativnih u odnosu na Gram- pozitivne uzročnike u smislu težine kliničke slike bolesnika sa sepsom na prijemu u bolnicu (27, 32, 141, 159, 161).

U našem uzorku ispitivanih bolesnika sepsa je najčešće bila posledica intraabdominalnih infekcija- u 27,3% slučajeva, urinarnih infekcija (26%), respiratornih infekcije (13%), infekcija mekih tkiva (11%), CNS-a (10%), medijastinitisa (1,3%) i infekcija uzrokovane CVK (0,7%). Žarište infekcije je ostalo neidentifikovano u 10% slučajeva.

U epidemiološkim istraživanjima koja se bave sepsom, kao najčešće ishodište sepse se navodi uglavnom respiratorni trakt, koji je ishodište sepse u skoro 65% slučajeva u evropskim zemljama (27, 141, 161). Iako studija koja se bavila istraživanjem sepse u Kini navodi gastrointestinalni trakt kao najčešće mesto porekla sepse (čak u 72,3% slučajeva), naši rezultati su sličniji rezultatima evropskih istraživanja po kojima su abdominalne infekcije u 26% slučajeva bile ishodište sepse. Manji procenat primano respiratornih infekcija u našem uzorku se može objasniti time što u našem regionu postoji specijalizovana ustanova za lečenje respiratornih infekcija, te registrovane sepse porekla respiratornog trakta u našem uzorku čini samo onaj broj bolesnika koji su hospitalizovani u Urgentni centar ili na Kliniku za infektivne bolesti.

Viši procenat infekcija CNS-a u našem uzorku u odnosu na istraživanja sprovedena u jedinicama intenzivnog lečenja u evropskim zemljama se takođe može objasniti time što je Klinika za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine specijalizovana ustanova za lečenje ovih infekcija na prostoru AP Vojvodine, što povećava broj ovakvih prijema u odnosu na druge ustanove koje se ne bave specijalizovano lečenjem infekcija CNS-a. Procenat zastupljenosti ostalih organa i

organskih sistema kao primarnog porekla sepse se nije razlikovao bitnije u odnosu na evropska istraživanja (27, 32, 141, 159, 161).

Najčešće izolovani Gram-pozitivni mikroorganizmi u našem istraživanju su bili *Streptococcus pneumoniae*, koagulaza-negativan *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus aureus*, dok je i *Enterococcus* izolovan u manjem broju slučajeva. Od Gram-negativnih mikroorganizama su najčešće bili izolovani *Acinetobacter*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Neisseria meningitidis* i *Klebsiela pneumoniae*, dok je *Enterobacter* izolovan u najmanjem broju slučajeva. Mikroorganizmi koji su najčešće izolovani u našem uzorku bolesnika su u skladu sa literaturnim podacima, osim što u našem istraživanju nije zabeležena statistički značajna razlika između različitih grupa bolesnika u odnosu na težinu kliničke slike sepse u odnosu na to koji je mikroorganizam izolovan iz kultura, a takođe nije ni potvrđena veza između izolovanog uzročnika infekcije i težine kliničke slike sepse na prijemu (27, 32, 141, 159-162). Naši rezultati bi se mogli objasniti time što ukoliko je bolesnik preminuo neposredno posle prijema u bolnicu, uzorkovane telesne tečnosti nisu mikrobiološki analizirane, te bolesnici sa težom kliničkom slikom i nepovoljnim ishodom često nemaju određenog uzročnika infekcije, upravo iz ovog razloga. Postoji i mogućnost uticaja primene rane agresivnije mikrobiološke terapije kod bolesnika sa težom kliničkom slikom na prijemu, što svakako može modelirati dobijene rezultate.

### 5.2.2. Opšte karakteristike bolesnika sa sepsom

Prilikom analize vrednosti APACHE II i SOFA skora kod bolesnika sa različitom kliničkom slikom sepse na prijemu u bolnicu u našem istraživanju dobijeni su rezultati koji potvrđuju da su se grupe bolesnika u odnosu na kliničku sliku sepse na prijemu statistički značajno razlikovale u vrednostima ovih skorova, odnosno da su više vrednosti skorova ukazivale na težu kliničku formu sepse. Ovi rezultati su u skladu sa literaturnim podacima, kako epidemioloških studija, tako i sa istraživanjima koja su proučavala efikasnost primene prediktivnih skorova kod kritično obolelih pacijenata (27, 29, 99-102, 141, 141, 159, 161).

Vrednosti PCT-a u našem istraživanju su bile statistički značajno povišene u grupama bolesnika sa težom kliničkom slikom sepse na prijemu u osim u grupi kod bolesnika sa MODS-om, kod kojih je vrednost koncentracije PCT-a bila statistički značajno povišena samo u odnosu na grupe ispitanika sa sepsom i teškom sepsom. Iako su vrednosti PCT-a bile niže u grupi bolesnika sa MODS-om u odnosu na grupu bolesnika koji su imali septički šok na prijemu u bolnicu, nije utvrđena statistički značajna razlika između vrednosti PCT-a u grupama ispitanika sa septičkim šokom i MODS-om na prijemu. Savremene naučne publikacije potvrđuju naše rezultate, jer je povišena koncentracija PCT-a označena kao pokazatelj težine kliničke slike bolesnika sa sepsom. (13, 87, 164). Iako je koncentracija PCT-a bila neznačajno viša u grupi bolesnika sa septičkim šokom na prijemu u odnosu na grupu bolesnika sa MODS-om, ovaj rezultat ne bi trebalo da umanjí značaj PCT-a u proceni težine kliničke slike bolesnika sa sepsom, s obzirom na da je poznato da proinflamatorne sposobnosti ovog molekula mogu dovesti do razvoja šoka, koji je svakako bio prisutan kod naših ispitanika koji su imali MODS. Relativno smanjenje sinteze PCT-a u neuroendokrinim tkivima u organizmu tokom MODS-a bi se moglo tumačiti eventualnim

reperkusijama koje bi multiorgansko popuštanje moglo da ima na neuroendokrina tkiva koja luče PCT u toku sepse (13, 87, 164).

U našem istraživanju nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike za vrednosti CRP-a i leukocita među ispitivanim grupama obolelih od sepse. Iako je koncentracija CRP-a viša od 100 mg/l označena kao značajna koncentracija za procenu i povećavanje rizika od razvoja teže kliničke slike sepse, u našem uzorku su sve grupe bolesnika imale prosečnu vrednost CRP-a višu od 100 mg/l, te ovaj kriterijum nije mogao biti uziman u obzir za analizu u našem istraživanju. Istraživanje *Meisner*-a i saradnika je prikazalo rezultate u kojima su visoke vrednosti CRP-a zabeležene kod bolesnika sa niskim vrednostima prediktivnih skorova, te je u tom istraživanju donešen zaključak da visoke vrednosti CRP-a na prijemu u bolnicu nemaju veliki značaj u proceni težine kliničke slike bolesnika sa sepsom (164).

Vrednosti leukocita, iako jedan od dijagnostičkih kriterijuma sepse, se ne smatraju dobrim pokazateljem težine kliničkog toka sepse u naučnoj literaturi, jer mnogi nespecifični stimulusi, baš kao i infektivni agensi mogu uticati na broj ovih ćelija, što potvrđuju i naši rezultati (165, 166).

U literaturi se ističe značaj pojedinih oboljenja koja uticajem na imunološki sistem čine određene kategorije ljudi osetljivijim na razvoj sepse. Posebno se ističe značaj diabetesa, maligniteta, infekcije HIV-om, zloupotrebe alkohola, ciroze jetre i hronične opstruktivne bolesti pluća. O uticaju ovih faktora na težinu kliničke slike sepse na prijemu u bolnicu u navedenim publikacijama nema podataka (32, 141). U našem istraživanju, broj i vrsta komorbiditeta bolesnika nije statistički značajno uticala na težinu kliničke slike bolesnika sa sepsom na prijemu u bolnicu, te iako su eventualno bili značajni u nastanku sepse, zbirno ovi komorbiditeti nisu uticali na težinu kliničke slike na prijemu u bolnicu.

Dan prijema u bolnicu od pojave prvih simptoma bolesti je bio statistički značajan parametar u odnosu na kliničku sliku sepse na prijemu. Međutim, dodatnom analizom je zabeleženo da je statistička značajnost ove razlike među grupama dobijena zahvaljujući razlici između grupe sa teškom sepsom u odnosu na grupu sa septičkim šokom na prijemu. Bolesnici sa septičkim šokom su se statistički značajno ranije javljali u bolnicu u odnosu na bolesnike sa teškom sepsom, što je i očekivano, s obzirom na dinamiku i progresiju simptoma u kliničkoj slici šoka, dok su bolesnici sa teškom sepsom, inicijalno mogli imati i blaže simptome, te su se javljali u bolnicu tek nakon pogoršanja opšteg stanja.

U našem istraživanju nije zabeležena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa bolesnika sa sepsom u odnosu na dužinu hospitalizacije, a prosečna dužina trajanja hospitalizacije se kretala od  $13,94 \pm 8,8$  dana, u grupi bolesnika sa teškom sepsom, kod koje je zabeleženo najkraće trajanje hospitalizacije, do  $18,10 \pm 13,90$  dana, u grupi bolesnika sa septičkim šokom kod kojih je zabeleženo najduže trajanje hospitalizacije, slično kao i u grupi bolesnika sa MODS-om na prijemu-  $17,03 \pm 16,76$  dana. Rezultati našeg istraživanja su u skladu sa epidemiološkim podacima i drugih zemalja, u kojim prosečna dužina hospitalizacije bolesnika sa sepsom iznosi 19,6 dana (141).

U sprovedenom istraživanju kod ukupno 40% bolesnika je došlo do razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije, što je i bilo očekivano s obzirom da literaturni podaci pokazuju da je u 69% slučajeva u osnovi razvoja MODS-a zapravo sepsa. U našem uzorku kod bolesnika sa težom kliničkom slikom sepse na prijemu u bolnicu procenat ispitanika kod kojih se razvio MODS je bio statistički značajno viši u odnosu na bolesnike sa lakšom kliničkom slikom na prijemu u bolnicu, što svakako ističe značaj rane dijagnostike sepse da bi se određenim terapijskim merama prevenirao razvoj MODS-a (21).



Ukupni mortalitet bolesnika sa sepsom u našem istraživanju je iznosio 31,3%, što je manje u odnosu na izveštaje evropskih zemalja po kojima je zabeležen mortalitet od sepse u evropskoj bazi podataka iznosio 40%, dok EPISEPSIS studija objavljuje mortalitet od 42% kod obolelih od sepse, koliko približno beleži i Hrvatska (44%). Najniži mortalitet od sepse u jedinicama intenzivnog lečenja je zabeležen u Švajcarskoj (10%) (158, 159, 161).

Pojedine studije ukazuju na pad ukupnog mortaliteta kod obolelih od sepse sa skoro 10% u protekle dve decenije, dok je broj smrtnih slučajeva bolesnika sa sepsom u bolnicama u porastu u ovom periodu (141). U našem istraživanju bolesnici sa težom kliničkom formom sepse na prijemu u bolnicu su imali statistički značajno višu stopu mortaliteta u odnosu na bolesnike sa lakšom formom sepse, što još jednom ističe značaj agresivne rane ciljane terapije, koja može biti započeta adekvatno jedino ukoliko se sepsa brzo dijagnostikuje i ukoliko se adekvatno proceni rizik od progresije sepse ka teškoj sepsi i ireverzibilnom šoku sa sledstvenim MODS-om (40, 167).

### **5.2.3. Prognošički značaj pokazatelja poremećaja hemostaze i biomarkera endotelne aktivacije u odnosu na kliničku sliku sepse**

S obzirom na doprinos u ranom prepoznavanju sepse, koji je u našem radu pokazala analiza pokazatelja poremećaja hemostaze, koncentracije prirodnih inhibitora koagulacije i molekula pokazatelja aktivacije endotela, želeli smo i da ispitamo mogućnost upotrebe ovih molekula u cilju adekvatne klasifikacije bolesnika sa sepsom na prijemu u bolnicu.

Prilikom analize parametara pokazatelja funkcije mehanizma hemostaze, vrednosti APTT-a, PT-a, D-dimera, fibrinogena i broja trombocita su se pokazale kao dobri klasifikacioni markeri u cilju određivanja težine kliničke slike sepse na prijemu u bolnicu. APTT i PT su bili statistički značajno

produženi u grupama bolesnika sa težim oblikom sepse na prijemu u bolnicu, a koncentracija D-dimera je takođe pokazivala tendenciju statistički značajnog porasta kod bolesnika sa težom kliničkom slikom. Broj trombocita je bio statistički značajno niži u grupama bolesnika sa težom formom oboljenja na prijemu u bolnicu. Vrednosti koncentracije fibrinogena, TT-a i euglobulinskog vremena lize koaguluma se nisu statistički značajno razlikovale među ispitivanim grupama.

Produženje vremena koagulacije, kao i porast vrednosti D-dimera iznad referentnog opsega u svim ispitivanim grupama nije neočekivan rezultat, kada se uzmu u obzir neraskidiva veza procesa sistemske inflamacije i aktivacije koagulacije (4-12). Naši rezultati govore u prilog tome da su poremećaji hemostaze u inicijalnoj fazi sepse pre svega posledica aktivacije koagulacije i stvaranja trombina, a ne posledica poremećaja fibrinolize, što je u skladu sa podacima dobijenim i u studiji *Kinasewitz-a* i saradnika (10). Takođe, u studiji koji su sproveli *Collins* i saradnici zabeleženo je da 95% bolesnika sa sepsom ima detektabilne poremećaje mehanizma hemostaze, dok studija *Kinasewitz-a* i saradnika navodi da se ovi poremećaji u 90% slučajeva kod septičnih bolesnika manifestuju produženjem PT-a (10, 143). Međutim, mora se imati na umu da literaturni podaci pokazuju da je laboratorijski detektabilni poremećaj hemostaze kod svega 21% bolesnika manifestacija snižene koncentracije pojedinačnih faktora koagulacije, u većini slučajeva FXII, čija deficijencija neće povećati rizik od krvarenja kod ovih bolesnika, ali će dovesti do produžavanja APTT-a (143).

Prema najnovijim smernicama za lečenje sepse, ne preporučuje se upotreba derivata sveže smrznute plazme za korekciju produženog PT-a, jer rezultati ne pokazuju korist ove terapije kod bolesnika koji nemaju hemoragijske manifestacije (3). Ova činjenica je upravo pokazatelj da navedeno produženje vremena koagulacije koje se javlja već prvog dana u toku sepse, treba da

bude pre svega orijentacioni parametar opsežnosti kako proinflamatornog, tako i prokoagulantnog procesa koji se događa, kako bi se pravilno stratifikovale grupe bolesnika u odnosu na težinu sistemske inflamacije, te da bi se preduzele odgovarajuće mere lečenja (7, 12, 13, 168, 169).

Povišena koncentracija D-dimera se tokom sepse javlja usled dinamičkih prokoagulantnih procesa koji dovode do formacije fibrina, te njegove sledstvene degradacije koja je registrovana kod 99,7% slučajeva kod bolesnika sa sepsom, što potvrđuju i naši rezultati, prema kojima su vrednosti D-dimera bile povišene u svim ispitivanim grupama, a posebno u grupi bolesnika koji su imali MODS na prijemu, što pored insuficijencije organskih sistema detektibilnih kliničkim pregledom svakako može ukazivati i na razvoj DIK-a kod bolesnika na prijemu u bolnicu (8, 10, 61, 70, 117, 168).

Prosečne vrednosti fibrinogena, iako niže u grupama bolesnika sa težom kliničkom slikom sepse, se nisu statistički značajno razlikovale naknadno sprovedenim statističkim testovima i ni u jednoj ispitivanoj grupi nisu bile ispod referentnog opsega, iako su u svim ispitivanim grupama zabeleženi pojedinačni slučajevi izražene hipofibrinogenemije. Naše rezultate potvrđuju i rezultati drugih studija koje su se bavile analizom hemostaznih parametara kod bolesnika sa sepsom, a koje su takođe utvrdile da je kod ovih pacijenata koncentracija fibrinogena povišena, što se tumači time što je fibrinogen reaktant akutne faze (61, 143). Trend pada koncentracije ovog molekula u grupama sa težom kliničkom slikom sepse na prijemu u bolnicu se može objasniti većim opsegom disregulacije mehanizma hemostaze i razvojem DIK-a kod pojedinih bolesnika (8, 56, 61, 69, 143, 168).

Iako brojni literaturni podaci ističu značaj sepse u razvoju trombocitopenije, koja se smatra značajnim prediktornim faktorom toka i ishoda sepse, rezultati istraživanja *Collins*-a i saradnika , kao i *Kinasewitz*-a i saradnika pokazuju da iako je prosečna vrednost broja trombocita bila

značajno niža u grupi pacijenata sa sepsom u odnosu na zdravu populaciju, vrednost broja trombocita u grupi bolesnika sa sepsom nije bila manja od  $150 \times 10^9/l$  (8, 108, 143, 168).

Prosečna vrednost broja trombocita, čiji je pad u našem istraživanju detektovan u grupama bolesnika sa težom kliničkom slikom sepse na prijemu u bolnicu takođe nije bio ispod referentnog opsega u ispitivanim grupama, osim u grupi bolesnika sa MODS-om na prijemu.

Budući da je broj trombocita jedini indirektni pokazatelj funkcije mehanizma hemostaze koji se vrednuje prilikom računanja SOFA skora i budući da je, kako u našim rezultatima, tako i u rezultatima studije koja je sprovedena u 164 centra na 1690 bolesnika, srednja vrednost broja trombocita bila iznad  $150 \times 10^9/l$  (osim kod bolesnika sa MODS-om u našem uzoku), potrebno je razmotriti eventualnu modifikaciju ovog scoring sistema. Na taj način bi se inicijalno adekvatnije mogao proceniti poremećaj koagulacionog mehanizma, koji je u neraskidivom odnosu sa inflamatornim dešavanjima u sepsi i reperkusijama koji ovi procesi imaju na funkciju organa i organskih sistema (10, 24, 25, 101, 102, 106).

Koncentracije prirodnih inhibitora koagulacije su bile ispod referentnog opsega u svim ispitivanim grupama bolesnika sa sepsom u našem istraživanju, a zabeležen je statistički značajan pad koncentracije ovih molekula u grupama sa težom kliničkom slikom.

Naknadna poređenja, međutim, pokazuju da nije zabeležena statistički značajna razlika u vrednostima AT i PC među ispitanicima sa kliničkom slikom sepse i teške sepse na prijemu u bolnicu. Vrednosti PS bile su neznačajno više u grupi bolesnika sa MODS-om u odnosu na grupu bolesnika sa septičkim šokom na prijemu, dok su pokazivale tendenciju pada u grupama bolesnika sa teškom sepsom i septičkim šokom u odnosu na bolesnike sa sepsom.

Ovi rezultati potvrđuju činjenicu da sepsa i teška sepsa iako klinički različite po težini, još uvek ostavljaju prostor za reverziju komplikacija disbalansa mehanizma hemostaze, dok sledstveni šok i razvoj MODS-a pokazuju takođe rezultate definitivno sniženih vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije, uz smanjenje njihovih antiinflamatornih i antikoagulantnih efekata. Snižene koncentracije prirodnih inhibitora koagulacije kod bolesnika sa sepsom su potvrđene i u brojnim drugim istraživanjima koja su se bavila ovom problematikom (10, 62-67, 81, 143).

U protekloj deceniji su, usled prepoznavanja značaja poremećaja mehanizma hemostaze kod bolesnika sa sepsom, koji se kao što potvrđuju i naši rezultati, manifestuju i sniženim vrednostima prirodnih inhibitora koagulacije, napravljeni veliki naponi da se supstitucijom ovih proteina postigne sprečavanje kako preterane aktivacije koagulacije, tako i da se omogući ispoljavanje antiinflamatornog dejstva, koja ovi molekuli poseduju, te da se smanje fatalne komplikacije sistemske inflamacije (10, 62-67, 69, 81, 143, 170-172).

Upotreba rekombinovanog humanog aktiviranog proteina C (rhAPC) je, na osnovu rezultata PROWESS studije, u smernicama za lečenje sepse iz 2008. preporučivana za bolesnike sa vrednostima APACHE II skora  $\geq 25$ , kao i bolesnike sa MODS-om. Međutim, s obzirom da naknadna istraživanja nisu pokazala veći benefit ove terapije u smislu preživljavanja, kao i na to da su se javljale komplikacije u vidu krvarenja koja su u nekim slučajevima bila fatalna, preporuka za upotrebu ovog leka je obustavljena i lek je povučen sa tržišta (3, 140, 170, 173).

U najnovijim smernicama za lečenje sepse se ne preporučuje ni supstitucija AT, s obzirom da nije pokazan pozitivan uticaj primene ovog preparata na preživljavanje, dok je takođe primećen povećan rizik od krvarenja (3, 170, 174, 175).

Ove smernice, međutim, ne treba tumačiti u smislu toga da evaluacija i modulacija procesa koagulacije kod bolesnika sa sepsom nemaju značaj. Novija istraživanja pokazuju da inicijalna prokoagulantna faza koja se odvija u sepsi, ukoliko je kontrolisana, dovodi do stvaranja male količine fibrina, koja ima kako antibakterijsko, tako i antiinflamatorno dejstvo (69, 176-179). Ukoliko ovaj proces izmakne kontroli, nekontrolisano stvaranje trombina i poremećaj fibrinolize doprinose nastanku DIK-a, što dovodi do pogoršanja stanja bolesnika, nastanka i produbljenja MODS-a i sledstvenog smrtnog ishoda (7, 69, 72-74, 77, 78). Prema tome, evaluacija stanja bolesnika samo na osnovu APACHE II skora, koji u sebe ne uključuje ni jedan parametar koji bi govorio o stanju mehanizma hemostaze, u cilju odabira bolesnika kojima bi određene terapijske procedure u smislu modulacije mehanizma hemostaze mogle doneti korist, se može smatrati nedovoljnim.

Određivanje vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije, prema tome, ne bi imalo samo klasifikacioni značaj u ocenjivanju težine kliničke slike sepse na prijemu u bolnicu, koji je podržan i našim rezultatima, već i značaj u određivanju podgrupa bolesnika kojima bi određeni terapijski modaliteti eventualno mogli poboljšati prognozu i smanjiti komplikacije.

Da bismo dobili jasniji uvid u značaj i tok poremećaja koagulacije koji se javljaju kod bolesnika sa sepsom, pored prethodno navedenih hemostaznih parametara smo određivali i biomarkere pokazatelje aktivacije endotela, a takođe i ETP.

U našem istraživanju nije zabeležena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa bolesnika sa sepsom u odnosu na težinu kliničke slike za vrednosti vWF aktivnosti i antigena. Naše rezultate potvrđuju i rezultati studije koji su sproveli *Hovinga* i saradnici u kojima vWF nije bio dobar prognostički faktor težine kliničke slike sepse (131, 152). Za razliku od rezultata studije

*Ware*-a i saradnika u kojoj je vrednost vWF antigena viša od 450% označena kao prediktivni faktor za komplikacije tokom kliničkog toka sepse (ARDS) i nepovoljan ishod, u našem istraživanju, prosečna vrednost vWF antigena u svim ispitivanim grupama je bila niža od 450% (180). Naši rezultati, kao i rezultati drugih studija, potvrđuju da vrednosti vWF aktivnosti i antigena nisu dovoljno pouzdan marker endotelne aktivacije u cilju ocene težine i predikcije kliničkog toka sepse (103, 131, 152).

Vrednosti koncentracije endokana u našem istraživanju su bile statistički značajno povišene u klinički nepovoljnijem toku sepse. Takođe, vrednosti trombomodulina su pokazivale statistički značajan trend porasta u grupama ispitanika sa težom formom oboljenja. Međutim, prosečna vrednost trombomodulina u grupi bolesnika sa septičkim šokom je bila nešto niža u odnosu na koncentraciju trombomodulina u grupi bolesnika sa teškom sepsom, dok je značajan porast koncentracije zabeležen kod bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a.

Opsežnost endotelne aktivacije i oštećenja, koje su u klinički nepovoljnijem toku sepse uzrokovane oslobađanjem endotoksina i proinflamatornih citokina, se prema našim rezultatima mogu adekvatno detektovati i pratiti određivanjem koncentracije endokana, kao specifičnog pokazatelja oštećenja endotela, superiornog u odnosu na vWF koji se koristi u ove svrhe (103, 131, 135, 136). Koncentracija endokana je i prema rezultatima *Scherpereel*-a i saradnika označena kao veoma dobar marker endotelne aktivacije i pokazatelj težine kliničke slike bolesnika sa sepsom (138). Naši rezultati, sa rezultatima drugih studija koje su se bavile ne samo endokanom, već i drugim biomarkerima endotelne aktivacije u sepsi, pokazuju da budućnost istraživanja treba usmeriti ka endotelu i određivanju molekula pokazatelja njegove aktivacije, s obzirom na značaj ovog „organa“ u patofiziološkim dešavanjima u sepsi (103, 131, 134-138).

Pored značajne uloge trombomodulina u ostvarivanju antikoagulantne funkcije PC, ovaj molekul ima i značajnu ulogu u sprečavanju diseminacije proinflamatornih markera, kao što su komponente komplemента, lipopolisaharidi i histoni, omogućavajući njihovo dejstvo na mestu oštećenja tkiva (155, 172). Naši rezultati su pokazali da je trombomodulin dobar biomarker endotelne aktivacije i dobar prediktor težine kliničke slike sepse, što je u skladu sa rezultatima drugih studija (63, 153-155, 172).

Vrednosti ETP-a su bile statistički značajno niže u grupama bolesnika sa težom kliničkom slikom sepse na prijemu u bolnicu. Više vrednosti ovog parametra koje su zabeležene kod bolesnika sa sepsom i teškom sepsom govore u prilog prokoagulantnih dešavanja, dok snižene vrednosti koje su zabeležene u grupama bolesnika sa septičkim šokom i MODS-om ukazuju na poremećaj mehanizma hemostaze koji može ići u pravcu razvoja hemoragijskog sindroma (123-125, 143). Analiza vrednosti ETP-a u našem uzorku bolesnika sa sepsom upravo potvrđuje činjenicu da u inicijalnim dešavanjima u sepsi dominira prokoagulantna faza, dok ukoliko dođe do fudroajantnog pogoršanja stanja bolesnika dolazi do nastanka poremećaja hemostaze u tolikom opsegu da počinje faza DIK-a u kojoj mogu dominirati hemoragijske manifestacije (70, 117, 146, 153).

Kada se analizira mogućnost predikcije kliničkog toka sepse na prijemu u bolnicu, naši rezultati potvrđuju činjenicu da su pokazatelji funkcije mehanizma hemostaze i aktivacije endotela (APTT, PT, D-dimer, broj trombocita, vrednosti prirodni inhibitora koagulacije, trombomodulina, endokana i ETP-a ) jednako validni u inicijalnoj proceni toka kliničke slike sepse kao i prediktivni APACHE II i SOFA skorovi. Takođe, ovi parametri su pokazali izvanredan značaj i kao biomarkeri koji se mogu koristiti u proceni težine kliničke slike na prijemu, ne manje vredni od PCT-a, dok su čak pokazali veći značaj od konvencionalno korišćenih vrednosti CRP-a i broja leukocita.



Međutim, prilikom interpretacije ovih parametara neophodno je steći uvid u celokupnu sliku pro- i antikoagulantnih dešavanja koja se odvijaju tokom sepse, odnosno adekvatno proceniti pravac toka disbalansa mehanizma hemostaze da bi se eventualnim terapijskim merama mogao postići pozitivan učinak (61, 69, 143).

#### **5.2.4. Prognostički značaj pokazatelja poremećaja hemostaze i biomarkera endotelne aktivacije u smislu predviđanja razvoja MODS-a tokom prvih 48 časova hospitalizacije kod bolesnika sa sepsom**

Kao što je već istaknuto, kliničke manifestacije sepse koje se javljaju na samom početku razvoja ovog oboljenja su često nespecifične, a težina oboljenja je često maskirana kompenzatornim mehanizmima organizma. Kada dođe do popuštanja kompenzatornih mehanizama klinička slika sepse naglo može da progredira do razvoja septičkog šoka i sledstvenog MODS-a, što se može dogoditi u veoma kratkom vremenskom intervalu – za nekoliko sati od početka prvih tegoba (21, 40, 181, 182).

Imajući u vidu značaj inicijalnog zbrinjavanja bolesnika sa sepsom, koje ukoliko je pravovremeno i adekvatno sprovedeno može značajno doprineti poboljšanju kliničkog toka i ishoda bolesnika sa sepsom, u našem istraživanju smo testirali potencijalnu upotrebu biomarkera endotelne aktivacije i poremećaja mehanizma hemostaze u cilju predikcije MODS-a u prvih 48 časova od početka hospitalizacije i uporedili vrednost ovih parametara sa parametrima koji se koriste u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

U našem istraživanju, kod 40% bolesnika sa sepsom je došlo do razvoja MODS-a u prvih 48 časova hospitalizacije, a bolesnici kod kojih je došlo do razvoja MODS-a su imali statistički

značajno viši mortalitet u toku 28 dana hospitalizacije. Ukupna smrtnost u grupi bolesnika sa MODS-om je iznosila 55%, dok je u grupi bolesnika bez MODS-a smrtni ishod imalo 15,56% ispitanika. U našem istraživanju prisustvo MODS-a nije statistički značajno uticalo na dužinu hospitalizacije.

Naši rezultati potvrđeni su i rezultatima drugih istraživanja koja ukazuju na to da je razvoj MODS-a jedan od glavnih faktora koji doprinose nastanku smrtnog ishoda u sepsi, kao i na to da rana detekcija disfunkcije organa i organskih sistema, a pre svega predikcija razvoja MODS-a pružaju najbolju šansu u optimalizaciji mera intenzivnog lečenja ovih bolesnika (21, 29, 181-183).

Analizom polne i starosne strukture u grupama nije zabeležena statistički značajna razlika između bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a tokom prvih 48 časova i kod bolesnika kod kojih nije došlo do razvoja MODS-a.

Vrednosti broja leukocita na prijemu u bolnicu, kao ni vrednosti CRP-a nisu pokazale statističku značajnost u cilju procene razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije, dok ni dan prijema u bolnicu od pojave prvih tegoba nije bio značajan parametar u ovom smislu, što dodatno potvrđuje činjenicu da ovi parametri, iako često analizirani prilikom prijema bolesnika u jedinicu intenzivnog lečenja ne predstavljaju adekvatne parametre predviđanja razvoja komplikacija kod bolesnika sa sepsom (164, 165, 184).

Vrednosti APACHE II skora, SOFA skora i PCT-a su bile statistički značajno više kod bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije u odnosu na vrednosti zabeležene kod bolesnika koji nisu imali MODS. Ovakvi rezultati su u skladu sa literaturnim podacima, s obzirom na to da su prediktivni skorovi upravo i dizajnirani u cilju procene težine kliničke slike bolesnika, kao i predikcije ishoda kod kritično obolelih (29, 99-102). Takođe,

vrednosti PCT-a se u literaturi navode kao dobar biomarker u smislu predviđanja MODS-a kod bolesnika sa sepsom, što potvrđuju i naši rezultati (87, 90, 164).

Mehanizam dešavanja u sepsi koji dovodi do nastanka MODS-a kod određenih bolesnika nije do kraja razjašnjen, međutim poznato je da oslobađanje potentnih proinflamatornih citokina dovodi do promena u endotelu krvnih sudova što se odražava na funkcije mnogih organa, a promene koje nastaju u koagulacionom mehanizmu povratno utiču na modeliranje inflamatorne reakcije, što sve zajedno svakako doprinosi nastanku MODS-a (4-9, 21).

Imajući na umu navedene činjenice, u našem istraživanju procenjivali smo i parametre pokazatelje funkcije mehanizma hemostaze i endotelne aktivacije u cilju predikcije MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije kod ispitanika sa sepsom.

APTT i PT su bili statistički značajno produženi kod bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a u toku prvih 48 časova hospitalizacije, uz takođe značajno povišene vrednosti D-dimera i statistički značajno niži broj trombocita u grupi bolesnika kod kojih je došlo do razvoja komplikacija u vidu disfunkcije organskih sistema.

Nije zabeležena statistički značajna razlika za vrednosti fibrinogena između ispitivanih grupa u odnosu na razvoj MODS-a, a vrednosti ovog molekula nisu bile ispod referentnog opsega ni u grupi bolesnika sa MODS-om, što upućuje na to koncentracija ovog molekula nije dovoljno dobar prediktor toka sepse. Takođe, s obzirom na povišene vrednosti ovog molekula u svim ispitivanim grupama, naši rezultati potvrđuju da vrednosti fibrinogena, ukoliko su u referentnom opsegu ili povišene kod bolesnika sa sepsom ne treba razmatrati u cilju postavljanja dijagnoze DIK-a kod ovih bolesnika, već koncentraciju fibrinogena treba interpretirati isključivo u smislu povišenja koncentracije molekula akutne faze u sistemske inflamaciji (61, 144-146).

Vrednosti TT-a i euglobulinskog vremena lize koaguluma nisu bile statistički značajno različite između bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a i bolesnika kod kojih je klinički tok sepe bio povoljniji. Ovi rezultati nisu iznenađujući, s obzirom na to da ovi parametri u našem istraživanju nisu pokazali značaj u diferenciranju bolesnika u odnosu na težinu kliničke slike sepe na prijemu u bolnicu.

Vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije su bile statistički značajno snižene u grupi bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a, što je i bilo očekivano, s obzirom na već objašnjene mehanizme njihove disregulacije prilikom patofizioloških dešavanja u sepsi i njihova antiinflamatorna i potencijalno protektivna dejstva (10, 62-67, 81, 143).

Takođe, rezultate koje smo dobili prilikom analize vrednosti pokazatelja aktivacije endotela i ETP-a u cilju ocene težine kliničke slike sepe na prijemu u bolnicu smo potvrdili dodatnom analizom u cilju procene razvoja komplikacija u vidu MODS-a, što još jednom ukazuje na značaj preciznijeg uvida u proces koagulacije kod bolesnika sa sepsom, ne samo radi procene eventualnog razvoja DIK-a, već pre svega radi predikcije nastanka MODS-a (13, 61, 69, 103, 143).

Vrednosti vWF antigena i aktivnosti se nisu pokazale kao dobar prediktor razvoja MODS-a, što je potvrđeno i drugim studijama, baš kao što nisu bile ni dobar diskriminativni faktor u cilju ocene težne kliničke slike na prijemu u bolnicu (103, 131, 152).

Vrednosti trombomodulina i endokana su bile statistički značajno povišene kod bolesnika kod kojih je došlo do razvoja MODS-a, dok su vrednosti ETP-a bile statistički značajno više u grupi bolesnika koja je imala povoljniji klinički tok bolesti, što govori u prilog tome da su ovi pokazatelji mehanizma hemostaze i endotelne aktivacije, pored toga što su se pokazali kao dragoceni u incijalnoj proceni stanja bolesnika i dobri prediktori razvoja kliničke slike kod bolesnika sa

sepsom, što potvrđuju i skorašnja istraživanja koja su se bavila značajem koagulacije i endotela u sepsi (103, 138, 139, 153-155).

U cilju adekvatnije procene značaja svakog pojedinačnog prediktora nepovoljnog toka sepse i u cilju njihovog međusobnog poređenja, konstruisali smo ROC krive i izračunali površine ispod krive (AUC) kako za pokazatelje aktivacije endotela i funkcije mehanizma hemostaze, tako i za prediktivne skorove i proinflamatorne biomarkere koji su pokazali statistički značaj u predviđanju razvoja MODS-a u prvih 48 časova hospitalizacije.

Vrednosti AUC za SOFA i APACHE II skor su iznosile 0,92 i 0,90, što označava ove skorove veoma dobrim prediktorima razvoja MODS-a. Vrednost AUC za PCT koja je iznosila 0,71 je bila manja od vrednosti AUC trombomodulina (0,75), D-dimera (0,74) i PC (0,73), i jednaka vrednosti AUC za ETP (0,71). Vrednosti AUC za ostale ispitivane parametre- AT (0,69), broj trombocita (0,66), PT (0,65), endokan (0,64), APTT (0,62) i PS (0,61) su bile manje, u odnosu na vrednost za PCT.

Na osnovu dobijenih rezultata se može utvrditi da su pokazatelji endotelne aktivacije i aktivacije mehanizma koagulacije kao što su koncentracija trombomodulina, D-dimera i PC bolji prediktori nastanka MODS-a u prvih 48 časova u toku sepse od vrednosti PCT-a, dok su vrednosti ETP-a jednako značajne u ovom smislu vrednostima koncentracije PCT-a. Ovi rezultati govore u prilog tome da su pokazatelji aktivacije endotela i aktivacije koagulacije bolji pokazatelji toka sepse od proinflamatornih markera, odnosno da komplikacije sepse ne treba tumačiti u smislu nekontrolisane hiperinflamacije, već u kontekstu složenih dinamičkih reakcija inflamacije i koagulacije koje dovode do oštećenja tkiva i organa (4-10, 20, 26).

Ostali pokazatelji mehanizma hemostaze, iako statistički značajni su ovom analizom pokazali manji značaj u cilju predviđanja MODS-a u incijalnom toku sepsa.

Povišene koncentracije trombomodulina koje su detektovane kod bolesnika sa sepsom su pokazatelj poremećaja integriteta endotela, s obzirom na to da se nalazi na površini endotelnih ćelija, a kada dođe do oštećenja ovih ćelija, povišene koncentracije trombomodulina koje se mogu detektovati u cirkulaciji nastaju na račun povišene koncentracije degradirane forme ovog molekula (128, 153-155).

Značaj koji su pokazali i D-dimer i PC u predviđanju MODS-a potvrđuje značaj detekcije i ovih molekula kod bolesnika sa sepsom u cilju predviđanja toka bolesti i razvoja, ne samo potencijalnog DIK-a, već i identifikacije potencijalne disfunkcije drugih organa i organskih sistema.

U našem istraživanju smo takođe uradili analizu binarne logističke regresije da bismo ispitali uticaj modela koji se sastoji od više prediktora, kao i značaj uticaja svakog faktora na verovatnoću da će kod bolesnika sa sepsom u toku prvih 48 časova hospitalizacije doći do razvoja MODS-a. Uticaj dana prijema u bolnicu od pojave prvih simptoma bolesti, uticaj broja komorbiditeta i vrednosti PC i PCT-a nisu pokazali statističku značajnost u cilju predikcije MODS-a, dok su se pored vrednosti SOFA skora izračunatih na prijemu u bolnicu vrednosti trombomodulina i D-dimera pokazali kao statistički značajni prediktori razvoja MODS-a.

Prepoznavanje značaja trombomodulina u supresiji razvoja DIK-a i MODS-a u sepsi je usmerilo novija istraživanja ka primeni rekombinovanog humanog trombomodulina u cilju prevencije protrombotičkih komplikacija u sepsi, bez većeg rizika od krvarenja, za razliku od rekombinovanog humanog PC, uz takođe evidentnu antiinflamatornu funkciju i pozitivan učinak koji ovaj molekul ima na tok sistemske inflamacije (172).

Naši rezultati dodatno potvrđuju značaj analize i interpretacije pokazatelja aktivacije endotela i koagulacije kod obolelih od sepse, kako ponaosob, radi procene stanja mehanizma hemostaze i potencijalnih reperkusija ovih poremećaja na druge organe i organske sisteme, tako i zajedno sa SOFA skorom, gde bi dodavanje varijabli koje bi adekvatnije dale uvid u stanje poremećaja koagulacije od broja trombocita doprinelo boljoj proceni težine bolesti.

#### **5.2.5. Prognostički značaj pokazatelja poremećaja hemostaze i biomarkera endotelne aktivacije u smislu predviđanja razvoja smrtnog ishoda tokom 28 dana od početka hospitalizacije kod bolesnika sa sepsom**

U protekle tri decenije neprestano traje potraga za pokazateljem pomoću kog bi se adekvatno klasifikovali bolesnici kod kojih je rizik od umiranja posebno visok. Kao interval u kom se inicijalno procenjuje mogućnost smrtnog ishoda se u većini studija označava 28. dan hospitalizacije, s obzirom na to da se podaci koji su potrebni za statističku obradu lako i precizno mogu prikupiti u ovom intervalu (2, 13, 21, 27, 31, 32, 40, 86, 87, 141).

U našem istraživanju smo ispitali i uporedili značajnost konvencionalno upotrebljivanih pokazatelja predikcije ishoda kod bolesnika sa sepsom, kao što su godine života, broj komorbiditeta, dan prijema u bolnicu, vrednosti prediktivnih APACHE II i SOFA skorova, broj leukocita i vrednosti proinflamatornih markera sa pokazateljima funkcije mehanizma hemostaze i aktivacije endotela kod bolesnika sa sepsom u cilju predviđanja razvoja smrtnog ishoda u toku 28 dana od početka hospitalizacije.

Ukupni mortalitet u našem istraživanju je iznosio, kao što je već istaknuto 31,3%, a godine života, pol, broj komorbiditeta i dan prijema u bolnicu od pojave prvih tegoba nisu imale uticaj na ishod, prema našim rezultatima.

Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima drugih epidemioloških studija, jer se nezavisnim faktorom rizika što se tiče starosti bolesnika uzima vrednost godina života viša od 65, a naši bolesnici su u obe ispitivane grupe bili u proseku mlađi od 65 godina. Komorbiditeti koji mogu uticati na ishod bolesnika sa sepsom, kao što su maligniteti ili prisustvo ciroze jetre su bili faktori za isključenje bolesnika iz naše studije, te nisu obuhvaćeni ovim istraživanjem, dok su drugi komorbiditeti za koje se smatra da imaju uticaj na preživljavanje, kao što je alkoholizam, bili zastupljeni u malom procentu kod naših ispitanika. Prosečan broj dana koji je protekao od pojave prvih simptoma bolesti do javljanja bolesnika u bolnicu se nije značajno razlikovao kod bolesnika koji su umrli i koji su preživeli, što još jednom ističe nespecifičnost inicijalnih kliničkih manifestacija sepse kako u njenom blažem kliničkom toku, tako i u potencijalno smrtonosnom toku, što dodatno podstiče na istraživanja koja bi rano prepoznala visokorizične pacijente sa sepsom (2, 13, 21, 27, 31, 32, 40, 86, 87, 141, 184).

Broj leukocita, kao ni vrednosti proinflammatoryh markera PCT-a i CRP-a se nisu pokazali kao dobri prediktori smrtnog ishoda kod obolelih od sepse u našem istraživanju. Broj leukocita je bio povišen u obe grupe ispitanika, međutim ovaj pokazatelj SIRS-a ni u drugim istraživanjima nije pokazao značaj u predikciji ishoda bolesnika sa sepsom (87, 93, 165).

Vrednost CRP-a koja se u pojedinim studijama označavala dobrim prediktorom ishoda kod bolesnika sa sepsom je diskutabilna, s obzirom da su novije studije pokazale da je ovaj



proinflamatorni marker neznakačajan u smislu predviđanja smrtnog ishoda kod bolesnika sa sepsom, što je potvrđeno i našim rezultatima (13, 87, 93).

U našem istraživanju ni vrednost PCT-a koji se smatra najvalidnijim markerom sepse se nije pokazala kao dobar prediktor ishoda, a vrednosti ovog biomarkera su čak bile niže u grupi bolesnika koji su umrli u odnosu na bolesnike kod kojih je ishod bio pozitivan. Rezultati studija koje su sproveli *Jensen* i saradnici, kao i *Pettila* i saradnici prikazuju PCT kao dobar prediktor ishoda kod bolesnika sa sepsom, ali je u obe ove studije praćena dinamika vrednosti PCT-a i na osnovu toga određivan značaj PCT-a kao biomarkera ishoda, dok rezultati studije koju su sproveli *Ruiz-Alvarez* i saradnici ne prikazuju PCT dobrim prediktorom ishoda (87, 93, 95, 185). Za razliku od navedenih studija koje su se bavile značajem dinamike vrednosti PCT-a kod bolesnika sa sepsom u predviđanju ishoda, u našem istraživanju smo procenjivali vrednosti ovog biomarkera isključivo na prijemu u bolnicu, s obzirom na to da smo analizirali upotrebu kako konvencionalnih biomarkera i scoring sistema u sepsi, u odnosu na pokazatelje aktivacije hemostaze i endotela radi brze procene težine kliničke slike sepse (unutar prvih 24 časa hospitalizacije) u cilju optimalizovanja incijalne terapije koja je krucijalna za ishod bolesnika sa sepsom (40, 181).

APACHE II i SOFA skor su bili statistički značajno viši u grupi bolesnika kod kojih je došlo do razvoja smrtnog ishoda, što je i bilo očekivano, jer su ovi scoring sistemi (pre svega APACHE II) dizajnirani u cilju predviđanja ishoda kritično obolelih pacijenata, što je potvrđeno brojnim studijama (29, 99-102). Prosečna vrednost APACHE II skora kod bolesnika koji su imali nepovoljan ishod je u našem istraživanju bila manja od 25, što se u brojnim studijama koristi kao vrednost APACHE II skora za diferenciranje visokorizičnih bolesnika, te je eventualno potrebno razmotriti reevaluaciju vrednosti ovog skora kod bolesnika sa sepsom, ili je prilagoditi uvođenjem novih varijabli u cilju postizanja veće specifičnosti za bolesnike koji imaju sepsu, s obzirom na to

da je i u drugim istraživanjima istaknuto da su vrednosti APACHE II skora kod bolesnika sa sepsom često nepouzdana u predikciji ishoda (10, 140, 172).

Zabeležena je statistički značajna razlika između ispitivanih grupa bolesnika u odnosu na razvoj mortaliteta za dužinu ukupnog trajanja hospitalizacije, a bolesnici kod kojih je došlo do nepovoljnog ishoda su imali statistički značajno kraće trajanje hospitalizacije, jer je klinička slika sepse imala fulminantan tok. Ovo takođe govori u prilog značajnosti incijalne procene težine bolesnika u cilju adekvatne resuscitacione terapije, s obzirom na to da se ireverzibilne komplikacije mogu razviti veoma brzo (21, 40, 164, 181).

Prilikom analize pokazatelja funkcije mehanizma hemostaze i aktivacije endotela, sledeći parametri su pokazali statističku značajnost u diferenciranju bolesnika kod kojih je ishod sepse bio nepovoljan: APTT i PT su bili značajno produženi kod bolesnika sa smrtnim ishodom, dok su koncentracije fibrinogena, prirodnih inhibitora koagulacije i vrednosti ETP-a bile snižene u ovoj grupi, a vrednosti endokana statistički značajno povišene. Vrednost TT-a, euglobulinskog vremena lize koaguluma, broja trombocita, vWF antigena i aktivnosti, D-dimera i trombomodulina se u našem istraživanju nisu pokazale kao značajne u predikciji ishoda kod bolesnika sa sepsom.

Vrednosti D-dimera i trombomodulina koje su se pokazale kao značajni faktori u predviđanju težine kliničke slike sepse i potencijalno fatalnih komplikacija koje ovo oboljenje nosi u toku prvih 48 časova hospitalizacije, iako nisu bile statistički značajne, svakako su bile povišene kod bolesnika koji su imali nepovoljan ishod. S obzirom na istraživanja čiji rezultati takođe potvrđuju značaj ovih biomarkera u prognozi ishoda bolesnika sa sepsom, smatramo da su potrebna dodatna istraživanja koja bi preciznije utvrdila u kolikom opsegu i ovi biomarkeri mogu da se upotrebljavaju u proceni ishoda kod obolelih od sepse (119, 120, 128, 153-155, 172).

Da bismo stekli precizniji uvid u značaj svakog pojedinačnog faktora koji je pokazao statističku značajnost konstruisali smo ROC krive i izračunali površine ispod krive (AUC) kako za pokazatelje aktivacije endotela i funkcije mehanizma hemostaze, tako i za prediktivne skorove koji su pokazali statistički značaj u predviđanju razvoja smrtnog ishoda tokom 28 dana od početka hospitalizacije.

Vrednosti AUC za APACHE II i SOFA skor su iznosile 0,77 i 0,75. Vrednost AUC za endokan je iznosila 0,72, za PT isto 0,72, za fibrinogen 0,69, za ETP 0,68, dok su vrednosti AUC ROC krivih konstruisanih za vrednosti AT (0,67), APTT (0,66), PC (0,65) i PS (0,63) bile manje.

Naši rezultati ukazuju na to da su pojedinačni pokazatelji mehanizma hemostaze i aktivacije endotela, pre svega endokan i PT ponaosob skoro jednako značajni u predikciji mortaliteta kod bolesnika sa sepsom kao i scoring sistemi koji se sastoje od niza varijabli čiji se uticaj procenjuje na razvoj komplikacija i nepovoljnost ishoda kod kritično obolelih pacijenata. Drugi pokazatelji funkcije mehanizma hemostaze su pokazali manji značaj, međutim, svaki ovaj pokazatelj, ukoliko bi bio inkorporiran u određeni sistem skorovanja u cilju procene težine bolesti kod bolesnika sa sepsom, bi mogao dati doprinos adekvatnijoj klasifikaciji bolesnika.

Upravo iz ovog razloga u našem istraživanju dodatno je bila sprovedena analiza binarne logističke regresije kako bi se ocenio uticaj više faktora na verovatnoću da će kod bolesnika sa sepsom u toku 28 dana od početka hospitalizacije doći do razvoja smrtnog ishoda. Ispitani su uticaj vrednosti koncentracije PCT-a, kao biomarkera koji se najviše koristi u svakodnevnoj kliničkoj praksi kod bolesnika sa sepsom, vrednosti APACHE II skora izračunatog na prijemu u bolnicu, kao i vrednosti markera koagulacije i endotelne aktivacije koji su pokazali najveću statističku značajnost u razlikovanju grupa bolesnika kod kojih je došlo do razvoja smrtnog ishoda tokom 28 dana (PT,

endokan, i AT). Pored vrednost APACHE II skora, koncentracija endokana je imala visoku statističku značajnost u vidu prediktora smrtnog ishoda, dok su vrednosti AT i PCT-a pokazale takođe statističku značajnost u predviđanju smrtnog ishoda, ali u manjoj meri.

Naši rezultati još jednom potvrđuju činjenicu da je poremećaj endotelne funkcije, koji je praćen aktivacijom koagulacije i sledstvenom organskom disfunkcijom jedan od krucijalnih događaja tokom sistemske inflamacije u sepsi. Upravo zbog toga, biomarkeri endotelne aktivacije i pokazatelji funkcije mehanizma hemostaze su značajni parametri za predviđanje ishoda bolesnika sa sepsom, s obzirom na to da već na samom prijemu u bolnicu daju vredne podatke o stanju i mogućem toku bolesti.

Od svih analiziranih biomarkera, koncentracija endokana je, prema našim rezultatima najznačajniji pokazatelj endotelne aktivacije koji može ukazati na potencijalno loš ishod kod bolesnika sa sepsom, što potvrđuju i rezultati drugih studija (103, 131, 134, 135, 138, 139).

Pojedina istraživanja su pokazala da su vrednosti endokana povišene i kod drugih oboljenja, kao što su maligniteti, s obzirom na to da na njegovu sintezu i sekreciju utiču ne samo proinflamatorni citokini, već i angiogeni faktori kao što je vaskularni endotelni faktor rasta-VEGF (187-189). Zbog svega navedenog kao i uz pretpostavku da bilo koje oštećenje endotela može dovesti do promena u koncentraciji molekula koji su specifični za endotel, mi smo ograničili naš uzorak na bolesnike za koje smo pretpostavili da neće imati značajan poremećaj funkcije endotela, kao ni sistemske inflamaciju druge etiologije, osim sepse (kriterijumi za isključenje iz studije), za razliku od drugih studija koje su se bavile ispitivanjem koncentracije endokana kod septičnih bolesnika (138), te se može očekivati da je porast koncentracije ovog molekula kod naših bolesnika izazvan isključivo promenama u endotelu koje se dešavaju u okviru sepse. Takođe, studija koju su sprveli *van Eijk* i

saradnici direktno potvrđuje da su povišene koncentracije endokana koje se javljaju prilikom endotoksemije kod ljudi posledica endotelne disfunkcije, te se ovaj marker može smatrati adekvatnim biomarkerom endotelnog oštećenja u sepsi, što bi moglo da znači da je merenjem koncentracije ovog biomarkera omogućeno sticanje uvida u funkciju endotela kao zasebnog organa u sepsi (190).

## 6. ZAKLJUČCI

- Vrednosti bioloških markera endotelne aktivacije i aktivacije koagulacije su statistički značajno povišene kod obolelih od sepse u odnosu na njihove vrednosti u zdravoj populaciji, dok su vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije statistički značajno snižene kod obolelih od sepse u odnosu na njihove vrednosti u zdravoj populaciji.
- Vrednosti APTT-a, PT-a, D-dimera, fibrinogena, prirodnih inhibitora koagulacije i markera endotelne aktivacije (endokan i vWF antigena i aktivnosti) imaju značajan i veoma visok dijagnostički potencijal.
- Vrednosti biomarkera endotelne disfunkcije i pokazatelja poremećaja hemostaznog mehanizma su značajni prediktori komplikacija kod bolesnika sa sepsom.
- Pokazatelji funkcije mehanizma hemostaze i aktivacije endotela (APTT, PT, D-dimer, broj trombocita, vrednosti prirodnih inhibitora koagulacije, trombomodulina, endokana i ETP-a ) su jednako validni u inicijalnoj proceni toka kliničke slike sepse kao i prediktivni APACHE II i SOFA skorovi.
- Pokazatelji endotelne aktivacije i aktivacije mehanizma koagulacije kao što su koncentracija trombomodulina, D-dimera, ETP-a i PC su dobri prediktori nastanka MODS-a u prvih 48 časova u toku sepse.
- Pokazatelji mehanizma hemostaze i aktivacije endotela -endokan, PT, APTT, koncentracija fibrinogena, prirodnih inhibitora koagulacije i vrednosti ETP-a su značajni u predikciji mortaliteta kod bolesnika sa sepsom.
- Ukoliko bi pokazatelji aktivacije endotela i mehanizma hemostaze bili inkorporirani u određeni sistem skorovanja u cilju procene težine bolesti u smislu ishoda kod bolesnika sa sepsom, to bi moglo doneti doprinos boljoj klasifikaciji bolesnika, te primeni

pravovremene i adekvatne terapije u cilju postizanja pozitivnog ishoda kod bolesnika sa sepsom.

- Prilikom interpretacije pokazatelja inflamacije i koagulacije neophodno je steći uvid u celokupnu sliku pro- i antikoagulantnih dešavanja koja se odvijaju tokom sepse, odnosno adekvatno proceniti pravac toka disbalansa mehanizma hemostaze da bi se eventualnim terapijskim merama mogao postići pozitivan učinak.

## 7. PRILOZI

### PRILOG 1. PROTOKOL ISTRAŽIVANJA ZA BOLESNIKE SA SEPSOM

Ime i prezime	
Pol	
Godina rođenja	
Broj i vrsta komorbiditeta	
Upotreba lekova	
Štetne navike	
Koliko dana je prošlo od početka manifestacija aktuelnih tegoba pre javljanja bolesnika u bolnicu	
Laboratorijski nalazi: Hemoglobin:.....; Hematokrit:.....; Trombociti:.....; Leukociti:.....; Glikemija:.....; Natrijum:.....; Kalijum:.....; Urea:.....; Kreatinin:.....; Ukupni bilirubin:.....; Direktini bilirubin:.....; Alanin-amino transferaza:.....;Aspartat-amino transferaza:.....; Gama- glutamil-peptidtransferaza:.....; Gasne analize arterijske krvi: pH:.... PO2:..... PCO2:..... laktati:..... Bikarbonati:.....; PCT:.....; CRP:.....	
APACHE II skor	
SOFA skor	
Insuficijencija jednog ili više organskh sistema (navesti koji)	



Vrsta sepse: sepsa, teška sepsa, septički šok ili MODS	
MODS nakon 48 časova: prisutan ili odsutan	
Potvrda žarišta: klinička/ mikrobiološka/ neidentifikovana	
Vrsta žarišta: intraabdominalne infekcije; urinarne infekcije; respiratorne infekcije infekcije mekih tkiva; infekcije CNS-a; medijastinitis; infekcije uzrokovane CVK; neidentifikovano	
Izolovani mikrorganizam iz žarišta: da (ako je izolovan, navesti koji)/ ne	
Hemokulture: pozitivne (ako su pozitivne, navesti izolovan mikroorganizam)/ negativne	
Dužina hospitalizacije	
Ishod nakon 28 dana hospitalizacije: preživeli/ umrli	
Ispitivani parametri hemostaze i aktivacije endotela: APTT.....; PT.....; TT.....; fibrinogen.....; D-dimer.....; euglobulinsko vreme lize koaguluma.....; vWF aktivnost.....; vWF antigen.....; AT.....; PC.....; PS.....; ETP.....; trombomodulin.....; endokan.....	

APACHE II skor nakon 24 časa hospitalizacije\_\_\_\_\_

telesna temperatura\_\_\_\_\_ srednji arterijski pritisak\_\_\_\_\_ puls \_\_\_\_\_ pO<sub>2</sub> \_\_\_\_\_ (A\_aDO<sub>2</sub>)

\_\_\_\_\_ respiratorna frekvenca\_\_\_\_\_pH\_\_\_\_\_koncentracija kalijuma \_\_\_\_\_ koncentracija

natrijuma \_\_\_\_\_ hematokrit \_\_\_\_\_ broj leukocita \_\_\_\_\_ Vrednost Glazgov koma skora \_\_\_\_\_

kreatinin (sa/bez prisutne bubrežne insuficijencije)\_\_\_\_\_godine\_\_\_\_\_hronično oboljenje u

terminalnom stadijumu\_\_\_\_\_

SOFA skor nakon 24 časa hospitalizacije\_\_\_\_\_

respiratorni status (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>)\_\_\_\_\_; nervni sistem (Vrednost Glazgov koma skora)

\_\_\_\_\_; kardiovaskularni sistem (srednji arterijski pritisak i/ili upotreba vazoaktivne potpore-

dopamin ili noradrenalin (doza))\_\_\_\_\_; jetra (vrednost bilirubina)\_\_\_\_\_; koagulacioni status

(broj trombocita)\_\_\_\_\_; bubrežna funkcija (kreatinin (sa/bez prisutne bubrežne

insuficijencije))\_\_\_\_\_

**PRILOG 2. PROTOKOL ISTRAŽIVANJA ZA ZDRAVE ISPITANIKE**

Ime i prezime	
Godina rođenja	
Pol	
Ispitivani parametri hemostaze i aktivacije endotela: APTT.....; PT.....; TT.....; fibrinogen.....; D-dimer.....; euglobulinsko vreme lize koaguluma.....; vWF aktivnost.....; vWF antigen.....; AT.....; PC.....; PS.....; ETP.....; trombomodulin.....; endokan.....	

**PRILOG 3. PRISTANAK INFORMISANOG ISPITANIKA**

Upoznat/a sam sa ispitivanjem koje će se vršiti na Odeljenju anestezije i reanimacije Urgentnog centra Kliničkog centra Vojvodine i na Klinici za infektivne bolesti, kao i na Institutu za transfuziju Krvi Vojvodine. Nije mi ponuđena novčana nadoknada za učešće u ispitivanju. Upoznat/a sam sa mogućnošću da zabranim dalje korišćenje podataka koji se prikupljaju tokom mog lečenja ili mojih ličnih podataka i laboratorijskih nalaza, odnosno podataka o lečenja mog srodnika, kao i da ta odluka neće imati posledice, ili uticaj na odnos odgovornih lekara na lečenje. Obavešten/a sam o potpunoj anonimnosti tokom ispitivanja. Saglasan/saglasna sam da se uzme 5 ml krvi za dodatne analize i da se podaci koji se prikupe koriste za ispitivanje.

Ispitanik ili srodnik –ime i prezime .....

Potpis.....

#### **PRILOG 4. INFORMACIJA ZA ISPITANIKU**

Poštovani gospodine/gospođo,

U cilju izrade doktorske disertacije pod nazivom „Dijagnostički i prognostički značaj markera disfunkcije endotela i poremećaja mehanizma hemostaze u sepsi“ u Kliničkom centru Vojvodine vršiće se ispitivanje činilaca koji utiču na zgrušavanje krvi kod bolesnika koji imaju sepsu-prisustvo teške infekcije rasprostranjene u organizmu. Činioci koji utiču na zgrušavanje krvi u organizmu imaju vrlo značajnu funkciju, jer kod njihovih poremećaja može doći kako do iskrvarenja, tako i do stvaranja krvnih ugrušaka koji mogu začepiti krvne sudove. Kod teško obolelih bolesnika koji imaju sepsu, odnosno prisustvo teške infekcije rasprostranjene u organizmu, često može da se javi oštećenje funkcije činilaca mehanizama pravilnog zgrušavanja krvi, različitog stepena i težine. **Ispitivanje koje ćemo sprovesti podrazumeva praćenje funkcije činilaca koji utiču na zgrušavanje krvi, laboratorijske analize, i praćenje stanja i toka bolesti pacijenata sa sepsom.** Da bismo dobili što više informacija i imali sveobuhvatniju sliku o ovom problemu poželjno je da što veći broj bolesnika koji se leče na Odeljenju anestezije i reanimacije, kao i na Klinici za infektivne bolesti uđe u ovu studiju.

Takođe, neophodan nam je uzorak krvi zdravih ljudi, dobrovoljnih davalaca krvi Instituta za transfuziju Vojvodine, da bismo uporedili vrednosti parametara koje istražujemo kod zdravih i kod ljudi koji imaju sepsu.

**Svi podaci koji su nam potrebni će se dobiti iz medicinske dokumentacije, uz dodatno jednokratno vađenje veoma male količine krvi (5ml), prilikom vađenja krvi za rutinske analize ili prilikom dobrovoljnog davanja krvi, te se neće vršiti dodatni ubodi za uzimanje uzoraka.**

Molimo Vas da dopustite da te podatke koristimo i dobijemo neke vrlo značajne informacije o poremećajima zgrušavanja krvi koji mogu da se javi kod teško obolelih. **Identitet učesnika ostaće anoniman.** Odluka za pristup ispitivanju je potpuno Vaša, svojevoljna. Tokom ispitivanja možete u bilo kom trenutku da zabranite dalje korišćenje podataka. Novčana nadoknada Vam se ne nudi ukoliko pristanete da učestvujete u ovoj studiji. Ukoliko dozvoljavate da koristimo podatke iz medicinske dokumentacije za istraživanje, kao i da uzmemo krv za dodatne analize, molimo Vas da potpišete saglasnost.

dr Dunja Mihajlović, lekar Odeljenja anestezije i reanimacije Urgentnog centra

## 8. LITERATURA:

1. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J et al. Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. *Crit Care Med* 2007; 35:1414–15.
2. Moore LJ, McKinley BA, Turner K, et al. The Epidemiology of Sepsis in General Surgery Patients. *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care* 2011; 70(3) 672-80.
3. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock, 2012. *Intensive Care Med* 2013; 39:165–228.
4. Hoesel LM, Ward PA. The Role of the Endothelium in Systemic Inflammatory Response Syndrome and Sepsis. In: Aird WC. *Endothelial Biomedicine*. New York: Cambridge University Press, 2007; 1294-1302.
5. Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood* 2003; 101:3765–77.
6. Levi M, ten Hate C, van der Poll T. Endothelium: Interface between coagulation and inflammation. *Crit Care Med* 2002; 30:5 (Suppl.)
7. Schouten M, Wiersinga WJ, Levi M. Inflammation, endothelium, and coagulation in sepsis. *Journal of Leukocyte Biology* 2008; 83: 536-45.
8. Levi M, Schultz M. Coagulopathy and platelet disorders in critically ill patients. *Minerva Anesthesiol* 2010; 76 (10) :851-9.
9. Levi M, Opal SM. Coagulation abnormalities in critically ill patients. *Crit Care* 2006; 10: 222.

10. Kinasewitz GT, Yan SB, Basson B, Comp P, et. Universal changes in biomarkers of coagulation and inflammation occur in patients with severe sepsis, regardless of causative micro-organism. *Crit Care* 2004; 8:R82-R90.
11. Zakariah AN, Cozzi SM, Van Nuffelen M, et al. Combination of biphasic transmittance waveform with blood procalcitonin levels for diagnosis of sepsis in acutely ill patients. *Crit Care Med* 2008; 36:1507-12.
12. Levi M, van der Poll T. Coagulation in sepsis: all bugs bite equally. *Crit Care* 2004; 8:99-100.
13. Pierrakos C, Vincent JL. Sepsis biomarkers: a review. *Critical Care* 2010; 14:R15.
14. Vincent JL. Definition of Sepsis and Non-infectious SIRS. In: Cavaillon JM, Adire C. Sepsis and non-infectious systemic inflammation from biology to critical care. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.KgaA, 2009; 3-12.
15. Bone R, Balk R, Cerra F, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Crit Care Med. *Chest* 1992; 101(6):1644–55.
16. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit care med* 2003; 31(4):1250–6.
17. Poezel M, Ramsay G, Gerlach H, Rubulotta F, Levy M. An international sepsis survey: a study of doctors' knowledge and perception about sepsis. *Criti Care* 2004; 8(6): R409-R413.
18. Sprung CL, Sakr Y, Vincent JL, et al. An evaluation of systemic inflammatory response syndrome signs in the Sepsis Occurrence In Acutely Ill Patients (SOAP) study. *Intensive Care Med* 2006; 32:421–7.



19. Lai NA, Kruger P. The predictive ability of a weighted systemic inflammatory response syndrome score for microbiologically confirmed-infection in hospitalised patients with suspected sepsis. *Crit Care Resusc* 2011; 13:146–50.
20. Vincent JL, Opal SM, Marshall JC, Tracey KJ. Sepsis definitions: time for change. *The Lancet* 2013; 381 (9868):774 – 5.
21. Hamzaoui O, Carlet J. Organ Dysfunctions during Severe Sepsis and Septic-like Syndromes: Epidemiology, Classification, and Mechanisms. In: Cavillon JM, Adire C. *Sepsis and non-infectious systemic inflammation from biology to critical care*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.KgaA, 2009; 57- 76.
22. Weiss M, Huber-Lang M, Taenzer M, et al. Different patient case mix by applying the 2003 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS sepsis definitions instead of the 1992 ACCP/SCCM sepsis definitions in surgical patients: a retrospective observational study. *BMC medical informatics and decision making* 2009; 9:25.
23. Munford RS and Suffredini AF. Sepsis, Severe Sepsis and Septic Shock, Chapter 70. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and Practise of infectious diseases*, 7th edn. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2011; 987-1010.
24. Vincent JL, Moreno R, Takala J, et al. The SOFA (Sepsis related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure On behalf of the Working Group on Sepsis. Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 1996; 22:707-10.

25. Vincent JL, De Mendonca A, Moreno R, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: Results of a multicenter, prospective study. *Critical Care Med* 1998; 26(11): 1793-1800.
26. Namas R, Zamora R, Namas R, et al. Sepsis: something old, something new, and a systems view. *Journal of critical care* 2012; 27(3): 314-e1-e9.
27. Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence* 2014; 5(1): 4-11.
28. Giannoni C, Chelazzi C, Villa G, De Gaudio AR. Organ dysfunction scores in ICU. *Trends in Anaesthesia and Critical Care* 3 2013; 89e96.
29. Breslow MJ, Badawi O. Severity Scoring in the Critically Ill Part 1—Interpretation and Accuracy of Outcome Prediction Scoring Systems. *Chest* 2012; 245-52.
30. Vincent JL, Moreno R. Clinical review: Scoring systems in the critically ill. *Critical Care* 2010; 14: 207.
31. Ventetuolo CE, Levy MM. Biomarkers: Diagnosis and Risk assessment in sepsis. *Clin Chest Med* 2008; 29: 591–603.
32. Reade MC, Angus DC. Epidemiology of Sepsis and Non-infectious SIRS. In: Cavillon JM, Adire C. *Sepsis and non-infectious systemic inflammation from biology to critical care*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.KgaA, 2009; 13-40.
33. Brkić S. Sepsa. U: Turkulov V, Brkić S. *Infektivne bolesti za studente medicine*. Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, 2013; 168-80.
34. Friedman G, Silva E, Vincent JL. Has the mortality of septic shock changed with time. *Crit. Care Med* 1998; 26, 2078–86.

35. Yu DT, Black E, Sands KE, et al. Severe sepsis: variation in resource and therapeutic modality use among academic centers. *Crit. Care* 2007; 7: R24–R34.
36. Zimmerman JE, Kramer AA, Knaus WA. Changes in hospital mortality for United States intensive care unit admissions from 1988 to 2012. *Crit Care* 2013; 17:R81.
37. van Gestel A, Bakker J, Veraart CP, van Hout BA. Prevalence and incidence of severe sepsis in Dutch intensive care units. *Crit Care* 2004; 8:R153-62.
38. Rangel-Frausto MS. The epidemiology of bacterial sepsis. *Infect Dis Clin North Am* 1999; 13: 299–312.
39. Cohen J, Cristofaro P, Carlet J, Opal S. New method of classifying infections in critically ill patients. *Crit Care Med* 2004; 32: 1510-26.
40. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2001; 345: 1368–77.
41. Medzhitov R, Janeway CA Jr. Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science* 2002; 296: 298-30.
42. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 335-376.
43. Ishii KJ, Koyama S, Nakagawa A, et al. Host innate immune receptors and beyond: Making sense of microbial infections. *Cell Host Microbe*. 2008;3:352-36
44. Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nature Reviews Immunology* 2008; 8(10): 776-87.

45. Bianchi, Marco E. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *Journal of leukocyte biology* 2007; 81 (1): 1-5.
46. Beutler B. Tumor Necrosis Factor and Other Cytokines in Septic Syndrome. In: Reinhart K, Eyrich K, Sprung C. *Sepsis Current Perspectives in Pathophysiology and Therapy*. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1994; 107-121.
47. Mukaida N, Hishinuma A, Zachariae CO, Oppenheim JJ, Matsushima K. Regulation of human interleukin-8 gene expression and binding of several other members of the intercrine family to receptors for interleukin-8. *Adv Exp Med Bioi* 1991; 305:31-8.
48. Oppenheim JJ, Zachariae CO, Mukaida N, Matsushima K. Properties of the novel proinflammatory supergene "intercrine" cytokine family. *Annu Rev Immunol* 1991; 9:617—48.
49. Shalaby MR, Waage A, Aarden L, Espevik T. Endotoxin, tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin 1 induce interleukin 6 production in vivo. *Clin Immunol Immunopathol* 1989; 53:488-98.
50. Castellheim A, Brekke OL, Espevik T, Harboe M, Mollnes TE. Innate immune responses to danger signals in systemic inflammatory response syndrome and sepsis. *Scandinavian journal of immunology* 2009; 69(6): 479-91.
51. Cavaillon JM, Annane D. Compartmentalization of the inflammatory response in sepsis and SIRS. *J Endotoxin Res* 2006; 12:151–70.
52. Hoesel LM, Ward PA. The Role of the Endothelium in Systemic Inflammatory Response Syndrome and Sepsis. In: Aird WC. *Endothelial Biomedicine*. New York: Cambridge University Press, 2007; 1294- 302.

53. Harlan JM. Endothelial activation and dysfunction in sepsis. In: Dauphinee SM, Karsan A, editors. Endothelial Dysfunction and Inflammation. Basel: Springer Basel AG, 2010; 1-13.
54. Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood* 2003; 101: 3765–77.
55. Dhainaut JF, Shorr AF, Macias WL. Dynamic evolution of coagulopathy in the first day of severe sepsis: Relationship with mortality and organ failure. *Crit Care Med* 2005; 33(2): 341-8.
56. Wheeler AP, Rice TW. Coagulopathy in Critically Ill Patients: Part 2–Soluble Clotting Factors and Hemostatic Testing. *CHEST Journal* 2010; 137(1): 185-94.
57. Hoffman M, Monroe D3. A cell-based model of hemostasis. *Thrombosis and haemostasis-Stuttgart* 2001; 85(6): 958-65.
58. Tanaka KA, Key NS, Levy JH. Blood coagulation: hemostasis and thrombin regulation. *Anesthesia & Analgesia* 2009; 108(5): 1433-46.
59. <http://anesthesiamd.blogspot.com/2011/05/coagulation-abnormalities-made-easy.html>. Accessed on November 23<sup>rd</sup> 2014.
60. Esmon CT. Coagulation and inflammation. *Journal of Endotoxin Research* 2003; 9(3): 192-8.
61. Levi M, Meijers JC.. DIC: which laboratory tests are most useful. *Blood reviews* 2011; 25(1): 33-7.
62. Esmon CT. The protein C pathway. *Chest* 2003; 124: 26S–32S.

63. Van de Wouwer M, Collen D, Conway EM. Thrombomodulin-protein C-EPCR system: integrated to regulate coagulation and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1374–83.
64. Levi M. The coagulant response in sepsis and inflammation. *Hämostaseologie* 2011; 30:10-6.
65. Navarro S, Bonet E, Estelles A, et al. The endothelial cell protein C receptor: Its role in thrombosis. *Thromb Res* 2011; 128 (5): 410-6.
66. Dahlback B. Vitamin K–Dependent Anticoagulant Protein S. In: Aird WC. *Endothelial Biomedicine*. New York: Cambridge University Press, 2007; 982-7.
67. Van de Wouwer M, Conway EM. Protein C. In: Aird WC. *Endothelial Biomedicine*. New York: Cambridge University Press, 2007; 973-81.
68. <http://eclinpath.com/hemostasis/physiology/secondary-hemostasis/secondary-haemostasis/> . Accessed on 23<sup>rd</sup> October 2014.
69. Fourrier F. Severe sepsis, coagulation, and fibrinolysis: Dead end or one way?. *Crit Care Med* 2012; 40(9): 2704-8.
70. Hardaway RM, Williams CH, Vasquez Y. Disseminated intravascular coagulation in sepsis. *Semin Thromb Hemost* 2001; 27:577–83.
71. Harrison DG, Widder J, Grumbach I et al. Endothelial mechanotransduction, nitric oxide and vascular inflammation. *Journal of Internal Medicine* 2006; 259: 351–63.
72. Lau SY, Ichinos F. The role of endothelium. In: Cavaillon JM, Adire C. *Sepsis and non-infectious systemic inflammation from biology to critical care*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.KgaA, 2009; 231-50.

73. Lindner H, Holler E, Ertl B, et al. Peripheral blood mononuclear cells induce programmed cell death in human endothelial cells and may prevent repair: role of cytokines. *Blood* 1997; 89: 1931–8.
74. Bombeli T, Karsan A, Tait JF, et al. Apoptotic vascular endothelial cells become procoagulant. *Blood* 1997; 89: 2429–42.
75. de Jonge E, Dekkers PEP, Creasey AA, et al. Tissue factor pathway inhibitor dose-dependently inhibits coagulation activation without influencing the fibrinolytic and cytokineresponse during human endotoxemia. *Blood* 2000; 95:1124–29.
76. Levi M, van der Poll T, Büller HR. Bidirectional relation between inflammation and coagulation. *Circulation* 2004; 109:2698-704.
77. Levi M, van der Poll T. The central role of the endothelium in the crosstalk between coagulation and inflammation in sepsis. *Advances in sepsis* 2004; 3(3): 91-7.
78. Levi M. Coagulation. In: Cavaillon JM, Adire C. Sepsis and non-infectious systemic inflammation from biology to critical care. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.KgaA, 2009; 251- 78.
79. Coughlin SR: Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature* 2000; 407:258 – 64.
80. Levi M., Van der Poll T. Two-way interactions between inflammation and coagulation. *Trends Cardiovasc Med* 2005; 15: 254 –9.
81. Esmon CT. New mechanisms for vascular control of inflammation mediated by natural anticoagulant proteins. *J Exp Med* 2002; 196: 561–4.

82. Levi M, van der Poll T. Inflammation and coagulation. *Crit Care Med* 2010;38(2 Suppl): S26-34.
83. Esmon CT. Inflammation and thrombosis. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1343–8.
84. Opal SM. Interactions between coagulation and inflammation. *Scand J Infect Dis* 2003; 35: 545-54.
85. The Biomarker Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69:89–95.
86. Marshall JC, Reinhart K. Biomarkers of sepsis. *Crit Care Med* 2009, 37:2290-8.
87. Kibe S, Adams K, Barlow G. Diagnostic and prognostic biomarkers of sepsis in critical care. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 2011; 66 (Suppl 2):II33-II40.
88. Lobo SM, Lobo FR, Bota DP, et al. C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically ill patients. *Chest* 2003; 123(6), 2043-9.
89. Clyne B, Olshaker JS. The C-reactive protein. *The Journal of emergency medicine* 1999; 17(6) 1019-25.
90. Reinhart K, Karzai W, Meisner M. Procalcitonin as a systemic inflammatory response to infection. *Intensive Care Med* 2000; 26: 1193 – 200.
91. Opatrna S, Klaboch J, Opatrny KJ et al. Procalcitonin levels in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 2005; 25: 470-2.
92. Herzum I, Renz H. Inflammatory markers in SIRS, sepsis and septic shock. *Current medicinal chemistry* 2008; 15(6) 581-7.



93. Jensen JU, Heslet L, Jensen TH et al. Procalcitonin increase in early identification of critically ill patients at high risk of mortality. *Crit Care Med* 2006; 34: 2596 – 602.
94. Pettila V, Hynninen M, Takkunen O et al. Predictive value of procalcitonin and interleukin-6 in critically ill patients with suspected sepsis. *Intensive Care Med* 2002; 28: 1220 – 5.
95. Ruiz-Alvarez MJ, Garcia-Valdecasas S, De Pablo R et al. Diagnostic efficacy and prognostic value of serum procalcitonin concentration in patients with suspected sepsis. *J Intensive Care Med* 2009; 24: 63 –71.
96. Bouadma L, Luyt CE, Tubach F et al. Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 375: 463–74.
97. Agilli M, Sener I, Yesildal F, et al. A new marker for the diagnosis of sepsis: Presepsin. *J Investig Biochem* 2012; 1(1):55-7.
98. Nakamura MTT, Naito K, Shirakawa K, Hosaka Y, Yamasaki F, Furusako S. Early elevation of plasma soluble CD14 subtype, a novel biomarker for sepsis, in a rabbit cecal ligation and puncture model. *Critical Care* 2008; 12(Suppl 2):194.
99. Bouch DC, Thompson JP. Severity scoring systems in the critically ill. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain j* 2008; 8 (5): 181-5.
100. Mourouga P, Goldfrad C, Rowan KM. Does it fit? Is it good? Assessment of scoring systems. *Curr Opin Crit Care* 2000; 6: 176– 8.
101. Vincent JL, Moreno R, Takala J, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. *Intensive Care Med* 1996; 22(7): 707-10.

102. Moreno R, Vincent JL, Matos R, et al. The use of maximum SOFA score to quantify organ dysfunction/failure in intensive care. Results of a prospective, multicentre study. *Intensive care medicine* 1999; 25(7): 686-96.
103. Paulus P, Jennewein C, Zacharowski K. Biomarkers of endothelial dysfunction: can they help us deciphering systemic inflammation and sepsis?. *Biomarkers* 2011; 16(S1) S11-S21.
104. Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Mélot C, Vincent JL. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA* 2001; 286:1754–8.
105. Slade E, Tamber PS, Vincent JL. The Surviving Sepsis Campaign: raising awareness to reduce mortality. *Crit Care* 2003; 7:1–2.
106. Lissalde-Lavigne G, Combescure C, Muller L, et al. Simple coagulation tests improve survival prediction in patients with septic shock. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2008; 6(4): 645-53.
107. Mihajlovic D, Lendak D, Brkic S, Draskovic B, Mitic G, Novakov Mikic A, Cebovic T. Endocan is useful biomarker of survival and severity in sepsis. *Microvascular research* 2014; 93: 92-7.
108. Rice TW, Wheeler AP. Coagulopathy in critically ill patients: part 1: platelet disorders. *Chest* 2009; 136(6): 1622-30.
109. Mercer KW, Macik B, Williams ME. Hematologic disorders in critically ill patients. *Semin Respir Crit Care Med* 2006; 27:286–96.
110. Drews RE, Weinberger SE. Thrombocytopenic disorders in critically ill patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:347–51.

111. Drews RE. Critical issues in hematology: anemia, thrombocytopenia, coagulopathy, and blood product transfusions in critically ill patients. *Clin Chest Med* 2003; 24:607–22.
112. Sharma B, Sharma M, Majumder M, et al. Thrombocytopenia in septic shock patients: a prospective observational study of incidence, risk factors, and correlation with clinical outcome. *Anaesth Intensive Care* 2007; 35:874–80.
113. Vanderschueren S, De Weerd A, Malbrain M, et al. Thrombocytopenia and prognosis in intensive care. *Crit Care Med* 2000; 28(6): 1871–6.
114. Strauss R, Wehler M, Mehler K, Kreutzer D, Koebnick C, Hahn EG. Thrombocytopenia in patients in the medical intensive care unit: bleeding prevalence, transfusion requirements, and outcome. *Crit Care Med* 2002; 30(8):1765–71.
115. Levi MM, Eerenberg E, Lowenberg E, Kamphuisen PW. Bleeding in patients using new anticoagulants or antiplatelet agents: risk factors and management. *Neth J Med* 2010; 68(2): 68–76.
116. Chakraverty R, Davidson S, Peggs K, Stross P, Garrard C, Littlewood TJ. The incidence and cause of coagulopathies in an intensive care population. *Br J Haematol* 1996; 93: 460–3.
117. Levi M, de Jonge E, van Der Poll T. Sepsis and disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Thrombolysis* 2003; 16 (1-2): 43–7.
118. Kitchen S, Makris M. Laboratory tests of hemostasis. In: O'Shaughnessy D, Makris M, Lillicrap D. *Practical Hemostasis and Thrombosis*, 2nd edn. West Sussex: Blackwell Publishing, 2005; 7-16.

119. Shorr AF, Thomas SJ, Alkins SA, Fitzpatrick TM, Ling GS. D-dimer correlates with proinflammatory cytokine levels and outcomes in critically ill patients. *Chest* 2002; 121(4):1262–8.
120. Owings JT, Gosselin RC, Anderson JT, Battistella FD, Bagley M, Larkin EC. Practical utility of the D-dimer assay for excluding thromboembolism in severely injured trauma patients. *J Trauma* 2001; 51(3):425–9.
121. Ma A. Evaluation of the bleeding patient. In O'Shaughnessy D, Makris M, Lillicrap D, editors. *Practical Hemostasis and Thrombosis*, 2nd edn. West Sussex: Blackwell Publishing, 2005; 48-60.
122. Lučić A. Funkcijsko ispitivanje krvi. U: Babić Lj, Borota R, Lučić A., 8.izdanje. Priručnik praktičnih i seminarskih vežbi iz patološke fiziologije. Novi Sad: Medicinski fakultet, 2004; 359-447.
123. Coenraad HH, Beguin S. Thrombin generation in plasma: its assessment via the endogenous thrombin potential. *Thrombosis and haemostasis* 1995;74(1): 134-8.
124. Hemker HC, Beguin S. (1999). Endogenous thrombin potential. In: *Laboratory techniques in thrombosis—a manual*, 2nd revised edn. Dordrecht: Springer Science+Business Media B.V., 1999; 63-78.
125. Chantarangkul V, Clerici M, Bressi C, Giesen PL, Tripodi A. Thrombin generation assessed as endogenous thrombin potential in patients with hyper-or hypo-coagulability. *Haematologica* 2003; 88(5) 547-54.

126. Petros S, Kliem P, Siegemund T, Siegemund R. Thrombin generation in severe sepsis. *Thrombosis research* 2012; 129(6), 797-800.
127. Esmon CT. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol* 2005; 131: 417– 43.
128. Takano S, Kimura S, Ohdama S, Aoki N. Plasma thrombomodulin in health and diseases. *Blood* 1990; 76(10): 2024-9.
129. Levi M, van der Poll T. The role of natural anticoagulants in the pathogenesis and management of systemic activation of coagulation and inflammation in critically ill patients. *Semin Thromb Hemost* 2008; 34(5): 459–68.
130. Anas A, Wiersinga WJ, de Vos AF, van der Poll T. Recent insights into the pathogenesis of bacterial sepsis. *Neth J Med* 2010; 68:157–62.
131. Xing K, Murth S, Liles WC, Singh JM. Clinical utility of biomarkers of endothelial activation in sepsis-a systematic review. *Crit Care* 2012; 16(1): R7.
132. Popović S. Koagulopatije. U:Pejin D. *Interna medicina III*. Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet,2006; 1567-77.
133. Claus RA, Bockmeyer CL, Sossdorf M, Lösche W. The balance between von-Willebrand factor and its cleaving protease ADAMTS13: biomarker in systemic inflammation and development of organ failure?. *Curr Mol Med* 2010; 10:236–48.
134. Bechard D, Gentina T, Delehedde M, et al. Endocan is a novel chondroitin sulfate/dermatan sulfate proteoglycan that promotes hepatocyte growth factor/scatter factor mitogenic activity. *J Biol Chem* 2001; 276: 48341–9.

135. Zhang SM, Zuo L, Zhou Q, et al.. Expression and distribution of endocan in human tissues. *Biotechnic & Histochemistry* 2012; 87(3): 172-8.
136. Lassalle P, Molet S, Janin A, et al. ESM-1 is a novel human endothelial cell-specific molecule expressed in lung and regulated by cytokines. *J Biol Chem* 1996; 271:20458–64.
137. Bechard D, Meignin V, Scherpereel A, et al. Characterization of the secreted form of endothelialcell- specific molecule 1 by specific monoclonal antibodies. *J Vasc Res* 2000; 37: 417–42.
138. Scherpereel A, Depontieu F, Grigoriu B, et al. Endocan, a new endothelial marker in human sepsis. *Crit Care Med* 2006; 34(2): 532-7.
139. Palmiere C, Augsburger M. Endocan measurement for the postmortem diagnosis of sepsis. *Legal Medicine* 2014; 16(1): 1-7.
140. Vincent JL. Clinical sepsis and septic shock—definition, diagnosis and management principles. *Langenbecks Arch Surg* 2008; 393:817–24.
141. Hodgin KE, Moss M. The Epidemiology of Sepsis. *Current Pharmaceutical Design* 2008; 14: 1833-9.
142. <http://www.nbti.org.rs/cms/view.php?id=117> . Accessed on November 23<sup>rd</sup> 2014.
143. Brandes RP, Fleming I, Busse R. Endothelial aging. *Cardiovascular Research* 2005; 66: 286–94.
143. Collins PW, Macchiavello LI, Lewis SJ, et al. Global tests of haemostasis in critically ill patients with severe sepsis syndrome compared to controls. *British journal of haematology* 2006; 135(2), 220-7.

144. Levi M, Toh CH, Thachil J, Watson HG. Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. *British journal of haematology* 2009; 145(1): 24-33.
145. Gabay C, Kushner, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *New England journal of medicine* 1999; 340(6), 448-4.
146. Sawamura A, Hayakawa M, Gando S, et al. Application of the Japanese Association for Acute Medicine disseminated intravascular coagulation diagnostic criteria for patients at an early phase of trauma. *Thrombosis research* 2009; 124(6): 706-10.
147. Niessen RW, Lamping RJ, Jansen PM, et al. Antithrombin acts as a negative acute phase protein as established with studies on HepG2 cells and in baboons. *Thromb Haemost* 1997; 78:1088–92.
148. Hayakawa M, Sawamura A, Yanagida Y, et al. The response of antithrombin III activity after supplementation decreases in proportion to the severity of sepsis and liver dysfunction. *Shock* 2008; 30:649–52.
149. Segal JB, Dzik WH. Paucity of studies to support that abnormal coagulation test results predict bleeding in the setting of invasive procedures: an evidence-based review. *Transfusion* 2005; 45: 1413–25.
150. Chowdhury P, Saayman AG, Paulus U, Findlay GP, Collins PW. Efficacy of standard dose and 30 ml/kg fresh frozen plasma in correcting laboratory parameters of haemostasis in critically ill patients. *British Journal of Haematology* 2004; 125: 69–73.

151. Claus RA, Bockmeyer CL, Budde U, et al. Variations in the ratio between von Willebrand factor and its cleaving protease during systemic inflammation and association with severity and prognosis of organ failure. *Thromb Haemost* 2009; 101:239-47.

152. Hovinga JAK, Zeerleder S, Kessler P, et al. ADAMTS-13, von Willebrand factor and related parameters in severe sepsis and septic shock. *J Thromb Haemost* 2007; 5:2284-90.

153. Lin SM, Wang YM, Lin HC, et al. Serum thrombomodulin level relates to the clinical course of disseminated intravascular coagulation, multiorgan dysfunction syndrome, and mortality in patients with sepsis. *Crit Care Med* 2008; 36(3): 683-9.

154. Dhainaut JF, Yan SB, Cariou A, Mira JP. Soluble thrombomodulin, plasma-derived unactivated protein C, and recombinant human activated protein C in sepsis. *Crit Care Med* 2002; 30(5): S318-S324.

155. Mihajlovic D, Lendak D, Draskovic B, et al. Thrombomodulin is a strong predictor of multiorgan dysfunction syndrome in patients with sepsis. *Clin Appl Thromb Hemost* 1076029613508600, first published on November 6, 2013 as doi:10.1177/1076029613508600.

156. Haas FJ, Schutgens RE, Kluft C, Biesma DH. A thrombin generation assay may reduce the need for compression ultrasonography for the exclusion of deep venous thrombosis in the elderly. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 2011; 71(1): 12-8.

157. Abbate R, Prisco D, Rostagno C, Boddi M, Gensini GF. Age-related changes in the hemostatic system. *International Journal of Clinical and Laboratory Research* 1993; 23(1-4): 1-3.

158. Gašparović V, Gornik I, Ivanović D. Sepsis syndrome in Croatian intensive care units: piloting a national comparative clinical database. *Croatian medical journal* 2006; 47(3): 404-9.



159. Brun-Buisson C, Meshaka P, Pinton P, Vallet B. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive care medicine* 2004; 30(4): 580-8.
160. Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, et al. Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med* 2007; 33(4): 606-18.
161. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients Investigators. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study. *Crit Care Med* 2006; 34(2): 344-53.
162. Cheng B, Xie G, Yao S, et al. Epidemiology of severe sepsis in critically ill surgical patients in ten university hospitals in China. *Crit Care Med* 2007; 35(11): 2538-46.
163. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, et al. Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults: a multicenter prospective study in intensive care units. *JAMA* 1995; 274(12): 968-74.
164. Meisner M, Tschaikowsky K, Palmaers T, Schmidt J. Comparison of procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS. *Crit Care* 1999; 3(1): 45.
165. Hatherill M, Tibby SM, Sykes K, Turner C, Murdoch IA. Diagnostic markers of infection: comparison of procalcitonin with C reactive protein and leucocyte count. *Archives of disease in childhood* 1999; 81(5): 417-21.

166. Bossink AW, Groeneveld AJ, Hack CE, Thijs LG. (1998). Prediction of Mortality in Febrile Medical Patients How Useful Are Systemic Inflammatory Response Syndrome and Sepsis Criteria?. *Chest* 1998; 113(6): 1533-41.
167. Zubert S, Funk DJ, Kumar A. Antibiotics in sepsis and septic shock: Like everything else in life, timing is everything. *Crit Care Med* 2010; 38(4): 1211-2.
168. Amaral A, Opal SM, Vincent JL. Coagulation in sepsis. *Intensive Care Med* 2004; 30(6): 1032-40.
169. Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, Colucci M. Sepsis, thrombosis and organ dysfunction. *Thrombosis research* 2012; 129(3): 290-5.
170. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *New Engl J Med* 2001; 344(10): 699-709.
171. Iba T, Nakarai E, Takayama T, Nakajima K, Sasaoka T, Ohno Y. Combination effect of antithrombin and recombinant human soluble thrombomodulin in a lipopolysaccharide induced rat sepsis model. *Crit Care* 2009; 13(6): R203.
172. Ito T, Maruyama I. Thrombomodulin: protectorate God of the vasculature in thrombosis and inflammation. *J Throm Haemost* 2011; 9(s1): 168-173.
173. Silva E, de Figueiredo LFP, Colombari F. Prowess-shock trial: a protocol overview and perspectives. *Shock* 2010; 34(7): 48-53.
174. Warren BL, Eid A, Singer P et al. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 286:1869–78.

175. Wiedermann CJ, Hoffmann JN, Juers M et al. High-dose antithrombin III in the treatment of severe sepsis in patients with a high risk of death: efficacy and safety. *Crit Care Med* 2006;34:285–292.
176. Loof TG, Mörgelin M, Johansson L, et al. Coagulation, an ancestral serine protease cas-cade, exerts a novel function in early immune defense. *Blood* 2011; 118:2589–98.
177. Bergmann S, Hammerschmidt S. Fibrinolysis and host response in bacterial infections. *Thromb Haemost* 2007; 98:512–20.
178. Potempaa J, Pikeb RN. Corruption of innate immunity by bacterial proteases. *J Innate Immun* 2009; 1:70–87
179. Sun H, Wang X, Degen JL, et al. Reduced thrombin generation increases host susceptibility to group A streptococcal infection. *Blood* 2009; 113:1358–64.
180. Ware LB, Eisner MD, Thompson BT, Parsons PE, Matthay MA. Significance of von Willebrand factor in septic and nonseptic patients with acute lung injury. *Am J Resp Crit Care* 2004; 170(7): 766-72.
181. Rivers EP, McIntyre L, Morro D, Rivers KK. Early and innovative interventions for severe sepsis and septic shock: taking advantage of a window of opportunity. *Can Med Assoc J* 2005; 173(9): 1054-65.
182. Esper AM, Martin GS. Extending international sepsis epidemiology: the impact of organ dysfunction. *Crit Care* 2009; 13(1): 120.
183. Blanco J, Muriel-Bombín A, Sagredo V, et al. Incidence, organ dysfunction and mortality in severe sepsis: a Spanish multicentre study. *Crit Care* 2008; 12(6): R158.

184. Walkey AJ, Summer RS, Kirkpatrick AR. Delayed Recognition Of Severe Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 187: A1562.
185. Pettila V, Hynninen M, Takkunen O et al. Predictive value of procalcitonin and interleukin-6 in critically ill patients with suspected sepsis. *Intensive Care Med* 2002; 28: 1220 – 5.
186. Giamarellos-Bourboulis E.J, Norrby-Teglund A, Mylona V, et al. Risk assessment in sepsis: a new prognostication rule by APACHE II score and serum soluble urokinase plasminogen activator receptor. *Crit Care* 2012; 16(4): R149.
187. Abid MR, Yi X, Yano K, Shih SC, Aird WC. Vascular endocan is preferentially expressed in tumor endothelium. *Microvasc Res* 2006; 72:136-145.
188. Rennel E, Mellberg S, Dimberg A, et al. Endocan is a VEGF-A and PI3K regulated gene with increased expression in human renal cancer. *Exp Cell Res* 2007; 313:1285-94.
189. Sarrazin S, Lyon M, Deakin JA, et al. Characterization and binding activity of the chondroitin/dermatan sulfate chain from Endocan, a soluble endothelial proteoglycan. *Glycobiology* 2010; 20(11): 1380-8.
190. van Eijk LT, Cox LAE, Ramakers BPC, et al. Plasma endocan levels are associated with endothelial dysfunction during experimental human endotoxemia. *Intensive Care Medicine Experimental* 2014; 2(Suppl 1): P52.