



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ  
НАУКА

Снежана Б. Ђукић

**Карактеристике медијатора  
инфламације у системској циркулацији  
критично оболелих пацијената са  
секундарном сепсом порекла  
перитонитиса, панкреатитиса и тешке  
трауме**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2024. године



UNIVERZITET U  
Kragujevcu FAKULTET  
MEDICINSKIH NAUKA

Snežana B. Đukić

**Karakteristike medijatora inflamacije u  
sistemskej cirkulaciji kritično obolelih  
pacijenata sa sekundarnom sepsom  
porekla peritonitisa, pankreatitisa i teške  
traume**

Doktorska disertacija

Kragujevac, 2024. godine



UNIVERSITY OF  
Kragujevac  
FACULTY OF MEDICAL  
SCIENCES

Snežana B. Đukić

**Characteristics of inflammatory mediators  
in the systemic circulation of critically ill  
patients with secondary sepsis of  
peritonitis, pancreatitis and severe trauma**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2024.

<b>Аутор</b>
Име и презиме: Снежана Б. Ђукић
Датум и место рођења: 21. април 1981. Косовска Митровица
Садашње запослење: Медицински факултет Универзитета у Приштини; КБЦ Косовска Митровица; Специјалиста анестезиологије и реаниматологије; субспецијалиста Медицине бола
<b>Докторска дисертација</b>
Наслов: Карактеристике медијатора инфламације у системској циркулацији критично оболелих пацијената са секундарном сепсом порекла перитонитиса, панкреатитиса и тешке трауме
Број страница: 91
Број графикона: 8, слике: 23, табела: 23.
Број библиографских података: 155
Установа и место где је рад израђен: Клиника за анестезиологију и интензивну терапију Војномедицинска академија, Црнотравска 17, Београд
Научна област (УДК): Медицина
Ментор: Проф. др Маја Шурбатовић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду
Ментор: Проф. др Јасна Јевђић, редовни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу
<b>Оцена и одбрана</b>
Датум пријаве теме: 05.06.2023.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: 01-9491/10-12 од 27.09.2023. године.
Комисија за оцену подобности теме и кандидата:  1. др Милош Арсенијевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, председник 2. др Бојана Стојановић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, члан; 3. Проф. др Предраг Стевановић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија са анестезиологијом, члан.
Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације:
Датум одбране дисертације:

<b>Autor</b>
Ime i prezime: Snežana Đukić
Datum i mesto rođenja: 21. april 1981, Kosovska Mitrovica
Sadašnje zaposlenje: Medicinski fakultet Univerziteta u Prištini; KBC Kosovska Mitrovica Specijalista Anesteziologije i reanimatologije; subspecijalista Medicine bola
<b>Doktorska disertacija</b>
Naslov: Klinički značaj merenja medijatora IFNlamacije u sistemskoj cirkulaciji kritično obolelih sa sekundarnom sepsom i/ili traumom
Broj stranica: 91
Broj grafikona: 8, slike: 23 tabela:23
Broj bibliografskih podataka: 155
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju VMA, Beograd
Naučna oblast (UDK): Medicina
Mentor: Prof. dr Maja Šurbatović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta odbrane u Beogradu
Mentor: Prof. dr Jasna Jevđić, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu
<b>Ocena i odbrana</b>
Datum prijave teme: 05.06.2023.godine
Broj odluke i datum prihvatanja doktorske disertacije: 01-9491/10-12 od 27.09.2023. godine
Komisija za ocenu podobnosti teme i kandidata: <ul style="list-style-type: none"> <li>1. Dr Miloš Arsenijević, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Hirurgija, predsednik</li> <li>2. Dr Bojana Stojanović, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Patološka fiziologija, član</li> <li>3. Prof. dr Predrag Stevanović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, za užu naučnu oblast Hirurgija sa Anesteziologijom, član</li> </ul>
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:
Datum odbrane disertacije:

<b>Author</b>
Name and surname: Snežana B. Đukić
Date and place of birth: 21.04.1981 Kosovska Mitrovica, Serbia
Current employment: Faculty of Medicine, University of Pristina Clinical Hospital Center Kosovska Mitrovica, Department of Anesthesiology, specialist in anesthesiology; subspecialist of pain medicine
<b>Doctoral Disertation</b>
Title: Characteristics of inflammatory mediators in the systemic circulation of critically ill patients with secondary sepsis of peritonitis, pancreatitis and severe trauma
No. of pages: 91
No. of diagrams: 8, pictures:23, tables:23
No. of bibliographic data: 155
Institution and place of work: Clinic for Anesthesiology and Critical Care, Military Medical Academy, Belgrade
Scientific area (UDK): Medical sciences
Mentor: Prof. dr Maja Šurbatović, full professor Faculty of Medicine of the Military Medical Academy, University of Defense, Belgrade, Serbia
Mentor: Prof. dr Jasna Jevđić, full professor of Faculty Medical Sciences, University of Kragujevac
<b>Grade and Dissertation Defense</b>
Topic Application Date: 05.06.2023.
Decision number and date of acceptance of the doctoral: 01-9491/10-12, date 27.09.2023.
Commision for evaluation of scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate: <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Doc. dr Miloš Arsenijević, assistant professor of Faculty Medical Sciences, University of Kragujevac, scientific domain: Surgery, chairman;</li> <li>2.Doc.dr Bojana Stojanović, assistant professor of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, scientific domain: Pathological physiology, member</li> <li>3.Prof. dr Predrag Stevanović, Associate professor of Anesthesiology, MD PhD at School of Medicine, University of Belgrade, member</li> </ol>
Commission for evaluation and defense of doctoral:
Date of Dissertation Defense:

## ЗАХВАЛНИЦА

*Захваљујем својим менторима, проф. др Маји Шурбатовић и проф. др Јасни Јевђић на великодушној помоћи у непрекидном клиничком раду, пажњи и разумевању током формирања студије и креирања завршне форме докторске дисертације.*

*На подршци током правилног избора пацијената, прибављања и обрађивању узорака захваљујем се колегама и колегиницама, као и особљу Клинике за Анестезиологију, реаниматологију и интензивну терапију и Институту за медицинска истраживања Војномедицинске академије.*

*Захвалност дугујем својој фамилији на подршци и разумевању, као и родитељима који су ме правилно усмерили и подржали током мог академског образовања.*

*Докторску дисертацију посвећујем својој деци Немањи, Петру и Мији!*

## Сажетак

**Увод.** Улога имунског одговора у сепси и даље није потпуно разјашњена и предмет је истраживања. **Циљеви:** Утврдити разлике у цитокинском профилу код критично оболелих болесника са сепсом порекла панкреатитиса, перитонитиса и трауме у односу на основно стање, узрочника и проценити прогностичку вредност у односу на исход. **Метод.** Узорци крви узети су од 125 болесника са сепсом порекла перитонитиса, панкреатитиса и трауме, из којих су одређени нивои проинфламаторних: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-17A, IP 10, MCP1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  и анти-инфламаторних цитокина: IL-33, IL-31, IL-27, IL-13, IL-10, IL-4, првог, а потом трећег и петог дана. **Резултати.** Нивои TNF- $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IP 10, MCP-1, IL-27, IL-33 и IL-10 били су већи у групи перитонитиса у односу на панкреатитис првог дана мерења. Поређењем нивоа цитокина између првог, трећег и петог дана мерења у групи посттрауматске сепсе установљене су разлике за проинфламаторне: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IP 10, IL-8, MIP-1 $\beta$ , IL-17A, IFN- $\gamma$ , MIP-1 $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-12p70 и анти-инфламаторне цитокине: IL-33, IL-10, IL-31, IL-13. Разлике у нивоима цитокина у погледу бактеријемје установили смо код свих цитокина, осим IL-8, трећег дана мерења. Једини предиктор леталног исхода првог дана мерења био је IL-17A код болесника са сепсом порекла перитонитиса. **Закључци.** Цитокински профил код пацијената са сепсом порекла перитонитиса показао је веће вредности у односу на пацијенте са сепсом код тешког панкреатитиса у првом дану мерења. Најнижи нивои цитокина измерени су код пацијената са полимикробном хемокултуром. Ниска концентрација IL-17A код пацијената са септичким перитонитисом предвиђа смртни исход.

**Кључне речи:** цитокини, сепса, перитонитис, панкреатитис, траума, хемокултура, исход, критична стања



## Abstract

**Introduction:** The role of the sepsis-related immune response has not been fully clarified, and still remains a subject matter of investigations. **Objectives:** to determine the differences in the cytokine profile in critically ill patients with sepsis of pancreatitis, peritonitis and trauma in relation to the underlying condition, the causative agent and to evaluate the prognostic value in relation to the outcome. **Methods.** Blood samples were taken from 125 patients with sepsis of peritonitis, pancreatitis and trauma origin, from which the levels of pro-inflammatory factors were determined: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-17A, IP10, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  and anti-inflammatory cytokines IL-33, IL-31, IL-27, IL-13, IL-10, IL-4, the first, and then on the third and fifth day. **Results.** The levels of TNF- $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IP 10, MCP-1, IL-27, IL-33 and IL-10 were higher in the group of peritonitis compared to pancreatitis on the first day of measurement. By comparing cytokine levels between the first, third and fifth day of measurement in the post-traumatic sepsis group, differences were found for pro-inflammatory: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IP 10, IL-8, MIP-1 $\beta$ , IL-17A, IFN- $\gamma$ , MIP-1 $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-12p70 and anti-inflammatory cytokines: IL-33, IL-10, IL-31, IL-13. Differences in cytokine levels with regard to bacteremia were found for all cytokines, except for IL-8, on the third day of measurement. The only predictor of lethal outcome on the first day of measurement was IL-17A in patients with sepsis of peritonitis origin. **Conclusions.** Cytokine profile in patients with sepsis of peritonitis origin showed higher values compared to patients with sepsis in severe pancreatitis on the first day of measurement. The lowest cytokine levels were measured in patients with polymicrobial blood cultures. Low concentration of IL-17A in patients with septic peritonitis predicts fatal outcome.

**Keywords:** cytokines, sepsis, peritonitis, pancreatitis, trauma, blood culture, outcome, critical illness

## Садржај

1. УВОД.....	1
1.1. Дефиниција сепсе.....	3
1.2. Нова дефиниција сепсе-Sepsis 3 .....	6
1.3. Дефиниција тешке трауме .....	10
1.4. Патопфизиологија сепсе и акутне дисфункције органа .....	11
1.5. Имунски одговор на трауму.....	15
1.6. Цитокини.....	17
1.7. Проинфламаторни цитокини у сепси .....	17
1.7.1. Тумор некрозис фактор- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ).....	18
1.7.2. Интерферон- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ) .....	20
1.7.3. Интерлеукин 1 (IL-1 $\alpha$ и IL-1 $\beta$ ).....	21
1.7.4. Интерлеукин 6 ( IL-6) .....	22
1.7.5. Интерлеукин-8 (IL-8).....	23
1.7.6. Интерлеукин 12 (IL-12).....	24
1.7.7. Интерлеукин IL-17A (IL-17A).....	26
1.7.8. IP 10 (induced protein10) Интерферон- $\gamma$ -индуцибилни протеин .....	27
1.7.9. Моноцитни хемоатрактантни протеин 1 (MCP-1).....	28
1.7.10. Макрофагни инфламаторни протеини (MIP-1 $\alpha$ и MIP1 $\beta$ ).....	29
1.8. Анти-инфламаторни цитокини у сепси.....	30
1.8.1. Интерлеукин 4 (IL-4).....	30
1.8.2. Интерлеукин 10 (IL-10).....	31
1.8.4. Интерлеукин 27 (IL-27).....	33
1.8.5. Интерлеукин 31 (IL-31).....	34
1.8.6. Интерлеукин 33 (IL-33).....	35
1.9. Сепса и Covid -19 инфекција.....	36
2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА .....	40
2.1. Циљеви истраживања .....	41
2.2. Хипотезе истраживања .....	41
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	42
3.1. Врста студије .....	43
3.2. Популација која је истраживана .....	43
3.3. Узорковање .....	43

3.4.	Варијабле које се мере у студији .....	44
3.5.	Статистичка обрада података.....	45
4.	РЕЗУЛТАТИ.....	46
4.1.	Демографске особине пацијената.....	47
4.2	Поређење основних параметара према основном стању које се компликовало сепсом.....	50
4.2.1	Нивои цитокина у три временска интервала према основном стању које се компликовало секундарном сепсом.....	51
4.2.2	Поређење нивоа цитокина између временских интервала према основном стању које се компликовало секундарном сепсом .....	53
4.3.	Поређење основних параметара према хемокултурама .....	54
4.3.1.	Медијатори инфламације у три временска интервала и природа бактеријемije .....	54
4.3.2.	Поређење нивоа цитокина између временских интервала мерења према групама хемокултура.....	56
4.3.3.	Предиктивна вредност цитокина трећег дана мерења у односу на хемокултуре .....	58
4.4.	Поређење основних параметара према исходу болести.....	60
4.4.1.	Вредности цитокина у три временска интервала мерења према исходу....	60
4.4.2.	Поређење вредности цитокина између временских интервала мерења према исходу .....	61
4.4.3.	Вредности цитокина у предикцији леталног исхода.....	62
4.5.	Цитокини као предиктори леталног исхода према основном обољењу које се компликовало секундарном сепсом (перитонитис, панкреатитис, траума) .....	63
4.5.1.	Цитокини као предиктори леталног исхода код пацијената са секундарном сепсом порекла перитонитиса .....	63
4.5.2.	Цитокини као предиктори леталног исхода код пацијената са секундарном сепсом порекла панкреатитиса.....	63
4.5.3.	Цитокини као предиктори леталног исхода код пацијената са секундарном сепсом порекла трауме.....	64
4.6.	Цитокини као предиктори леталног исхода према врстама бактеријског проузроковача.....	65
5.	ДИСКУСИЈА.....	66
6.	ЗАКЉУЧЦИ .....	73
7.	ЛИТЕРАТУРА.....	75
	БИОГРАФИЈА.....	89
	БИБЛИОГРАФИЈА.....	86

## **1. УВОД**

У критично оболелих пацијената са секундарном сепсом која је најчешће компликација тешког акутног панкреатитиса, перитонитиса и трауме покреће се комплексан имунски одговор који се често карактерише дисфункцијом неутрофила и моноцита, кључних ћелија урођеног имунског одговора (1). Код неких болесника постоји преминација анти-инфламаторног одговора или чак глобално смањење продукције готово свих цитокина.

Посебан проблем у лечењу критично оболелих са сепсом представља чињеница да велики број ових пацијената веома дуго борави у јединици интензивне терапије са дисфункцијом различитих органа, практично у стању хроничне критичне болести. Њихов клинички ток се карактерише веома израженим и упорним катаболизмом са лошим нутритивним статусом, лошим зарастањем рана, имуносупресијом и рекурентним инфекцијама. Због тога је предложен посебан ентитет, односно нови синдром перзистентне инфламације-имуносупресије и катаболизма (persistent inflammation-immunosuppression catabolism syndrome - PICS) (2,3).

Студија Бумера и сарадника показала је да код болесника који су умрли од сепсе постоје биохемијски, имунохистохемијски и фенотипски знаци који указују на имуносупресију (4). У ових болесника постојали су фокуси бактеријских инфекција који су се одржавали упркос антимикумној терапији, као и реактивација латентних вирусних инфекција. Разлози настале имуносупресије код ових болесника са сепсом и даље нису разјашњени.

У сврху што бољег разумевања комплексног имунског одговора код критично оболелих и повређених са секундарном сепсом испитивани су бројни проинфламаторни и анти-инфламаторни медијатори са често контрадикторним резултатима истраживања. И даље је предмет истраживања утицај основног обољења које је проузроковало сепсу, као и утицај врсте микробиолошког узрочника на имунски одговор критично оболелих и повређених. Такође се и даље интензивно проучава повезаност имунског одговора са преживљавањем ове популације пацијената.

Бољи увид у имунски одговор критично оболелих би се могао стећи мерењем серумске концентрације већег броја медијатора инфламације са доминантно проинфламаторним или анти-инфламаторним својствима. Концентрације медијатора са проинфламаторним својствима: фактор некрозе тумора алфа (TNF- $\alpha$ ), интерферон-гама (IFN- $\gamma$ ), интерлеукини 1 (IL-1  $\beta$  и IL-1 $\alpha$ ), IL-8, IL-6, IL-17A, IP 10 (интерферон гама-индукујући протеин 10), IL-12 p70, MCP-1 (хемоатрактантни протеин моноцита 1), MIP-1 $\alpha$  и MIP-1 $\beta$  (макрофагни индукујући протеин 1 алфа и 1 бета) као и оних са анти-инфламаторним својствима: IL-33, IL-31, IL-27, IL-13, IL-10 и IL-4 се могу користити у те сврхе. Данас се сматра да је сепса динамички синдром који карактеришу многи, често антагонистички феномени у распону од хиперинфламације до анергије и имунопарализе.

Претходни концепт проинфламаторног процеса који прати компензаторна анти-инфламаторна фаза не представља честу клиничку слику. Чешће ова два процеса прогредирају са значајним степеном синхронизације, иако не нужно истовремено. Хиперинфламаторна фаза, позната и као „citoкинска олуја“ карактерише се неконтролисано продукцијом проинфламаторних медијатора који често доводе до оштећења органа и синдрома мултипле органске дисфункције (МОДС). Овакв

клинички сценарио може довести до ране смрти, у року од неколико дана, а може се јавити код тешког акутног панкреатитиса. У касној фази сепсе доминира стање пролонгираног исцрпљивања имунских ефекторних ћелија што резултује имуносупресијом. Касна смрт у сепси настаје или због прогресивне парезе имунских ћелија што резултује секундарним инфекцијама или због инфламацијом индукованог оштећења органа, а често постоји комбинација имуносупресије и перзистентне инфламације (5,6).

Проблем који постоји уопште у истраживању сепсе код критично оболелих и повређених је хетерогеност ових пацијената, па тако и имунског одговора. Током времена овај одговор се мења и веома је различит код различитих пацијената са синдромом сепсе. Поред ових интериндивидуалних разлика постоје и значајне интраиндивидуалне разлике. Код истог пацијента на имунски одговор утичу многи фактори, који су варијабилни, као што су: време од настанка инфекције до клиничке презентације болести, место инфекције, вируленција патогена, могућа претходна имунокомпромитованост пацијента, генски детерминисана склоност ка одређеном типу имунског одговора (7,8,9).

Посебно је значајан утицај старости пацијента на имунски одговор. Популација критично оболелих је све старија, а код старијих је ослабљен имунски одговор на инсулт што се назива имуносенесценција (10). На имунски одговор у овој популацији пацијената утичу и терапијске мере које се примењују, од медикамената до мера потпоре организма у дисфункцији као што су различити модалитети хемодијализе и механичке вентилације плућа. У том смислу примена катехоламина као и инотропа и вазопресора има велики утицај на имунски одговор (11).

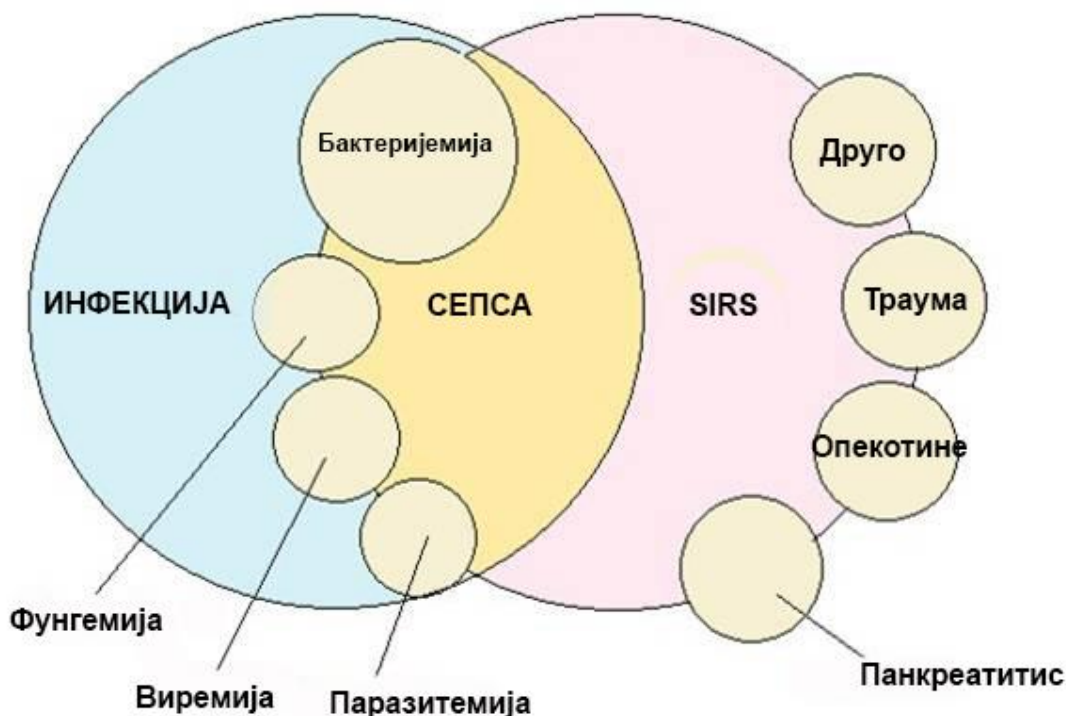
Истраживања су показала да на профил цитокина код критично оболелих са сепсом утиче врста бактеријског проузроковача (12,13,14). Због свих наведених фактора који утичу на имунски одговор и његову варијабилност значајно је пратити профил цитокина у дужем временском периоду.

### 1.1. Дефиниција сепсе

Најновије препоруке Surviving Sepsis Campaign (SSC) из 2016. су донеле нове дефиниције сепсе и септичког шока, у оквиру ревизије старе поделе на сепсу, тешку сепсу и септички шок (15).

Прве дефиниције сепсе, тешке сепсе и септичког шока су дате 1991. године. Тада је сепса дефинисана постојањем системског инфламаторног одговора (SIRS) изазваног инфекцијом. Очигледно је да сличана, па и истоветна клиничка реакција може настати и када инфекција не постоји, па је уведен израз *синдром системског инфламаторног одговора (SIRS)*, занемарујући притом узрок (слика 1).

Слика 1- Међусобни однос инфекције, сепсе и SIRS-а. Модификовано и прилагођено према Singer et al.



Клинички параметри SIRS-а садрже минимално два или више критеријума побројаних у табели 1. Потребно је да побројани критеријуми приказују сигнификантну измену, услед непостојања осталих познатих узрока, који могу да дају такве поремећаје.

Табела 1: Параметри за SIRS сагласно смерницама од 1991. године. Прилагођено према Bone et al.

Критеријуми за SIRS	
Телесна температура	Грозница ( $>38^{\circ}\text{C}$ ) или снижена температура ( $<36^{\circ}\text{C}$ )
Пулс	Тахикардија ( $> 90$ / минути)
Број респирација	Тахипнеја ( $> 20$ респирација у минути) или хипервентилација ( $\text{PaCO}_2 < 32\text{mmHg}$ )
Број леукоцита	Леукоцитоза ( $>12000/\text{mm}^3$ ), леукопенија ( $<4000/\text{mm}^3$ ) или присуство више од 10% незрелих леукоцита

Поред инфекције, најчешћи узрок SIRS-а у јединицама хируршке интензивне терапије је траума.

Сепса компликована дисфункцијом органа дефинисана је као тешка сепса, а септички шок је дефинисан постојањем сепсом индуковане хипотензије, која се одржава упркос

адекватној надокнади течности, заједно са хипоперфузијом. Под хипотензијом подразумева се систолни крвни притисак < 90 mmHg или редукција више од 40 mmHg у односу на уобичајени систолни притисак, у одсуству других узрока (нпр, кардиогени шок). Ако ова хипотензија траје мање од једног сата и не реагује на конвенционалну терапију (надокнада волумена и фармаколошка потпора), то је рана фаза септичког шока. Ако траје више од сата, упркос адекватној надокнади волумена и ако су потребни вазопресори или високе дозе инотропа, то је рефрактерни септички шок (16).

SIRS се често компликује дисфункцијом органа, па је уведен термин синдром мултипле органске дисфункције (MODS), који означава динамични ток развоја оштећења органске функције, који има периодичну еволуцију код критично оболелих болесника. Акценат се овде ставља на динамичан ток промене функције током времена, за разлику од инсуфицијенције, која има дихотомни карактер (или је има или је нема). MODS је дефинисан као постојање редуковане функције два или више органска система, када се хомеостаза без терапијске процедуре не може успоставити и одржавати.

Примарни MODS има следеће карактеристике:

- директни је резултат трауме и настаје непосредно након ње (нпр. контузија плућа, ренална инсуфицијенција због рабдомиолизе или коагулопатија због мултиплих трансфузија),
- учешће абнормалног ексцесивног инфламаторног одговора пацијента није толико евидентно.

Секундарни MODS има следеће карактеристике:

- последица је абнормалног ексцесивног инфламаторног одговора у органима пацијената који су удаљени од места иницијалне трауме,
- настаје после латентног периода у односу на иницијалну повреду,
- сматра се компликацијом тешких инфекција (SIRS-a).

Дефиниције из 1991 године нису прецизно дефинисале ни органску дисфункцију, као ни септички шок, што је довело до различитих интерпретација и значајног варирања у учесталости и морталитету.

2012. год. на Интернационалној конференцији о дефиницијама сепсе проширене су листе дијагностичких критеријума за сепсу (табела 2).

Смернице за третман тешке сепсе и септичког шока су први пут објављене 2004. године, а уследила су издања 2008, 2012. и 2016. са ажурираним препорукама базираним на доказима (17,18,19).



Табела 2. Дијагностички критеријуми за сепсу према SSC из 2012. године. Прилагођено према Dellinger RP, Levy MM. Et al

<b>Дијагностички критеријуми за сепсу</b>	
ИНФЕКЦИЈА, документована или суспектна, са било којом од испод наведених клиничких или дијагностичких критеријума:	
Општи показатељи	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Грoзница (&gt;38°C) или снижена температура (&lt;36°C)</li> <li>· Убрзан рад срца (&gt; 90 откуцаја/мин)</li> <li>· Убрзано и плитко дисање</li> <li>· Промењен ментални статус</li> <li>· Значајни едеми и/или позитиван биланс течности (&gt; 20мл/кг током 24h)</li> <li>· Повишен шећер у крви (глукоза плазме &gt;7,7ммол/л у одсуству дијабетеса)</li> </ul>
Инфламаторни параметри	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Леукоцитоза (&gt;12000/mm<sup>3</sup>)</li> <li>· Леукопенија (&lt;4000/mm<sup>3</sup>) или присуство више од 10% незрелих форми</li> <li>· С-реактивни протеин у плазми &gt;2SD изнад нормалне вредности</li> <li>· Прокалцитонин у плазми &gt;2SD преко норматива</li> </ul>
Хемодинамски параметри	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Снижен крвни притисак сistolни (горњи) притисак &lt;90 mmHg, или МАР &lt; 70 mmHg, или пад систолног (горњег) притиска &gt; 40mmHg.</li> </ul>
Параметри органске дисфункције	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Смањена оксигенација артеријске крви (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> &lt;300)</li> <li>· Смањено излучивање мокраће &lt;0,5ml/kg/h током минимално 2h упркос одговарајућој надокнади волумена)</li> <li>· Креатинина &gt;0,5mg/dl</li> <li>· Поремећај коагулационих параметара (INR &gt;1,5 или aPTT &gt;60 сек.)</li> <li>· Интестинална опструкција (одсутна перисталтика)</li> <li>· Снижен број тромбоцита &lt;100x10<sup>9</sup>/l)</li> <li>· Хипербилирубинемија (укупни билирубин у плазми &gt; 70μmol/l)</li> </ul>
Параметри ткивне перфузије	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Хиперлактатемија (&gt;1mmol/l)</li> <li>· Смањено капиларно пуњење</li> </ul>

## 1.2. Нова дефиниција сепсе – Sepsis- 3

Међународна радна група је 2016. године објавила нове дефиниције сепсе (Sepsis-3), са циљем да се раније дефиниције сепсе појасне и поједноставе.

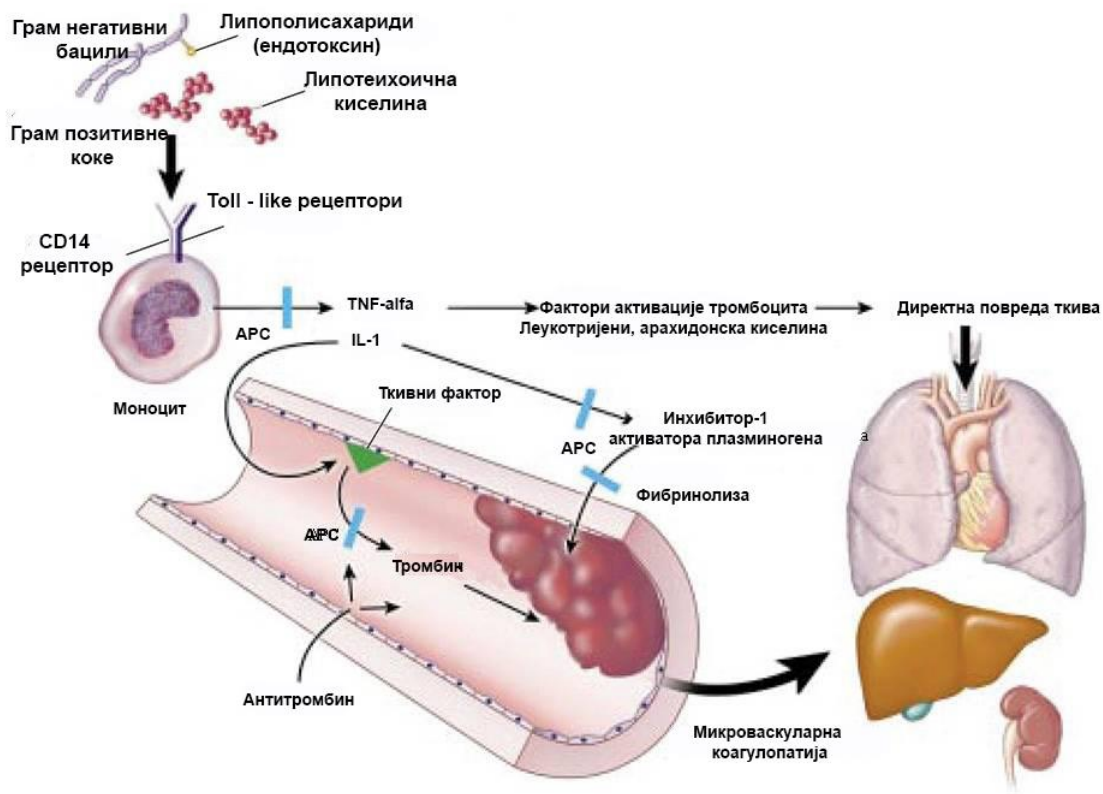
Према новој дефиницији Sepsis-3, сепса се дефинише као животно угрожавајућа дисфункција органа изазвана поремећеним одговором домаћина на инфекцију (Слика 2). Овај одговор не подразумева само системску инфламацију, већ и дисфункцију у бројним системима, као што су метаболички, коагулациони, хормонални, анти-инфламаторни, микро и макро-васкуларни (15).

Слика 2- Трећа интернационална консензус дефиниција сепсе и септичког шока. Модификовано и прилагођено према Delano MJ.



Новом дефиницијом сепсе стављен је нагласак на имуно-инфламаторну спиралу сепсе, представљену сликом 3, као најважнији моменат.

Слика 3. Имуно-инфламаторна спирала сепсе; IL – интерлеукин, TNF- $\alpha$  – фактор некрозе тумора  $\alpha$ , APC – активирани С протеин (кориговано и адаптирано према LaRosa SP



Фундаментални разлог који је захтевао нову дефиницију сепсе јесте чињеница да у ситуацији у којој постоји инфекција, или сумња на њу, раније коришћени SIRS критеријуми нису успевали да направе разлику између некомплицоване инфекције, која можда не захтева примену антибиотика, и тешке, животно угрожавајуће инфекције, која доводи до органске дисфункције.

Према томе, оно што је некада дефинисано као „тешка сепса“ према новој дефиницији се дефинише као „сепса“. Дефиниције из 1991. године нису прецизно дефинисале ни органску дисфункцију, ни септички шок, што је довело до значајног варирања у учесталости и морталитету.

Према новој дефиницији, органска дисфункција се дефинише као акутна промена у укупном SOFA скору за два и више бодова, која је узрокована инфекцијом. Рачуна се да је почетни SOFA скор 0, код пацијента без предходне органске дисфункције (табела 3).

Табела 3: SOFA skor (Sequential Organ Failure Assessment Score). Прилагођено према Singer et al.

Систем	СКОР				
	0	1	2	3	4
Систем органа за дисање PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> , mmHg	≥ 400	< 400	< 300	< 200 са респираторном подршком	< 100 са респираторном подршком
Коагулација Тромбоцити, x10 <sup>9</sup> /l	≥ 150	< 150	< 100	< 50	< 20
Хепато-билијарни систем Билирубин, mg/dl(μmol/l)	< 1,2 (20)	1,2-1,9 (20-32)	2,0-5,9 (33-101)	6,0-11,9 (102-204)	>12,0 (204)
Кардио-васкуларни Хипотензија (mmhg)	MAP≥70	MAP<70	DOP<5 или DOBT (било која доза)	DOP 5,1-15 или ARD≤0,1 или NORAD≤0,1	DOP>15 или ADR> 0,1или NORAD>0,1
Центални нервни систем GCS	15	13-14	10-12	6-9	< 6
Уринарни Креатинин, mg/dl(μmol/l)n	<1,2 (110)	1,2-1,9 (110-170)	2,0 - 3,4 (171-299)	3,5-4,9 (300-440)	>5,0 (440)
				<500	<200

Нова дефиниција септичког шока подразумева истовремено постојање хипотензије, која захева примену вазопресора у сврху одржања средњег артеријског притиска (MAP) > 65 mmHg и одржавање серумског лактата > 2 mmol/l, упркос адекватној надокнади волумена (15).

Нова дефиниција сепсе предлаже q SOFA скор (quick Sequential Organ Failure Assessment), у циљу што раније идентификације болесника са ризиком од инфекције са потенцијално лошим исходом (табела 4). Присуство више од два q SOFA параметра не представља довољан критеријум за дијагнозу сепсе, која се поставља након проширеног скоровања SOFA скором у јединицама интензивног лечења (20).

Табела 4: qSOFA критеријуми. Прилагођено према Singer et al.

Критеријуми за q SOFA	
Фреквенција дисања	Тахипнеја (≥22/мин)
Стање свести	Измењен ментални статус
Систолни крвни притисак	Хипотензија (≤ 100 mmHg)

### 1.3. Дефиниција тешке трауме

Траума је водећи узрок морталитета код особа млађих од 45 година. Траума означава повреду која одражава структурни поремаћај или физиолошки несклад настао услед примарне изложености људског организма механичкој, термичкој, електричној, радијационој или хемијској нокси, односно траума је последица размене енергије људског тела и штетних чинилаца који доводе до повређивања (21).

Политраума је дефинисана као тешка повреда два или више органа или органских система, од којих минимално једна директно угрожава живот.

Употреба система за скоровање у трауми служи објективизацији стања пацијената на пријему и у току лечења. Сви скор системи који се користе у трауми су подељени на анатомске, физиолошке и комбиноване.

Бејкер је 1974. године објавио анатомски скор тежине повреда који описује тежину повреда за пацијенте са мултиплом траумом (табела 6). За његово одређивање користи се AIS (Abbreviated Injury Scale) скор-скраћена скала повреде, тако што се свакој повреди у одређеном региону тела додељује категорија из AIS (табела 5), затим се три најдоминантније повреде из било ког региона степенују на квадрат, па се добијене вредности сабирају.

Табела 5. Категорије скраћене скале повреда AIS

Категорија	Опис
1	Лака повреда
2	Умерена повреда
3	Средње тешка повреда
4	Тешка повреда
5	Повреда опасна по живот
6	Смртна повреда

Вредности ISS (Injury Severity Score) скорa могу бити од 0 до 75. Ако нека повреда у AIS има скор 6, онда ISS аутоматски износи 75 и та вредност означава 100% летални исход. Повређени са најтежим повредама се бодују са 75. Када је вредност ISS скорa < 32 повређени може да преживи трауму, а вредност ISS скорa > 40 означава малу вероватноћу преживљавања.

Тешка траума је дефинисана као комплексна (вишеструка) повреда која има више од 18 бодова.

Табела 6. Рачунање ISS скорa (пример)

AIS-скраћена скала повреде; ISS-скор тежине повреде

Регион тела	Опис повреда	AIS	Три најтеже повреде
Глава и врат	Контузија мозга	3	9
Лице	Без повреда	0	
Грудни кош	Торакални капак	4	16
Абдомен	Контузија јетре	2	25
	Руптура слезине	5	
Екстремитети	Фрактура фемура	3	
Површне структуре	Без повреде	0	
			<b>ISS=50</b>

#### 1.4. Патопфизиологија сепсе и акутне дисфункције органа

Пре развоја SIRS-а или MODS-а постоји неки инсулт као што је инфекција, траума, опекотине или панкреатитис, који поспешује ослобађање читавог низа медијатора у микросредину. Бактерије поседују факторе вируленције који доприносе успостављању инфекције и донекле одређују њену тежину. Оне производе бројне протеине који им омогућавају да успоставе језгро инфекције и да дисеминују. Започињање системског инфламаторног одговора подразумева интеракцију „стране“ супстанце са протеинима и рецепторима на површини ћелија организма. Инфламацију могу активирати липополисахарид (LPS), липополисахарид везујући протеин (LBP), CD<sub>14</sub> и систем комплемента (22).

Грам-негативне бактерије индукују проинфламаторне ефекте преко Toll-like рецептора (TLR)-4, а Грам-позитивне бактерије испољавају сличне ефекте преко TLR-2 рецептора. Код Грам-негативне инфекције, део LPS-а везује се за моноците и друге типове ћелија преко CD<sub>14</sub> рецептора. На почетку Грам-негативне сепсе количина LPS-а се повећава 100 пута у року од 24 часа од ослобађања ендотоксина у циркулацију и тада се ствара LPS-LBP комплекс. Овај комплекс се везује за CD<sub>14</sub> рецепторе који се налазе на макрофагима/моноцитима. Тек након таквог везивања ове ћелије су способне за синтезу проксималних медијатора TNF- $\alpha$  и IL-1. Ендотоксин је тригер за ослобађање медијатора TNF- $\alpha$  и IL-1 који представљају главне проинфламаторне медијаторе инфламаторне каскаде у развоју MODS-а под чијим утицајем настаје ослобађање свих других медијатора (23).

Ендотоксин утиче на различите протеине у плазми и тако доводи до поремећаја коагулације и фибринолизе и изазива дифузне микроваскуларне тромбозе. Коагулација, комплемент, контактни и фибринолитички системи су активирани преко фактора XII. Активација кининског система доводи до продукције брадикинина, снажног вазодилататора који такође повећава васкуларну пермеабилност. Активација комплемента повећава пермеабилност ендотела, експресију ктивних фактора и микроваскуларну тромбозу, која је узрок фокалних морфолошких промена у органима

у мултиорганској дисфункцији. Ендотоксемија може да се јави и у одсуству Грам-негативне бактеријемеије и код пацијената са Грам-позитивном сепсом и много је чешћа код критично оболелих, него документована инфекција. Постоји слаба корелација између ендотоксемије и позитивних хемокултура (24).

Грам-позитивне бактерије најчешће изазивају сепсу у одсуству ендотоксина, као резултат деловања читаве бактерије или компонената ћелијског зида укључујући пептидогликане, теихноичну и липотеихноичну киселину. Ове компоненте ћелијског зида су тригер за ослобађање цитокина, генерисање комплемента, агрегацију тромбоцита, активацију коагулације и повећање пермеабилности ћелијске мембране.

Инфламаторни одговор на инфекцију активно могу модулирати и сами инфективни агенси. Микроорганизми производе протеине који активно модулирају мреже цитокина. Такви молекули називају се „микрокини“ или „бактериокини“. Модулација имунског одговора микрокинима обухвата механизме као што су појачавање или супресија медијатора или њихових продуката, деградација медијатора или индукција ослобађања медијаторског рецептора.

Морбидитет код бактеријских инфекција је најчешће последица ефекта активације инфламаторног одговора или индукције интраваскуларне коагулације у нападнутом организму. Међутим, бактеријски продукти могу бити директно цитотоксични, мењајући фундаменталне ћелијске процесе или индукујући апоптозу (програмирану ћелијску смрт) неутрофила и епителних ћелија (22).

Ако микроорганизми пролиферишу у језгру инфекције, њихови метаболички и разградни продукти, као и читав низ инфламаторних медијатора као што су леукотријени, компоненте комплемента, цитокини и комплекси антиген-антитело привући ће неутрофиле у то подручје. Када се нађу у фокусу инфламације леукоцити препознају опсонизоване бактерије. Уништавање микроба је резултат продукције високо токсичних и нестабилних молекуларних деривата кисеоника путем респираторног праска и ослобађања различитих бактерицидних супстанци из лизозомалних гранула у фагоцитне вакуоле. Овај процес је праћен локалним ослобађањем низа цитокина из макрофага унутар инфламаторног фокуса. Иницијални одговор организма је индукција проинфламаторног стања у коме медијатори имају вишеструке преклапајуће ефекте са циљем да лимитирају ново оштећење и да ублаже оштећење које се већ догодило. Они уништавају оштећено ткиво, поспешују раст новог ткива и боре се против патогених микроорганизама, неопластичних ћелија и страних антигена (22).

Компензаторни антиинфламаторни одговор врло брзо треба да обезбеди да ефекти ових проинфламаторних медијатора не постану деструктивни. IL-33, IL-31, IL-27, IL-13, IL-10 и IL-4 оштећују антиген презентујућу активност и редукују способност ћелија да производе проинфламаторне цитокине. Ако је иницијални инсулт довољно снажан, прво проинфламаторни, а касније и антиинфламаторни медијатори ће се појавити у системској циркулацији. Присуство проинфламаторних медијатора у циркулацији је део нормалног одговора на инфекцију и служи као сигнал упозорења да микросредина не може да контролише иницијални инсулт. Проинфламаторни медијатори регрутују неутрофиле, Т и В ћелије, тромбоците и факторе коагулације у поље трауме или инфекције. Ова каскада стимулише компензаторни системски антиинфламаторни одговор, који брзо смањује иницијални проинфламаторни одговор. У овој фази постоји мало или нимало, значајних клиничких знакова или симптома. Значајна за ову фазу је фебрилна реакција. Органи могу бити захваћени инфламаторном каскадом, али сигнификантна органска дисфункција је ретка.

Губитак регулације проинфламаторног одговора резултује масивном реакцијом проинфламаторних цитокина, који су продрли у циркулацију, а која се клинички

манifestује као SIRS. У основи оваквог клиничког налаза су патофизиолошке промене које укључују:

- прогресивну дисфункцију ендотела, која доводи до повећане микроваскуларне пермеабилности,
- агрегацију тромбоцита који блокирају микроциркулацију, проузрокујући малдистрибуцију крвног протока и могућу исхемију са каснијим реперфузионим оштећењем,
- активацију система коагулације и оштећење протеин С-протеин S инхибиторног пута,
- екстремну вазодилатацију, трансудацију течности и малдистрибуцију крвног протока што резултује шоком.

Дисфункција и коначно инсуфицијенција органа је резултат ових промена, уколико се брзо не успостави хомеостаза.

Сепса се сматра резултатом екстензивног активирања одбрамбених механизма организма након инвазије микроба и њихових продуката. Ендотел има кључну улогу у патогенези сепсе и MODS-а, не само због тога што могу утицати на инфламаторну каскаду, већ и због тога што, након интеракције са експресивним количинама инфламаторних медијатора, функција ових ћелија може бити оштећена. Због тога се може сматрати да је дисфункција ендотела кључни догађај у патогенези сепсе. Овом дисфункцијом се може објаснити највећи део клиничких манифестација и компликација сепсе (25).

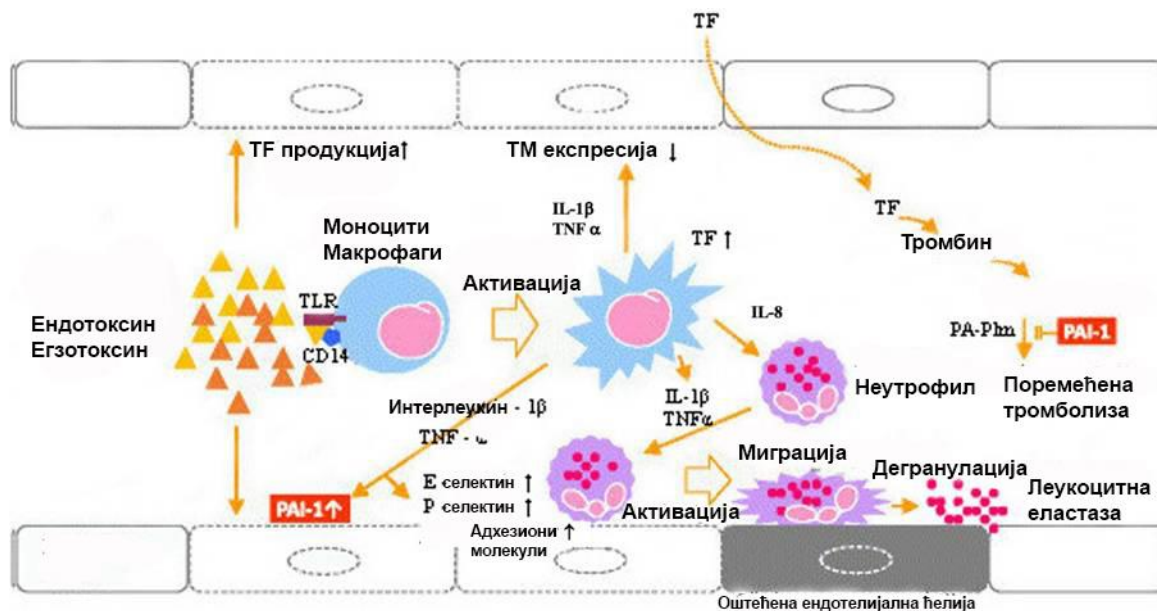
Ендотел производи бројне вазоактивне супстанце које регулишу тонус артериола и због тога имају велики утицај на крвни притисак. Ове супстанце могу бити вазодилаторне, као што су азот-моноксид и простаглицин или вазоконстрикторне, као што су ендотелини. Ендотел такође производи адхезивне молекуле који играју кључну улогу у везивању леукоцита за ендотел. Када се леукоцити вежу за ендотел, долази до њихове активације или трансендотелне миграције.

Механизам који може проузроковати тешко оштећење ендотела јесте исхемија/реперфузија. Смањење интрацелуларног аденозин-трифосфата само по себи је довољно да индукује апоптозу или чак некрозу ћелија. Смањење АТФ-а такође резултује променама у мембрани због тога што фосфолипидна асиметрија нормалне ћелијске мембране захтева енергију, а у исхемији енергије нема. Неколико механизма још доприноси оштећењу ендотела у сепси. Активирани неутрофили који су се адхерирали на површину ендотелних ћелија преко адхезивних молекула имају могућност да оштете ендотелне ћелије продукцијом кисеоничних радикала и протеиназа као што је еластаза. Цитокини, могу сами по себи индуковати апоптозу ендотелних ћелија. Цитокинима активисане ћелије природне убице, могу се адхерирати за ендотел и оштетити га, што резултује повећаном пермеабилношћу. Формира се континуирано „пропуштање“ кроз ендотел, што као импликацију има снижен крвни притисак, хемоконцентрацију, екстравазацију макромолекула и оток интерстицијума. Афункционалан ендотел омогућава патогенима и њиховим продуктима континуирани продор у ткива домаћина, што се клинички манифестује синдромом мултипле органске дисфункције.



Шематски приказ дисфункције ендотела у сепси приказан је на слици 4.

Слика 4- Дисфункција ендотела у сепси (кориговано и адаптирани према Madoiwa S. Intensive Care 2015)

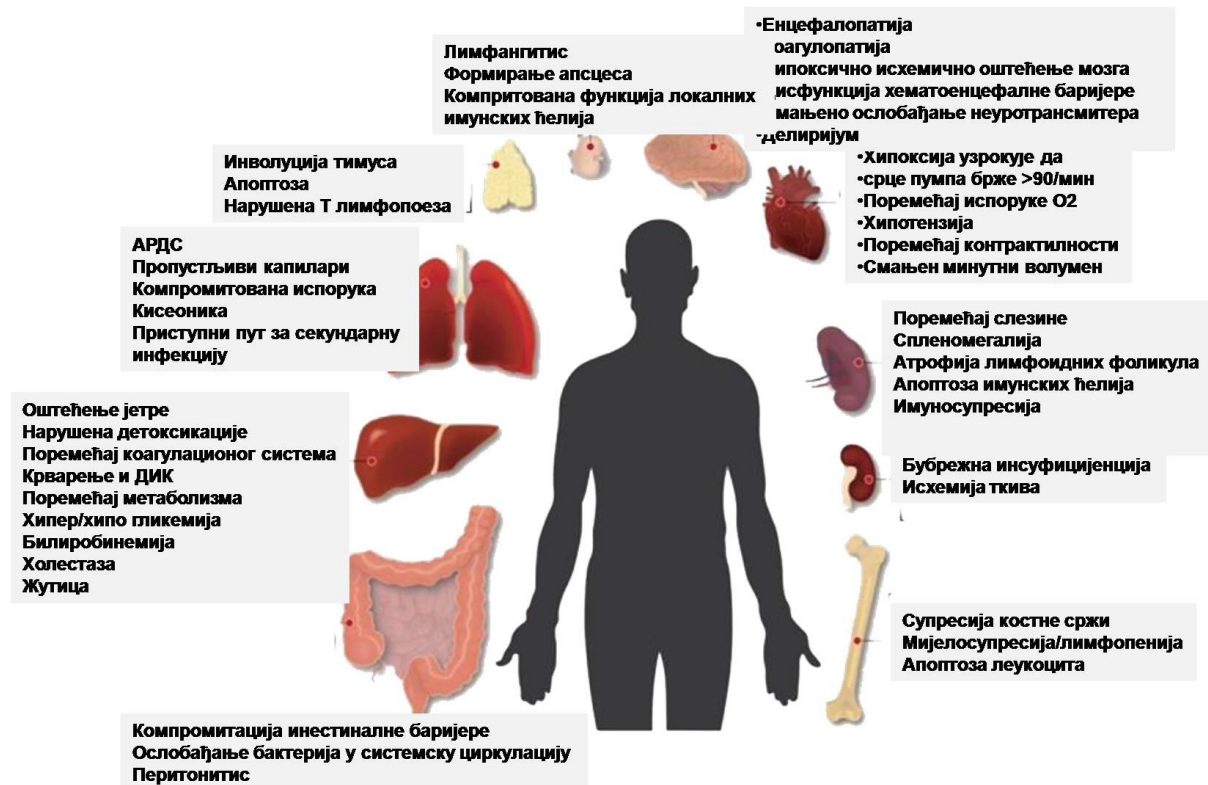


Каскада проинфламаторних медијатора је нормално праћена локалном или системском појавом антиинфламаторних цитокина. Ови имуномодулатори брзо сузбијају секрецију проинфламаторних цитокина и знаци и симптоми се ублажавају без дисфункције органа. Ако је компензаторна антиинфламаторна реакција довољно снажна, то ће се клинички манифестовати као анергија или повећана осетљивост на инфекцију или обоје. Интеракција између проинфламаторних и антиинфламаторних медијатора може се посматрати као битка између супротних сила које су често у дисбалансу. Ови медијатори интерреагују иницијално у микросредини. Ако медијатори балансирају једни друге успостави се хомеостаза. Ако се хомеостаза не успостави, проинфламаторни и антиинфламаторни медијатори се могу наћи у системској циркулацији. Ако се баланс не успостави и нема хомеостазе, долази до масивне проинфламаторне реакције (SIRS) или антиинфламаторне реакције (CARS) (22).

Последњи стадијум у развоју сепсе и мултиорганске дистункције дефинисан је као неадекватан одговор имуномодулаторног система који је у дисбалансу, и назван је имунска дисонанца (26). Дефинисан је као неадекватан одговор имуномодулаторног система који је у дисбалансу. Код болесника са SIRS-ом и MODS-ом резултат је перзистентне, масивне инфламације са увећаним ризиком од смртог исхода. Код болесника са перзистентном имунском супресијом узрок дисфункције органа може бити инхибиција синтезе проинфламаторних агенаса неопходних да се органима омогући опоравак. Перзистентно високе концентрације антиинфламаторних медијатора предиктор су лошег исхода, исто као што су перзистентно високе концентрације проинфламаторних медијатора повезане са повећаним ризиком од смртог исхода (22). Код болесника са имунском дисонанцом могуће је успоставити функцију органа уколико организам може да поврати сопствену равнотежу. Имуноинфламаторни одговор у сепси веома је комплексан, па осим на временски догађај,

најновије студије су се усмериле и на орган-специфични имунски одговор. Хетерогеност и атипичност сепсе у појединим органима, са поремећеним коагулационим системом, инфламацијом и имуносупресијом, приказана је сликом 5.

Слика 5 – MODS у сепси (адаптирано и кориговано према Nedeva et al. : inflammation is a Necessary Evil. Front Cell Dev Biol 2019.)



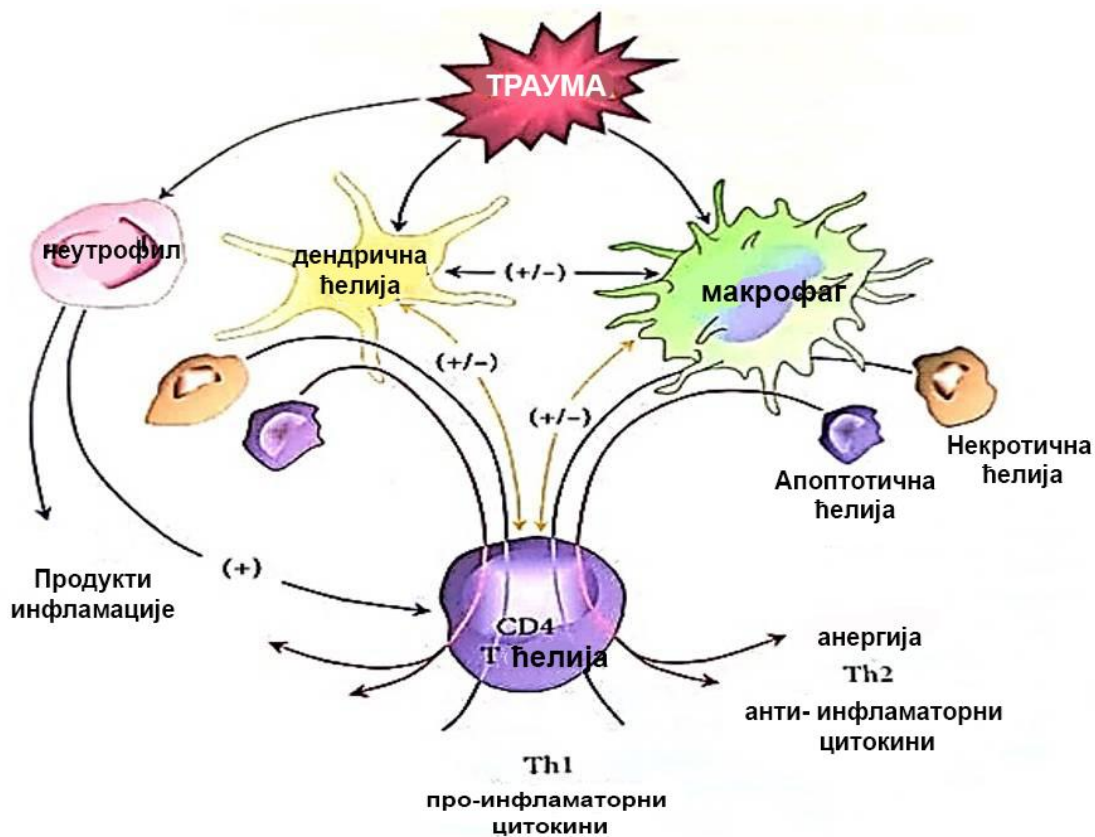
### 1.5. Имунски одговор на трауму

Имунски систем детектује повреду на неколико начина: преко имунских сигнала из ране; преко ноцицепторима индукване активације симпатикуса и последичне стимулације имуноског ткива; преко неуроендокрине осовине која емитује антиинфламаторне сигнале. Синхронизација инфламаторног са имунским одговором на трауму умногоме зависи од интеракције солубилних протеина између ћелија, а који се генерички зову цитокини, и обухватају хемокине, интерлеукине, факторе раста и интерфероне.

Стрес, индукван траумом путем неурохуморалних сигнала, производња протеина акутне фазе у јетри и активација комплемента утичу на имунску регулацију која мења понашање имунских ћелија. После иницијалне про-инфламаторне фазе, код повређених често долази до имуносупресије. Неколико термина описује то стање: моноцитна анергија, деактивација, репрограмирање. У том стању, повређени су подложни секундарним инфекцијама које су опасне по живот (21).

Одговор организма на инсулт укључује укрштање сигнала између многих имунских ћелија, укључујући макрофаге, дендритске ћелије и CD4 Т лимфоците. Макрофаги и дендритске ћелије се активирају ингестијом изумрлих ћелија и стимулацијом преко цитокина које лаче CD4 Т лимфоцити. Алтернативно CD4 Т лимфоцити анти-инфламаторног профила (Th2 ћелије) производе IL-10 који супримира активност макрофага. CD4 Т ћелије се активирају стимулацијом од стране макрофага и дендритских ћелија. Макрофаги и дендритске ћелије лаче IL-12, који активира CD4 Т ћелије које онда продукују про-инфламаторне (Th1 ћелије) цитокине. У зависности од бројних фактора (врста и место инсульта, присуство микроорганизама), макрофаги и дендритске ћелије ће одговарати индукцијом про- и анти-инфламаторних цитокина или ће редуковати синтезу цитокина (анергија). Макрофаги и дендритске ћелије које су предходно ингестијом унеле некротичне ћелије, индуковаће проинфламаторни профил цитокина (Th1). Ингестија апоптотичних ћелија може индуковати или анти-инфламаторни профил цитокина (Th2) или анергију ( слика 6).

Слика 6 - Индукција проинфламаторног и антиинфламаторног одговора



Имуно-инфламаторни одговор је фундаменталан за оздрављење ткива и резолуцију болести, међутим може се десити да неконтролисаним модалитетом узрокује повреду организма. Наглашена синергија и интеракција компонената имунског система диктирају да модулација може резултовати или имуностимулацијом или имуносупресијом (21).

## 1.6. Цитокини

Цитокини су солубилни протеини који делују као посредници имунских и инфламаторних реакција и носиоци су међусобне комуникације леукоцита, као и комуникације леукоцита и других ћелија. Цитокини су интерцелуларни гласници који модулирају многе биолошке одговоре и делују на различите типове ћелија (плеиотропизам-један цитокин има ефекте на различите ћелије), такође показују феномен редунданце, тј. преклапања (више цитокина има исти ефекат). То су нискомолекуларни секретовани протеини који уређују јачину и трајање имуноинфламаторног одговора. Имају променљив утицај и мале су молекулске масе – између 8 и 30 Kd. У урођеној имуности, главни извори цитокина су мастоцити, дендритске ћелије и макрофаги активирани препознавањем микроорганизама, мада епителне и други типови ћелија такође секретују цитокине. У адаптивној имуности главни извор цитокина су помоћнички Т-лимфоцити (27).

Цитокини су високо активни при врло ниским концентрацијама (пикомоларним и мањим), као лиганди се везују за ћелијске површинске рецепторе високог афинитета, производе промене у транскрипцији RNK и синтези протеина. Секретују се у малим количинама у одговору на спољашње стимулусе и везују за високоафинитетне рецепторе на ћелијама на које делују. Највећи број цитокина остварује дејство на исте ћелије које их и производе (аутокринно дејство), потом на оближње ћелије (паракрино дејство) или делују на места која су удаљена од места примарне секреције (ендокрино дејство).

Цитокини нису класични ендокрини хормони, већ се од њих разликују у следећем:

- секретују их различите ћелије, али не и органи,
- првенствено се секретују *de novo*, као одговор на стимулус,
- није доказана њихова значајна улога у нормалној хомеостази,
- индукују се у одговору на спољашње, а не на унутрашње стимулусе,
- поседују аутокринна и паракрина дејства.

Биолошке активности цитокина одвијају се преко интеракције са специфичним ћелијским рецепторима. Идентификовани су солубилни цитокински рецептори који се такмиче са мембрански везаним рецепторима и тако регулишу цитокинске сигнале.

Цитокине не треба сматрати кључним стимулаторима или инхибиторима раста, нити им је дејство искључиво проинфламаторно или антиинфламаторно. Њихови примарни ефекти зависе од надражаја, врсте ћелија и постојања осталих посредника и рецептора. Тип и број рецептора на ћелијској површини одређују способност интерлеукина да контролише функције ћелије (27). Биолошке активности цитокина се одвијају преко интеракције са специфичним ћелијским рецепторима. Идентификовани су солубилни цитокински рецептори

## 1.7. Проинфламаторни цитокини у сепси

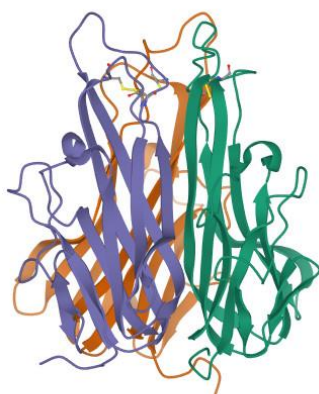
### 1.7.1. Фактор некрозе тумора- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )

Фактор некрозе тумора- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), проинфламаторни цитокин, један је од најважнијих медијатора у сепси. TNF- $\alpha$  производе различити типови ћелија као што су Купферове ћелије, моноцити, макрофаги, неутрофили, лимфоцити, мастоцити, NK ћелије (natural killer cells), ендотелне ћелије, кератиноцити, глатке мишићне ћелије и астроцити (27).

По својој структури TNF- $\alpha$  се примарно производи као трансмембрански протеин дугог ланца тип II од 233 аминокиселине, који обликује чврсте хомомере (28). Из овог облика инкорпорираног у мембрану, растворени цитокин се ослобађа путем ензимског откидања металопротеазама TNF-алфа трансформишућим ензимима (TACE) (29).

TNF- $\alpha$  је синтетисан у форми пропептида (pro-TNF) величине 26 Kd, од кога настаје хетеротримерни протеин молекулске масе 17 kD (30). Зрели TNF- $\alpha$  молекули сачињени су од три таква пептида (слика 7).

Слика 7– Фактор некрозе тумора алфа. Преузето из банке података о протеинима. ПДБ1А8М



Дејства TNF- $\alpha$  су: активација неутрофила, стимулација макрофага, стимулација пролиферације ендотелних ћелија, директна токсичност усмерена на ендотелне ћелије, индукција експресије MHC I, повећање микроваскуларне пермеабилности, изазивање хипотензије, стимулација ангиогенезе, индукција интраваскуларне коагулације, оштећење мукозе црева, смањење гастроинтестиналног протока крви, смањење активности липопротеин липазе, индукција анорексије, хипергликемије и грознице.

TNF- $\alpha$  може руководити одговором других цитокина и може имати директно дејство на целуларном нивоу различитих система органа. То је главни цитокин који се ослобађа дејством ендотоксина на моноците/макрофаге. TNF- $\alpha$  је централни регулатор интеракције између цитокина (22,31).

Главни ћелијски извор TNF- $\alpha$  је активисани мононуклеарни фагоцит. Експресија TNF- $\alpha$  је повећана преко IFN- $\gamma$  којег производе T ћелије, а TNF- $\alpha$  стимулише Th1 ћелијски одговор. Тако је TNF- $\alpha$  медијатор и урођене и стечене имуности и представља важну везу између специфичног имунског одговора и акутне инфламације. При релативно ниским концентрацијама TNF- $\alpha$  доводи до експресије адхезивних молекула (E

селектин и интегрини) на васкуларним ендотелним ћелијама што ендотелну површину чини адхезивнијом за леукоците. TNF- $\alpha$  стимулише мононуклеарне фагоците и друге типове ћелија да секретују хемокине и тако доприноси акумулацији леукоцита и активацији неутрофила и фагоцита (27).

TNF- $\alpha$  директно утиче на многе органске системе. У васкуларном систему, TNF- $\alpha$  стимулише и инхибира различите активности ендотелних ћелија: индукује пролиферацију ендотелних ћелија и секрецију IL-1 $\beta$ , међутим, такође директно токсично делује на васкуларне ендотелне ћелије. Комплексним путем TNF- $\alpha$  изазива вазодилатацију и хипотензију током инфламаторног одговора. Плућно васкуларно корито постаје нарочито пермеабилно што доводи до интерстицијалног едема. У паренхиму плућа TNF- $\alpha$  доводи до акумулације неутрофила.

TNF- $\alpha$  индукује анорексију својим утицајем на интестинални проток крви, инхибира пражњење желуца и изазива оштећење мукозе црева. Он је потентан анорексички агенс и због тога што делује директно на хипоталамус преко неуропептида. Инхибира метаболизам липида смањењем активности липопротеин-липазе, блокира синтезу масних киселина. Производња и секреција глукозе путем гликогенолизе су повећане, а расте и ниво млечне киселине.

У сепси, TNF- $\alpha$  директно утиче на коагулациони систем и хипоталамус. Коагулациони систем се мења тако што долази до повећања активности ткивног фактора (TF) и смањења активности тромбомодулина и протеина С. Даљи поремећаји посредовани TNF-ом обухватају фибринолизу смањењем активности ткивног активатора плазминогена (tPA) и повећањем активности инхибитора активације плазминогена и (PAI-I). Директно дејство TNF- $\alpha$  на хипоталамус доводи до грознице. Дакле, TNF- $\alpha$  је ендогени пироген, стимулише синтезу простагландина и NO и индукује грозницу или директно или преко секундарне продукције IL-1 и IL-6. Ова три цитокина делују на хепатоците тако да повећавају синтезу протеина акутне фазе (С реактивни протеин,  $\alpha_1$ -антитрипсин, хаптоглобин). Симултано, они смањују експресију албумина, примарног секреторног протеинског продукта јетре код здравих људи и повећавају синтезу триглицерида у јетри. TNF- $\alpha$  блокира еритропоезу и повећава уклањање еритроцита из крвотока (32).

TNF- $\alpha$  и TNF- $\beta$  имају опсежан распон сличних ефеката. Имају централну улогу у иницијацији каскаде других цитокина и фактора који чине имунски одговор на инфекцију. Широки низ ефеката се приписује убиквитарности њихових рецептора, њиховој способности да активирају мултипле сигналне трансдукционе путеве и њиховој способности да индукују или супримирају палету гена укључујући оне за факторе раста, цитокине, транскрипционе факторе, рецепторе и протеине акутне фазе (33).

Постоје два типа TNF рецептора која се налазе у већини ћелија: тип I (TNF-R55) и тип II (TNF-R75). Сва биолошка дејства приписују се TNF-R75, али се такође могу испољити и преко TNF-R55, али обично при много мањој густини рецептора. Оба типа рецептора могу активирати сфингомијелиназу са стварањем церамида и активацијом NB-K $\beta$ , али је само TNF-R55 одговоран за цитотоксичност и експресију адхезивних молекула на ендотелним ћелијама. TNF-R55 има цитосолни „домен смрти" повезан са путем који води у апоптозу, а TNF-R75 нема. Овај „домен смрти" активира протеин

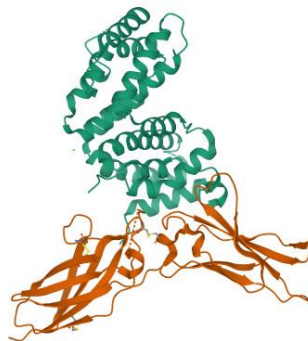
који се назива MORT-1. У овај процес је такође укључена и фамилија интрацелуларних протеина која се активира; ови протеини се називају TNFR-асоцирани фактори. До сада их је описано осам. TNF-R55 цитосолни домени такође активирају фамилију интрацелуларних протеина који се називају TNFR-асоцирани домени смрти (TRADD). Претерана експресија TRADD доводи до смрти ћелије. Такође доводи до транслокације NF- $\kappa$ B у нуклеус. TRADD доводи до активације фамилије каспаза, интрацелуларних цистеинских протеаза. Иако је каспаза-1 важна у процесирању прекурсора за proIL-1 $\beta$  и proIL-1 $\alpha$ , други чланови ове фамилије су такође део TNF сигналног пута ћелијске смрти (33).

### 1.7.2. Интерферон- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )

(IFN- $\gamma$ ) је симетрични хомодимерни цитокин, једини члан типа II-класе интерферона. IFN- $\gamma$  мономер је састављен од базе са шест  $\alpha$ -хеликса и надограђене несавијене компоненте у C-терминалном сектору (34).

Комплекс између једноланчане варијанте IFN- $\gamma$  и његовог рецептора приказан је на слици 8.

Слика 8 – Комплекс између једноланчане варијанте интерферон гама и његовог рецептора. Преузето из банке података о протеинима. ПДБ 1FYH



IFN- $\gamma$  производе Т ћелије и NK ћелије (35). Индуктори овог медијатора су TNF, IL-1 и IL-12. Дејства IFN- $\gamma$  обухватају активацију В ћелија, полиморфонуклеара и макрофага; модулирање секреције инфламаторних цитокина и повећање продукције адхезивних молекула. Овај медијатор има пирогена, цитотоксична, антивирусна и антитуморска дејства.

IFN- $\gamma$  је Т-ћелијски лимфокин који има имуномодулаторне ефекте на неколико ћелијских типова. Продукцију ових молекула индукују вируси, бактеријски анигени, IL-2, TNF- $\alpha$ , IL-12 и IL-1. IFN- $\gamma$  помаже активацију В ћелија и повећава производњу антитела. Полиморфонуклеари се активирају, акумулирају и имају појачану фагоцитну активност после излагања дејству IFN- $\gamma$ . IFN- $\gamma$  такође активира моноците и макрофаге и повећава ослобађање проинфламаторних цитокина из њих. Такође, појачава експресију TNF- $\alpha$  рецептора на макрофагима, адхезивност између моноцита и

ендотелних ћелија, производњу адхезивних молекула на леукоцитима и ендотелним ћелијама (22).

IFN- $\gamma$  је потентан активатор мононуклеара и повећава експресију класе I и II MHC молекула. У том смислу има важну улогу у урођеној имуности. Међутим, IFN- $\gamma$  такође делује на Т лимфоците усмеравајући њихову диференцијацију у Th1 ћелије, активира NK ћелије. Ендотелне ћелије испољавају значајне морфолошке промене после излагања дејству IFN- $\gamma$ . Овај лимфокин повећава ослобађање IL-1 и IL-6, и може деловати синергистички са IL-2 да се тако повећа ослобађање TNF- $\alpha$ .

Неколико студија је показало да IFN- $\gamma$  подстиче проинфламаторни одговор током септичког шока (36). Потребна су даља истраживања улоге IFN- $\gamma$  у секундарној сепси.

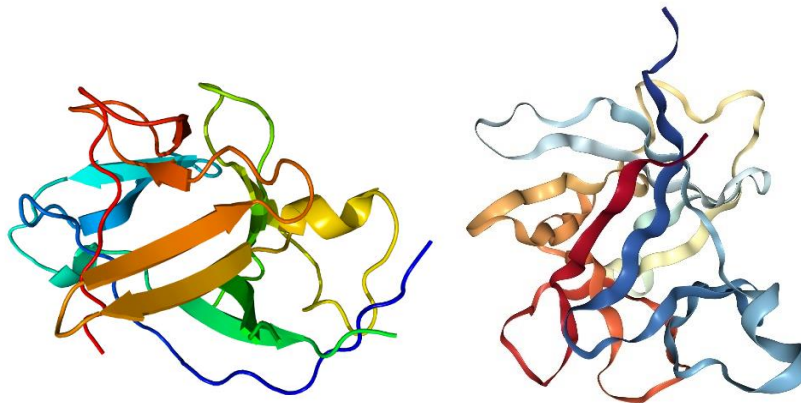
### 1.7.3. Интерлеукин 1 (IL-1 $\alpha$ и IL-1 $\beta$ )

Интерлеукин 1 (IL-1) постоји у два облика, IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$ . Оба имају молекуларну тежину од 175 kD, агонисти су и експримирају се у више ћелијских линија укључујући моноците, макрофаге, неутрофиле, хепатоците и ткивне макрофаге у целом телу (37).

Кристалне структуре IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  приказане су на слици 9а. и 9б.

Слика 9- а. и б. Кристална структура IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$ .

Преузето из: а. банке података о протеинима. ПДБ 2ILA и б. са Sinobiological.com



IL-1 производе моноцити/макрофаги, Т-ћелије и NK-ћелије (ћелије природне убице). Индуктори овог медијатора су GM-CSF, PAF, TGF- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , C5a (систем комплемента), M-CSF, TNF и теихноична киселина (компонента ћелијског зида Грам-позитивних бактерија). Инхибитори су IL-1, IL-10, IL-4, IL-13, IFN- $\gamma$  и PGE $_2$ . IL-1 индукује IL-8, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , PAF, IL-6, моноцитни инхибиторни протеин (MIP)-1, еикосаноиде. IL-1 утиче на готово све ћелије и органе и главни је медијатор аутоинфламаторних, аутоимуних, инфективних и дегенеративних болести (38,39). Његова дејства су: стимулација пролиферације ћелија, активирање мирујућих Т ћелија, појачавање цитотоксичности TNF, подржавање пролиферације В ћелија, подржавање продукције



антитела од стране В ћелија, поспешивање адхеренције ћелија, појачавање експресије адхезивних молекула на ендотелу, стварање прокоагулантног стања, изазивање хипотензије, активирање одговора акутне фазе (преко ИЛ-6), изазивање грознице и губитка телесне масе.

ИЛ-1 производе мононуклеарне ћелије, али га могу производити и све друге ћелије које имају једро, у одговору на повреду. Многа дејства су му слична и синергистичка са TNF- $\alpha$ . ИЛ-1 потпомаже мобилизацију имунског система у одговору на инфламацију. Активира и стимулише пролиферацију и сазревање лимфоцита, полиморфонуклеара и мононуклеара који потом ослобађају цитокине. Подстиче адхеренцију леукоцита за ендотелне ћелије повећавањем експресије адхезивних молекула на ендотелним ћелијама.

Активација ИЛ-1 у сепси резултује прокоагулантним стањем индуковањем синтезе TF и PAI-1 док се смањује секреција тромбомодулина. Додатни ефекти ИЛ-1 обухватају грозницу (директна стимулација хипоталамуса), хипотензију, натриурезу, анорексију, одговор акутне фазе (преко ИЛ-6), супресију активности липопротеин-липазе и стимулацију ослобађања адренкортикотропног хормона (АСТН) (40).

Кинетика ИЛ-1 може бити релевантна у смислу терапијске модулације цитокина у сепси. На анималним моделима и код људи утврђено је да се у бактеријемiji или ендотоксемији јавља брз пораст TNF- $\alpha$  са максималним вредностима у току 60 до 90 минута, што је праћено одложеним порастом нивоа ИЛ-1, који достиже максималне вредности у току 180 минута. TNF- $\alpha$  индукује ИЛ-1 *in vivo*. Наведене чињенице су битне за било какав покушај лечења сепсе модулирањем активности цитокина.

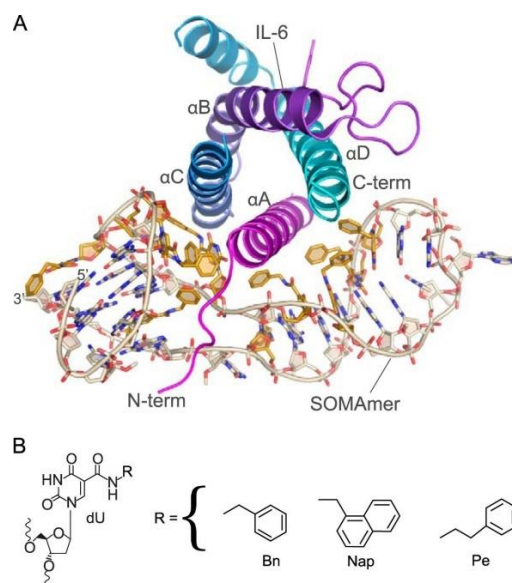
Иако су рецептори за TNF- $\alpha$  и ИЛ-1 различити, пострецепторски догађаји су запањујуће слични. Међутим, постоје и разлике у њиховом деловању. Ако се посматра иста ћелија и исти спектар активираних гена, ИЛ-1 неће довести до програмиране ћелијске смрти ћелије док TNF- $\alpha$  хоће. Цитосолни домен TNF p55 рецептора садржи „домен смрти“ који регрутује интрацелуларне молекуле укључене у иницијацију апоптозе. Нема компатибилног домена смрти у цитоплазматским доменима ИЛ-1RtI, ни код ИЛ-1R акцесорног протеина (ИЛ-1R-AsP).

#### 1.7.4. Интерлеукин 6 ( ИЛ-6)

ИЛ-6 је плеотропни медијатор са широким спектром биолошких активности. По структури је гликопротеин који се састоји од 184 аминокиселине, молекулске масе 21 Kd (слика 10).

Више типова ћелија укључујући фибробласте, кератиноците, мастоците, макрофаге, дендритске ћелије, васкуларне ендотелне ћелије и Т и Б ћелије су повезане са производњом овог цитокина, (41) као одговор на стимулацију ЛПС-ом, ИЛ-1 и TNF- $\alpha$  (42).

Слика 10- Кристална структура интерлеукина 6. Преузето са Journal of Biological chemistry.



Његова производња је врло брзо индукована у току акутне инфламаторне реакције повезане са инфекцијом, повредом и траумом (43).

IL-6 има мноштво биолошких ефеката, укључујући контролу диференцијације моноцита у макрофаге регулацијом експресије фактора стимулације колонија макрофага (44), активацију Б и Т лимфоцита и коагулационог система, подстиче сазревање мегакариоцита, стимулише хепатоците, подстиче стварање имуноглобулина од активираних Б лимфоцита и модулацију хематопоезе (45). Учествује у стварању тромбогених фрагмената вон Вилебрандовога фактора. Инхибира цепање протеаза плазме, повећавајући додатно концентрацију ових фрагмената у плазми.

IL-6 је одговоран за индукцију грознице (46), активирање одговора акутне фазе, дејство на хепатоците тако да повећају синтезу протеина акутне фазе (С реактивни протеин,  $\alpha$ 1-антитрипсин, хаптоглобин, компоненте комплемента, фибриноген и феритин) (47). Све ове активности контролише ген, који је смештен на кратком краку хромозома 7. Своје биолошке ефекте IL-6 остварује путем мембранских рецептора за IL-6, који се налазе на различитим типовима ћелија, као што су лимфоцити, неутрофили, моноцити, макрофаги, хепатоцити.

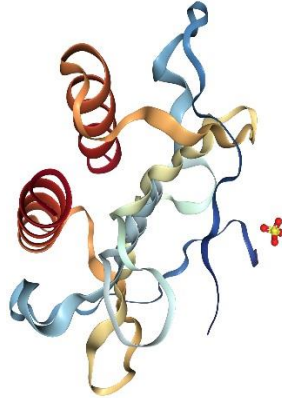
IL-6 је важан медијатор током акутне фазе одговора на инфламацију у сепси, а његова клиничка вредност је процењена код пацијената са сепсом у бројним клиничким студијама (48,49).

#### 1.7.5. Интерлеукин-8 (IL-8)

IL-8 припада фамилији протеина - хемокина и један је од најважнијих СХС хемокина који је укључен у различита патофизиолошка стања. Хемокини су катјонски протеини

од 70-100 аминокиселинских резидуа који садрже четири цистеинска остатка који су везани са две дисулфидне везе. Има малу молекулску масу од 80 kD. Структура протеина IL-8 приказана је на слици 11.

Слика 11- Структура протеина IL-8. Преузето са: Sinobiological.com



Производе га макрофаге, неутрофили, хепатоцити, ендотелне ћелије и фибробласти. Индуктори овог медијатора су TNF $\alpha$ , IL-1 и IL-12, а његови инхибитори су IL-13, IL-4 и IL-10 (22).

IL-8 је један од главних медијатора инфламаторног одговора. Његова примарна функција је индукција хемотаксије у циљним ћелијама, неутрофилним гранулоцитима. IL-8 служи као хемијски сигнал који привлачи неутрофиле на место упале, па је стога познат и као неутрофилни хемотактички фактор. Одговарајућа активација неутрофила је од виталног значаја током системске инфламације. IL-8 донекле има хемотактичну активност усмерену на лимфоците и поспешује ангиогенезу. Остала дејства IL-8 су: активација неутрофила, појачавање трансендотелне миграције неутрофила и индукција продукције колагена од стране фибробласта. Поред тога, IL-8 изазива ослобађање лизозомалних ензима, регулацију адхезионих молекула, повећање интацелуларног калцијума и почетак оксидативног праска (50).

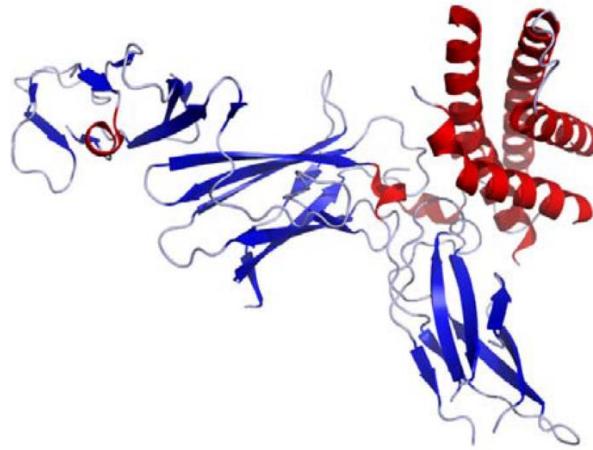
Пријављено је да су концентрације IL-8 у плазми и серуму повећани код болесника са сепсом (51). Истраживања сугеришу да су почетни нивои IL-8 били фактор који највише предвиђа смртни исход код пацијената са сепсом (52).

#### 1.7.6. Интерлеукин 12 (IL-12)

IL-12 је хетеродимерни цитокин који се састоји од две субјединице p35 (35kD) и p40 (40kD) повезане дисулфидном везом. Експерименталне студије показују да хетеродимерни IL-12 индукује интрацелуларну трансдукцију сигнала, а хомодимер састављен од IL-12p40 подјединице инхибира активност IL-12. Ове две субјединице су кодиране различитим генима, производња оба ланца унутар исте ћелије је неопходна да би дошло до формирања биолошки активног p70 хетеродимера. Појединачно, ниједна субјединица сама нема биолошку активност. Када се продукција IL-12 стимулише, слободни p40 ланци се производе у ексцесивним количинама, састављени су од инактивних p40 мономера и малог процента p40 хомодимера, који може

антагонизовати функцију ИЛ-12 компетитивним везивањем за његов рецептор (53). Кристална структура ИЛ-12 приказана је на слици 12.

Слика 12- Кристална структура ИЛ-12. Преузето из банке података о протеинима (ПДБ: 1Ф45)



ИЛ-12 производе фагоцити (моноцити, макрофаге и друге антиген презентујуће ћелије), потом В ћелије и Лангерхансове ћелије коже.(54). Продукција ИЛ-12 може бити индукована Т-ћелијски независним или Т-ћелијски зависним механизмом. Т-ћелијски независни пут укључује стимулацију продукције ИЛ-12 бактеријама, бактеријским продукцима и интрацелуларним патогенима. Т-ћелијски зависан пут посредован је експресијом CD40 лиганда на активираним Т ћелијама и интеракцијом са рецептором CD40 на површини ћелија које продукују ИЛ-12. Инхибитори ИЛ-12 су ИЛ-4 ИЛ-13 ИЛ-10. По дејству ИЛ-12 је фактор раста Т ћелија и стимулише ослобађање проинфламаторних цитокина.

Главна функција ИЛ-12 је да стимулише НК и Т ћелије укључујући цитотоксичне Т ћелије. Делује као фактор диференцијације CD4+ ћелија, поспешујући њихову диференцијацију у Th1 ћелије које производе IFN- $\gamma$ . ИЛ-12 је важан медијатор урођеног имунског одговора јер повезује активацију макрофага од стране микроба са НК ћелијама.

ИЛ-12 активира инфламаторни одговор, доприноси дисфункцији органа током тешке ендотоксемије и учествује у одржавању системске инфламације. Насупрот токсичним ефектима у ендотоксемији, ИЛ-12 појачава одбрамбени одговор организма код бактеријске инфекције тако што прикупља и активира фагоцитне ћелије и иницира Th1 тип ћелијски посредованог имунског одговора. Такође, ИЛ-12 игра кључну улогу у развоју протективног имунског одговора на локалну бактеријску инфекцију (55).

ИЛ-12 активира инфламаторни одговор релативно касно, након 8 часова или више, насупрот квалитативно сличним ефектима после интравенског давања LPS. ИЛ-12 доприноси дисфункцији органа током тешке ендотоксемије и учествује у одржавању системске инфламације. Насупрот токсичним ефектима у ендотоксемији, ИЛ-12 појачава одбрамбени одговор организма код бактеријске инфекције тако што прикупља и активира фагоцитне ћелије и иницира Th1 тип ћелијски посредованог имунског одговора. ИЛ-12 игра кључну улогу у развоју протективног имунског одговора на

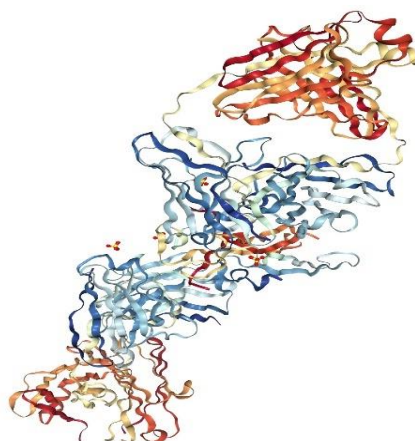
локалну бактеријску инфекцију. У тим условима неутрализација ИЛ-12 повезана је са повећаним растом бактерија и морталитетом.

Резултати студија које су проучавале улогу ИЛ-12 у сепси (52) показују повишене концентрације овог биомаркера код септичних пацијената и различите обрасце ослобађања изоформе ИЛ-12p70 и p40 током тешке сепсе (56).

### 1.7.7. Интерлеукин ИЛ-17А (ИЛ-17А)

Породица ИЛ-17 садржи шест изоформи молекулске тежине 20-30 Kd и представља групу гликозилованих протеина. Структурно, протеини породице ИЛ-17 имају очуван Ц-терминус са четири цистеинска остатка, који формирају интрамолекуларне дисулфидне мостове (57). На слици 13 приказана је секундарна структура хуманог ИЛ-17А.

Слика 13-Хумани интерлеукин 17. Секундарна структура. Преузето са [sinobiological.com](http://sinobiological.com)



ИЛ-17 производе бројне ћелијске популације, укључујући Th17 ћелије, NK ћелије, урођене лимфоидне ћелије групе 3 (ILC3s), CD8+(Tc17) ћелије, неутрофиле, микроглију и мастоците (58). Th17 ћелије такође производе различите инфламаторне цитокине укључујући фактор стимулације колоније гранулоцита-макрофага (GM-CSF), ИЛ-21 и ИЛ-22 (59).

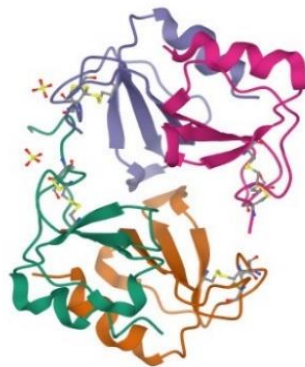
ИЛ-17А индукује производњу инфламаторних молекула, хемокина, антимикробних пептида и ремоделирајућих протеина. Изазива кључне ефекте на одбрану домаћина, имунолошку модулацију и репарацију ткива, са кључном улогом у индукцији урођене имунолошке одбране. ИЛ-17А стимулише епителне ћелије, а потом делује сам или синергистички са другим проинфламаторним медијаторима индукује производњу хемокина, привлачећи на тај начин мијелоидне ћелије на место запаљења. Индукује производњу антимикробних пептида из макрофага и неутрофила као одговор на акутну инвазију патогена (60).

IL-17 стимулише производњу многих других цитокина укључујући IL-6, фактор који стимулише колоније гранулоцита (G-CSF), GM-CSF, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , хемокине и моноцитни хемотактички протеин-1 (MCP-1) као и простагландине из многих типова ћелија (фибробласти, ендотелне и епителне ћелије, кератиноцити и макрофаги) (61). Постоји све већи број доказа да IL-17A учествује у патофизиологији сепсе, у погледу регулације инфламаторних и имунолошких одговора. Објављено је да IL-17A може учествовати у заштити домаћина током полимикробне сепсе (62). Улога IL-17A у сепси и даље је контроверзна.

#### 1.7.8. IP 10 (Интерферон- $\gamma$ -индуцибилни протеин)

Интерферон- $\gamma$ -индуцибилни протеин је цитокин који припада породици хемокина, који се излучује из ћелија које су стимулисане интерфероном –  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ). Хемокини су група малих (8-14 Kd), структурно повезаних протеина који имају фундаменталну улогу у развоју, хомеостази и функцији имуног система. Хемокини се ослобађају током повреде ткива и играју кључну улогу у регулисању производње цитокина и регрутације леукоцита, у стварању адаптивних имуних одговора и патогенези многих болести код људи (63). Кристална структура интерферон- $\gamma$ -индуцибилног протеина 10 приказана је на слици 14.

Слика 14-Хумани IP 10 протеин. Кристална структура. Преузето из банке података о протеинима( ПДБ 107Y)



IP 10 је примарно идентификован као хемокин који се индукује IFN $\gamma$  и функционално окарактерисан као проинфламаторни цитокин. IP10 се производи током инфекције и упале, активира рецептор хемокина спојен са G-протеином CXCR3 и делује као хемоатрактант за T ћелије. Регулише имуне одговоре активирањем леукоцита укључујући T ћелије, еозинofile, моноците и NK ћелије. Експресија IP 10 се примећује код многих инфламаторних болести типа Th1, где се сматра да игра важну улогу у регрутацији активираних T ћелија на месту запаљења ткива.

Иако је примарно идентификован као протеин индукован  $IFN_{\gamma}$ , доказано је да и други агенси укључујући  $IFN-\alpha$ , LPS,  $IL-1\alpha$ ,  $IFN-\beta$ ,  $IL-6$ ,  $TNF-\alpha$  и  $TNF-\beta$  ин витро изазивају експресију IP 10.

IP 10 производе Т ћелије, моноцити, ендотелне ћелије, неутрофили, кератиноцити, фибробласти, мезенхимске ћелије, дендритске ћелије, астроцити и хепатоцити (64).

IP 10 игра улогу у ћелијској хемотаксији, регулацији ћелијског раста, пролиферацији и апоптози, као и у инхибицији ангиогенезе. Инфекције повезане са IP 10 укључују оне изазване вирусима, бактеријама, гљивицама и паразитима (65).

Показало се да IP 10 служи као користан биомаркер у хуманој сепси (66,67).

#### 1.7.9. Хемоатрактантни протеин моноцита 1 (MCP-1)

MCP-1 (Хемоатрактантни протеин моноцита 1) је члан породице С-С хемокина и моћан је хемотактички фактор за моноците. MCP-1 је први откривени људски С-С хемокин. Смештен је на хромозому 17, састоји се од 76 аминокиселина и величине је 13кD (68).

MCP припада породици која се састоји од најмање четири члана (MCP-4, MCP-3, MCP-2 и MCP-1). Структура хуманог MCP је приказана на слици 15.

Већина зрелих хематопоетских ћелија укључујући моноците, Т лимфоците, Б лимфоците, неутрофиле, дендритичне ћелије и природне ћелије убице могу индуковати синтезу MIP-1 $\alpha$  и MIP-1 $\beta$ . У нормалним условима синтеза MIP-1 $\alpha$  се дешава на веома ниским нивоима. Међутим, након стимулације индукционих ћелија ендотоксинима као што је LPS, вирусни протеини или проинфламаторним цитокинима, долази до активације индукције повећане производње MIP-1 $\alpha$ .

Примарни извори MCP-1 су различити типови ћелија, укључујући ендотелне, фибробластне, епителне, глатке мишићне, мезанглијалне, моноцитне и микроглијалне ћелије, након индукције факторима раста, цитокинима или оксидативним стресом. Ове ћелије су важне за антивирусне имуне одговоре у периферној циркулацији и у ткивима. Међутим, утврђено је да су моноцити/макрофаги главни извор CCL2 (69). MCP-1 регулише миграцију и инфилтрацију моноцита, меморијских Т лимфоцита и природних ћелија убица (NK) (70).

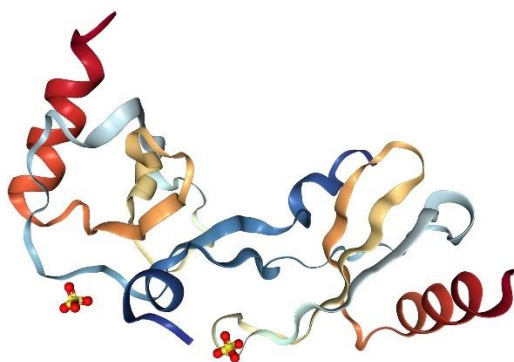
MCP-1 има виталну улогу у процесу упале, где привлачи или појачава експресију других инфламаторних фактора, подстиче хемотаксију моноцита, повезан је заштитом од оштећења и напредовања оксидативног стреса, игра кључну улогу у инсулинској резистенцији, дијабетесу и његовим компликацијама. При везивању за своје рецепторе CCR2 активира ћелије као што су моноцити и друге имуне ћелије које подстичу упалу. Усмерава инфилтрацију леукоцита, утиче на пролиферацију Т ћелија и поларизацију Th0 ћелија према Th2 фенотипу (70).

MCP-1 регулише диференцијацију моноцита у дендритске ћелије. Модулира Th1 имуни одговор потискивањем диференцијације наивних Т ћелија у Th1 ефекторске ћелије и укључен је у производњу цитокина од стране наивних Th ћелија.

MCP-1 је иницијални цитокин инфламаторне каскаде. Екстрацелуларни MCP-1 испољава проинфламаторне карактеристике и игра централну патогену улогу у

критичној болести. MCP-1 може играти важну улогу у патогенези сепсе након трауме (71).

Слика 15- Хумани моноцитни хемоатрактант протеин. Секундарна структура. Преузето са Sinobiological.com



#### 1.7.10. Макрофагни инфламаторни протеини (MIP-1 $\alpha$ и MIP-1 $\beta$ )

Макрофагни инфламаторни протеини MIP-1 $\alpha$  и MIP-1 $\beta$  су инфламаторни хемокини, који припадају породици C-C хемокина и показују снажна хемотактичка својства. Ови протеини су названи макрофагни инфламаторни протеини због њихове биолошке функције изазивања инфламаторног одговора који карактерише инфилтрација неутрофила. MIP-1 протеин је састављен од два пептида. Делимично секвенцирање открило је два протеина: MIP-1 $\alpha$  и MIP-1 $\beta$ .

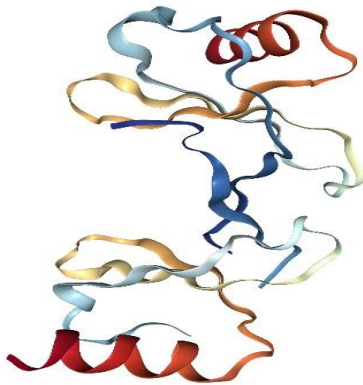
Иако су ови протеини показали благе варијације у секвенци аминокиселинских остатака на њиховим NH<sub>2</sub> терминалима, они деле приближно 56,7% хомологије секвенце (72). Са увођењем нове номенклатуре, хумани MIP-1 $\alpha$  се назива хемокин C-C лиганд 3 (CCL3), а MIP-1 $\beta$  се назива хемокин C-C лиганд 4 (CCL4) (73).

MIP-1 $\alpha$  је синтетисан као прекурсор протеин са 92 аминокиселине. Прекурсорски протеин се цепа на неколико места, што резултира формирањем биолошки активног зрелог протеина. Секундарна структура хуманог MIP-1 $\alpha$  и MIP-1 $\beta$  приказана је на слици 16 а. и 16 б.

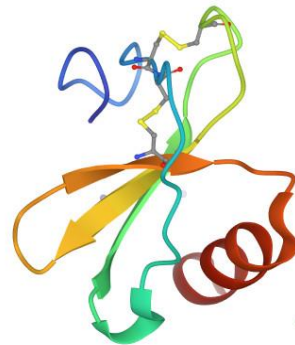


Слика 16- а. Хумани МIP-1 $\alpha$ / CCL3 и б.МIP-1 $\beta$ / CCL4 протеин. Секундарна структура. Преузето са а. Sinobiological.com и б.из банке података о протеинима ПДБ 3TN2.

а).



б).



Биолошке функције МIP-1 $\alpha$  односе се на важну улогу у инфламаторном процесу промовишући регрутовање леукоцита на место упале, изазивање инфламаторног одговора против вируса, помажу у зарастању рана регрутовањем макрофага на место повреде ткива (74). МIP-1 $\alpha$  и МIP-1 $\beta$  привлаче одвојене популације хуманих лимфоцита: МIP-1 $\alpha$  привлачи CD8+Т лимфоците и В ћелије, док МIP-1 $\beta$  привлачи наивне помоћничке Т ћелије.

## 1.8. Анти-инфламаторни цитокини у сепси

### 1.8.1. Интерлеукин 4 (IL-4)

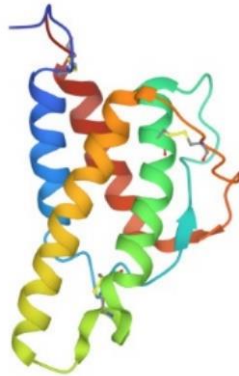
Интерлеукин 4 је гликопротеин од 20 kD чију структуру са претежно хидрофобним језгром чини сноп са четири алфа хеликса, у чијим су наборима смештени дволанчани бета листови. IL-4 је плеиотропни анти-инфламаторни цитокин који функционише углавном сузбијањем проинфламаторног одговора (75).

Тродимензионална структура хуманог интерлеукина 4 приказана је на слици 17.

Интерлеукин 4 могу производити активирани Т ћелије, мастоцити, базофили, еозинофили и Т ћелије природне убице (76). Његов индуктор је PGE<sub>2</sub>, а инхибитор IL-12. IL-4 индукује липоксин, а инхибира IL-12, IL-10, IL-8, IL-6, IL-1, МIP-1 $\alpha$  и TNF- $\alpha$ .

Биолошка дејства IL-4 су: стимулација раста Т и В ћелија, стимулација хемопоезе, стимулација макрофага, појачавање адхезије између лимфоцита и ендотела, појачавање експресије главног хистокompatибилног комплекса (MHC I и II).

Слика 17 - Тродимензионална структура хуманог интерлеукина 4. Преузето из банке података о протеинима ПДБ 1ВВН



Секреција IL-4 доводи до поларизације Th ћелијске диференцијације према Th2 ћелијама. Th2 тип ћелија лучи сопствени IL-4, а последична аутокринна продукција овог цитокина подржава ћелијску пролиферацију. Главна мета инхибиторног дејства IL-4 је спречавање продукције и ослобађање цитокина од стране моноцита (IL-12, IL -10, IL-8, IL-6, IL-1, MIP-1 $\alpha$  и TNF- $\alpha$ ). Супримира макрофагну цитотоксичну активност и продукцију NO од стране макрофага. IL-4 индиректно смањује инфламаторни одговор повећањем продукције антиинфламаторних метаболита арахидонске киселине, стимулацијом 15-липоксигеназе и повећањем продукције IL-1ra. IL-4 је одговоран за Th2 одговоре, накупљање и активацију мастоцита и стимулацију продукције IgE антитела преко диференцијације B ћелија у IgE-секреторне ћелије (77,78).

Имунски ефекти IL-4 у присуству бактеријске инфекције су комплексни. Претходне студије су показале да је експресија IL-4 била повишена на животињским моделима полимикробне сепсе (79), а нивои IL-4 такође су повећани код пацијената са сепсом (80).

### 1.8.2. Интерлеукин 10 (IL-10)

Интерлеукин 10 је оснивач породице IL-10 цитокина, која укључује IL-26, IL-24, IL-22, IL-20 и IL-19 (81). Са интерферонима (тип I, II И и III), породица IL-10 чини породицу цитокина класе 2, где је чланство засновано на очуваним позицијама цистеина у њиховим рецепторима секвенце (82).

Кристална структура хуманог интерлеукина 10 приказана је на слици 18.

IL-10 је јединствени цитокин класе 2 јер снажно инхибира производњу проинфламаторних цитокина као што су IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  у неколико типова ћелија и спречава сазревање дендритских ћелија инхибирањем експресије IL-12. IL-10 производе моноцити/макрофаги, B ћелије и T хелпер ћелије (83). Инхибитори овог медијатора су IL-4 и IL-13.

Слика 18- Хумани интерлеукин 10. Кристална структура. Преузето из банке података о протеинима. ПДБ 2Н24



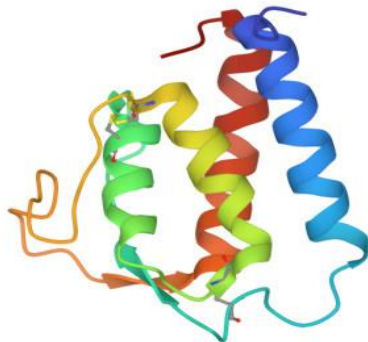
Биолошка дејства IL-10 су: супресија инфламаторног одговора, инхибиција активности макрофага, инхибиција ослобађања цитокина од стране макрофага, инхибиција презентације антигена од стране макрофага. IL-10 се примарно синтетизује у CD4 + Th2 ћелијама, моноцитима/макрофагима и B ћелијама и циркулише као хомодимер који се састоји од два чврсто упакована протеина од по 160 аминокиселина. После активирања свог рецептора, за који има висок афинитет, IL-10 инхибира TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-8, IL-6, IL-1, фактор стимулације колоније гранулоцита, MIP-1 $\alpha$  и MIP-2 $\alpha$  који потичу из моноцита/макрофага. IL-10 инхибира експресију на површини ћелија молекула класе II главног комплекса хистокомпатибилности (класа II MHC), B7 акцесорних молекула и CD14 за препознавање и сигнални пут LPS-a. Тиме инхибира акцесорну функцију макрофага у активацији T ћелија. Дакле, инхибира и урођени и T-ћелијски специфични имунски одговор у инфламацији (84).

IL-10 испољава протективне ефекте у читавом низу експерименталних модела локалне инфламације као што су перитонитис, панкреатитис и акутно оштећење плућа. Повишене концентрације IL-10 су пронађене код болесника са сепсом и повећане концентрације IL-10 су повезане са неповољним клиничким исходом (85).

### 1.8.3. Интерлеукин 13 (IL-13)

Интерлеукин 13 (IL-13) је антиинфламаторни медијатор који има важну улогу у имунолошким одговорима и инфламацији. Има масу од 13 kD, пептид је и састоји се од 33 аминокиселине, тј. четири алфа спирална снопа који имају преклапајућу секундарну структуру са IL-4. IL-13 сигнализира преко заједничког сигналног рецептора са IL-4 преко хетреодимерног рецепторског комплекса (86). Структура раствора хуманог интерлеукина 13 приказана је на слици 19.

Слика19- Структура раствора хуманог интерлеукина 13. Преузето из банке података о протеинима. ПДБ 1IJZ



Интерлеукин 13 производе стимулисане Th2 ћелије, В лимфоцити, CD8<sup>+</sup> ћелије, алвеоларни макрофаги, мастоцити и базофили (87). У људским В ћелијама IL-13 има сличне ефекте као IL-4, укључујући промовисање пролиферације В ћелија и стимулацију продукције IgE антитела преко диференцијације В ћелија у IgE-секреторне ћелије. У макрофагима IL-13 фаворизује алтернативну поларизацију у M2-фенотип (88).

IL-13 промовише преживљавање, активацију и регрутовање еозинофила. Стимулише промет еозинофила из периферне крви до места упале индукујући производњу IL-5 и еозинофилних хемокина као што су еотаксини. IL-13 смањује експресију TNF $\alpha$ , IL-8, MIP-1 $\alpha$  и IL-1 у моноцитима.

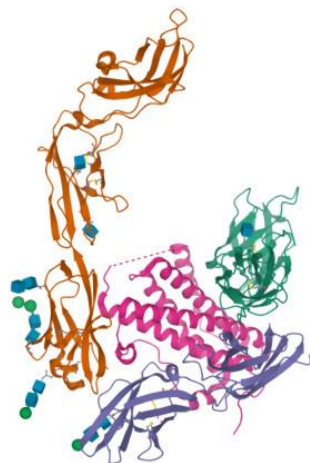
IL-13 такође има важне ефекте на нехематопоетске ћелије укључујући ендотелне ћелије, глатко-мишићне ћелије, фибробласте, епителне ћелије и сензорне неуроне. Моћан је индуктор молекула адхезије васкуларних ћелија. Повећава експресију  $\beta_1$  интегрина на хуманим фибробластима плућа и повећава мишићну контракцију као одговор на ацетилхолин. IL-13 појачава пролиферацију и холинергички индуковану контракцију глатких мишићних ћелија и индукује синтезу колагена у људским фибробластима доприносећи ремоделирању дисајних путева (89).

Неколико студија је пријавило повећане нивое IL-13 у плазми септичких одраслих људи и деце (90,91).

#### 1.8.4. Интерлеукин 27 (IL-27)

Интерлеукин 27 је хетеродимерни цитокин из породице IL-12 састављен од две подјединице, EBV (Epstein-Barr virus)-индукованог гена 3 (EBI3) и IL-27p28 (92). IL-27 сигнализира преко хетеродимерног рецептора састављеног од два ланца, IL-27R $\alpha$  и gp130. Сигнални комплекс рецептора и IL-27 приказан је на слици 20.

Слика 20 - IL-27. Интерлеукин 27.Сигнални комплекс рецептора. Преузето из банке података о протеинима.ПДБ 7Y7H



IL-27 производе антиген-презентујуће ћелије (моноцити, макрофаги и дендритске ћелије). Познато је да и други типови ћелија, укључујући супресорске ћелије изведене из мијелоида CD4 + и CD8+ T ћелије, остеокласти и активирани B ћелије такође луче различите нивое IL-27. Микробна стимулација Toll-like рецептора (TLR) промовише експресију IL-27 у овим ћелијама (93,94).

IL-27 је јединствен цитокин са различитим имуностимулаторним и имуносупресивним утицајима на имуни систем. Познато је да IL-27 има проинфламаторне ефекте на моноците, макрофаге и дендритске ћелије и да појачава експресију IL-12, IL-18, MIP-1 $\alpha$  и MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  у примарним људским моноцитима (95). IL-27 утиче на функцију презентације антигена повећавајући експресију молекула главног молекула комплекса хистокомпатибилности класе I и II. Добро је утврђено да IL-27 може деловати антиинфламаторном функцијом путем индукције IL-10 из различитих подскупова T ћелија, укључујући Трегове (96). Антиинфламаторни ефекти IL-27 независни од индукције IL-10, укључују IL-27 посредовану супресију Th17 ћелијског одговора (97).

Досадашњи резултати су показали да је IL-27 поуздан дијагностички биомаркер сепсе, али га треба истражити у комбинацији са осталим клиничким тестовима и резултатима (98).

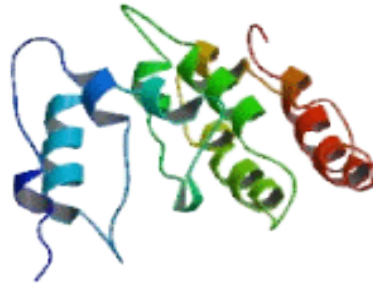
#### 1.8.5. Интерлеукин 31 (IL-31)

Интерлеукин 31 је спирални цитокин који припада породици gp130/IL-6, која садржи девет цитокина које деле заједнички ланац гликопротеина 130 (gp130) и четири спиралне структуре. IL-31 је код људи шифриран геном који се налази на хромозому 12 (99). Унутар породице gp130/IL-6 интерлеукин 31 је посебан, јер дели четири спиралне структуре, али не сигнализира преко рецепторског комплекса који садржи

gp130. Он се везује за хетеродимерни рецептор састављен од ланца IL-31RA и  $\beta$  ланца онкостатин М рецептора.

Структура IL-31 приказана је на слици 21.

Слика 21- Интерлеукин 31. Преузето са Cloud-clone corp.



IL-31 производе различити подскупови леукоцита, укључујући Т ћелије, еозинофиле, базофиле, мастоците, моноците и дендритичне ћелије. Ипак, широко је прихваћено да Т ефекторске ћелије са Th2 фенотипом представљају главни извор IL-31 (100,101). Хетеродимер рецептора IL-31 експримиран је на различитим подгрупама леукоцита, укључујући моноците, макрофаге, дендритске ћелије, еозинофиле, мастоците и базофиле, тако да су имунолошки ефекти циљани IL-31 разнолики. Базофили након стимулације IL-31 не ослобађају хистамин, већ луче велике количине IL-4 и IL-13 (100). У еозинофилима и дендритским ћелијама IL-31 индукује скуп проинфламаторних цитокина и хемокина укључујући IL-6, TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , CCL22, CXCL1, CCL2, CXCL8 и CCL5 (102). TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и IL-6 могу директно да утичу на на функције Т ћелија, В ћелија, као и дендритичних ћелија.

IL-31 игра важну улогу у индукцији инфламације и регулише различите процесе урођеног и адаптивног имунитета. IL-31 има важну улогу у патогенези атопијског дерматитиса и алергијских болести код хуманих еозинофила. Такође, доказано је да интерлеукин 31 може да смањи стопу морталитета од сепсе изазване липополисахаридом уз смањење проинфламаторних цитокина у серуму (103).

#### 1.8.6. Интерлеукин 33 (IL-33)

Интерлеукин 33 припада породици IL-1, а идентификован је као протеин од 30 kD и структурно је повезан са IL-1 и фактором раста фибробласта. Ц терминални део IL-33 има тродимензионалну структуру од 12  $\beta$ -ланаца организованих у тролистни набор, карактеристичан за чланове породице IL-1/FGF (104). IL-33 нема заједничког претка са другим члановима породице IL-1, што IL-33 чини атипичним чланом суперфамилије IL-1 цитокина (105).

Структура раствора хуманог интерлеукина 33 приказана је на слици 22.

Слика 22- Структура раствора хуманог интерлеукина 33. Преузето из банке података о протеинима ПДБ 2KLL



IL-33 се ослобађа из ендотелних ћелија, епителних ћелија и фибробласта као одговор на оштећање ткива или механички стрес. Након ослобађања, IL-33 функционише као алармин и активира различите типове ћелија укључујући Th2 ћелије, Tregs, базофиле, мастоците, еозинофиле, макрофаге, дендритске ћелије, урођене лимфоидне ћелије, NK ћелије и NKT ћелије. Ове ћелије реагују на IL-33/ST2 комплекс производећи проинфламаторне и антиинфламаторне медијаторе у различитим ткивима (106).

IL-33 штити од ендотоксемије изазване липополисахаридом и побољшава преживљавање током сепсе тако што повећава прилив неутрофила на место инфекције (107). Поред директних ефеката на лимфоците, IL-33 утиче и на активност других цитокина, као и на индукцију и одржавање имunosупресије током сепсе. Повишени нивои IL-33 доказани су у клиничкој и експерименталној сепси. Резултати сугеришу да IL-33 игра негативну регулаторну улогу у прогресији сепсе (108).

### 1.9. Сепса и *COVID-19* инфекција

Децембра 2019. године у Вухану (Кина), појавила се епидемија *SARS-CoV-2* вируса, који је етиолошки патоген болести Covid-19. Појава вируса *SARS-CoV-2* и пандемије коју је 2020. године прогласила Светска здравствена организација представили су најозбиљнију претњу по здравље људи у новијој историји човечанства.

Компликован имунски одговор у тешко оболелих болесника са сепсом доспео је у изненађујући фокус избијањем ове пандемије, због чињенице да се тешки облици *COVID-19*, који директно угрожавају живот, могу посматрати као типична вирусна сепса са мултиорганском дисфункцијом. Пацијенти који су критично болесни од *COVID-19* задовољавају дијагностичке критеријуме за сепсу и показују фенотип и патологију са сличностима и разликама са онима код сепсе изазване другим патогенима.

Критично оболели од тешког облика *COVID-19* пате од мултиорганске дисфункције, укључујући синдром акутног респираторног дистреса (АРДС), вазодилаторни шок,

акутно оштећење бубрега, коагулацију, дисфункцију мозга, срца и гастроинтестиналног тракта, што представља уобичајене манифестације које карактеришу сепсу (109). Смернице добре клиничке праксе за лечење *COVID-19* инфекције су директно развијене из сличних смерница за сепсу (110).

Први корак у имунопатогенези *COVID-19* почиње везивањем вирусних честица за ACE2 рецепторе на површини епителних ћелија дисајних путева, алвеоларних епителних ћелија, васкуларних ендотелних ћелија, као и плућних макрофага, што заузврат хиперактивира макрофаге, природне ћелије убице (NK) и друге имуне ћелије да ослобађају проинфламаторне цитокине и хемокине (111). У току циклуса репликације вируса, Sars-Co-V2 изазива дефект ткива и ћелијску смрт инфицираних ћелија. Умножавање вируса у епителним ћелијама дисајних путева, узроковано вирусном инфекцијом доводи до интензивне пироптозе, која захвата алвеоле и доводи до тешког акутног оштећења плућа. Пироптоза представља тежак инфламаторни облик апоптозе (програмиране ћелијске смрти), која се неретко запажа код инфекција индукованих цитопатским вирусима; удружена је са дефектом ендотела и често са васкуларним цурењем; највероватније је катализатор резултујућег инфламаторног одговора. Увећане концентрације лактат-дехидрогеназе представљају биомаркер пироптозе. Ћелије имуног система прераспоређују се из крви у плућно ткиво, лимфоцити инфилтришу дисајне органе; чиме би се могла разјаснити лимфопенија која се верификује у 80% болесника са *COVID-19*. Sars-Co-V2 се таложи и у осталим таргет ћелијама, те је уочен у дендритичним ћелијама, Т лимфоцитима и макрофагима. Непосредна вирусна смрт лимфоцита индукује лимфопенију код ових болесника. Осим тога, вирусом индукована инфекција појединих имунских ћелија, као што су макрофаги и моноцити, може кулминирати поремећеним излучивањем цитокина које резултује пироптозом ових ћелија. Sars-Co-V2 изазива урођени имуни одговор и тренутни пораст неутрофила и других имуних ћелија, уз значајно смањење Т ћелија (CD4+, CD8+). Смањење броја Т ћелија, уз истовремено повећано лучење IL-6 и IL-8, пријављено је као специфична карактеристика инфекције Sars-Co-V2 (112). Код пацијената са урођеним дефектом имунитета на IFN тип I, инфламаторни цитокини се производе у изобилју, изазивајући цитокинску олују познату као хиперцитокинемија.

Бројне студије сугеришу значајну улогу низа проинфламаторних цитокина као што су IL-8, IL-6, IL-2, IL-10, TNF- $\alpha$ , IFN као и фактори који стимулишу колоније (GM-CSF) у прогнози болести *COVID-19*. Поред тога бројни хемокини пријављени су као критични медијатори у одређивању морталитета током инфекције Sars-CoV-2. Недавно су аутори сугерисали да цитокинска олуја игра кључну улогу у напредовању инфекције Sars-CoV-2 и да може бити главни разлог за вишеструко оштећење органа и повећану стопу смртности код имунокомпромитованих пацијената (113). Цитокинска олуја је потенцијално фатално имунолошко стање које је узроковано неконтролисаним ослобађањем и амплификацијом великог броја инфламаторних медијатора.

Цитокини укључени у индукцију цитокинске олује током *COVID-19* подељени су у две категорије на основу њихове функционалности током инфекције, и то на проинфламаторне укључујући TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-6, IL-1 $\beta$ , IFN и антиинфламаторне цитокине као што су IL-7, IL-10, IL-4 и TGF- $\beta$  (114). Повећане концентрације цитокина доводе до прилива различитих имуних ћелија као што су макрофаги, неутрофили, Т ћелије и друге из системске циркулације на место инфекције са деструктивним ефектима на ткива, као што су дестабилизација ендотелних ћелија,



оштећења васкуларних баријера, дифузно оштећење алвеола и мултисистемска дисфункција органа.

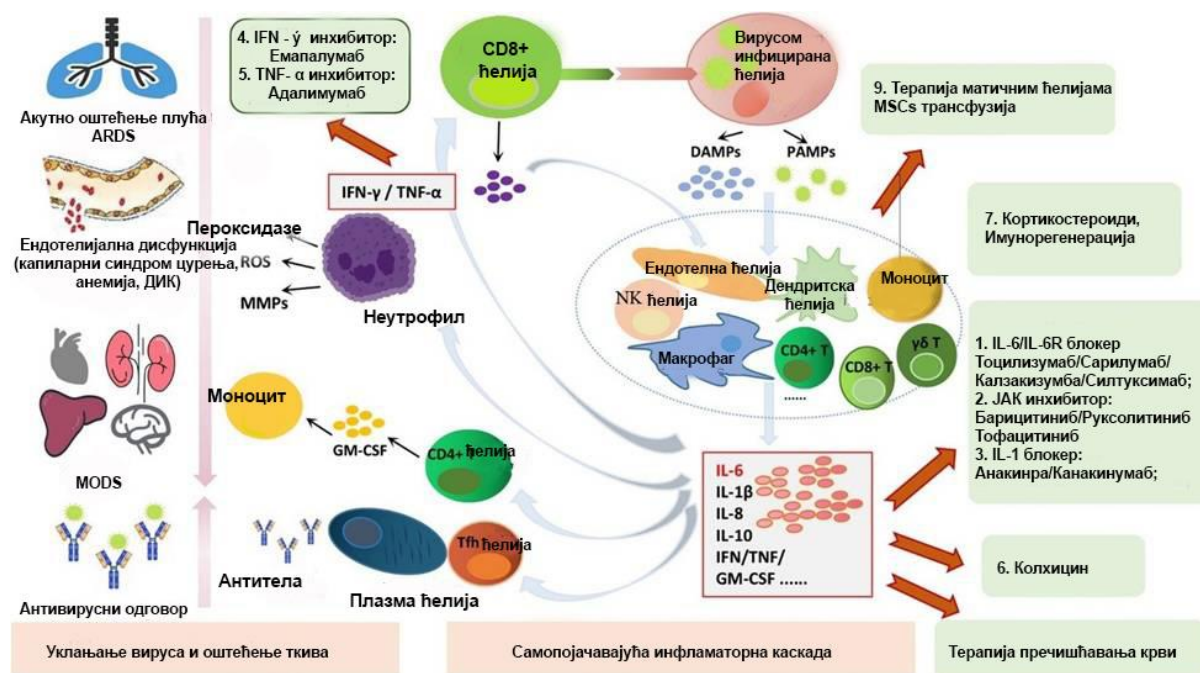
Ослобађање бројних цитокина повезано је са појавом вишеструких клиничких манифестација код *COVID-19*. Прекомерно лучење IFN- $\gamma$  доводи до главобоље, вртоглавице, умора и грознице. TNF- $\alpha$  изазива симптоме сличне грипу заједно са температуром, умором, малаксалошћу, али такође може довести до оштећења плућа, васкуларног цурења, срчане инсуфицијенције и синтезе протеина акутне фазе (115). IL-6 изазива синдром васкуларног цурења, покрећући путеве коагулације и систем комплемента, ендотелну дисфункцију, хипотензију и поремећено згрушавање крви (116).

Цитокинска олуја је изузетно смртоносни имунолошки поремећај који се карактерише наглим умножавањем и хиперпродукцијом NK ћелија, макрофага, Т ћелија и хиперсекрецијом преко 150 хемијских медијатора и инфламаторних цитокина. Неконтролисана производња цитокина праћена је инфилтрацијом инфламаторних ћелија као што су моноцити или неутрофили, у ткива, што доводи до некрозе изазване цитокинима. Понекад, комбинација вишка инфламаторних цитокина и вирусне репликације доводи до апоптозе целокупног ткива уступајући место оштећењу органа (117).

Евидентна је подударност између критично оболелих болесника са *COVID-19* и критично оболелих са сепсом. Сепса представља по живот опасну дисфункцију органа, која је резултат нерегулисаног одговора домаћина на инфекцију, има веома висок морталитет, а може бити изазвана вирусима, бактеријама или гљивицама. И код *COVID-19* инфекције, као и код сепсе цитокини су заслужни за инфламацију. Код оба стања инфламација индукује активацију каскаде коагулације, што резултује активацијом фибринолитичког система (118). Критично оболели од бактеријске сепсе и болесници са *COVID-19* инфекцијом имају готово идентичан алгоритам развоја мултиорганске дисфункције, могли бисмо рећи да је фудројантни облик *COVID-19*, сепса узрокована SARS-CoV-2.

Процеси настанка цитокинске олује индуковане *COVID-19* приказани су на слици 23.

Слика 23. Механизми настанка цитокинске олује индуковане *COVID-19* и потенцијални терапијски циљеви (модификовано и прилагођено према Lu Tang et al.)



## **2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА**

## 2.1. Циљеви истраживања

1. На основу серумских концентрација про-инфламаторних (MIP-1 $\alpha$ , MCP-1, MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-17A, IFN- $\gamma$ , IP 10, TNF- $\alpha$ ) и анти-инфламаторних (IL-33, IL-31, IL-27, IL-13, IL-10 и IL-4) медијатора код критично оболелих са секундарном сепсом утврдити да ли се цитокински профил разликује у односу на основно стање које се компликовало сепсом (перитонитис, панкреатитис, траума).

2. На основу серумских концентрација про-инфламаторних (MIP-1 $\alpha$ , MCP-1, MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-17A, IFN- $\gamma$ , IP 10, TNF- $\alpha$ ) и анти-инфламаторних (IL-33, IL-31, IL-27, IL-13, IL-10 и IL-4) медијатора код критично оболелих са секундарном сепсом утврдити да ли се цитокински профил разликује у односу на врсту бактеријског проузроковача.

3. На основу серумских концентрација про-инфламаторних (MIP-1 $\alpha$ , MCP-1, MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-17A, IFN- $\gamma$ , IP 10, TNF- $\alpha$ ) и анти-инфламаторних (IL-33, IL-31, IL-27, IL-13, IL-10 и IL-4) медијатора код критично оболелих са секундарном сепсом да се утврди утицај цитокинског профила на исход (преживео, умро).

4. Утврдити концентрације наведених медијатора инфламације у три термина мерења и то: првог дана укључивања у студију, затим трећег и петог дана.

## 2.2. Хипотезе истраживања

1. Концентрације медијатора инфламације (MIP-1 $\alpha$ , MCP-1, MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-17A, IFN- $\gamma$ , IP 10, TNF- $\alpha$ , IL-33, IL-31, IL-27, IL-13, IL-10 и IL-4) у серуму критично оболелих пацијената са секундарном сепсом првог, трећег и петог дана корелирају са основним стањем које се компликовало секундарном сепсом (перитонитис, панкреатитис, траума).

2. Концентрације медијатора инфламације (MIP-1 $\alpha$ , MCP-1, MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-17A, IFN- $\gamma$ , IP 10, TNF- $\alpha$ , IL-33, IL-31, IL-27, IL-13, IL-10 и IL-4) у серуму критично оболелих пацијената са секундарном сепсом првог, трећег и петог дана подударрају се са микробиолошким проузроковачима (Полимикробне, негативне Грам-позитивне, Грам-негативне хемокултуре).

3. Концентрације медијатора инфламације (MIP-1 $\alpha$ , MCP-1, MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-17A, IFN- $\gamma$ , IP 10, TNF- $\alpha$ , IL-33, IL-31, IL-27, IL-13, IL-10 и IL-4) у серуму критично оболелих пацијената са секундарном сепсом првог, трећег и петог дана корелирају са исходом (преживео, умро).

### **3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ**

### 3.1 Врста студије

Клиничка, нерандомозована, кохортна, проспективна студија.

### 3.2 Истраживана популација

Истраживањем смо укључили укупно 125 критично оболелих болесника, који су старији од 18 година са дијагностикованом секундарном сепсом, која је настала као компликација тешког перитонитиса, панкреатитиса или трауме, примљених на третман у Јединицу интензивне терапије (ЖИТ) Клинике за анестезиологију и интензивну терапију Војномедицинске академије у Београду, у временском интервалу од новембра 2017. године до октобра 2020. године у дужини трајања од две године и једанаест месеци.

### 3.3 Узорковање

Општи параметри за увођење болесника у студију су били постављена дијагноза секундарне сепсе која је настала у склопу акутног панкреатитиса, дифузног перитонитиса или тешке трауме, а пацијенти су укључени у студију након испуњавања актуелних Сепсис-3 дијагностичких критеријума за сепсу или септички шок. Студију је одобрио Етички комитет Војномедицинске академије (датум одобрења 27.11.2017.год.) у складу са Хелсиншком декларацијом, а пацијенти или њихови најближи сродници потписали су информисани пристанак.

Дијагностички критеријуми обухватају акутну промену у укупном SOFA скору >2 поена или постојање хипотензије која захтева примену вазопресора у циљу одржања средњег артеријског притиска MAP >65mmHg и одржавање серумског лактата >2mmol/l, упркос адекватној надокнади волумена (15).

Дијагностички критеријуми обухватају и било које од наведених параметара за које се наглашава да су резултат инфекције: сепсом индукована хипотензија, серумски лактати већи од 2mmol/l, акутна олигурија (лучење мокраће < 0,5 ml/kg/h током најмање 2 сата, упркос одговарајућој надокнади течности), акутно оштећење плућа са PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> <250, креатинин > 2,0 mg/dl (34,2 micromol/l), коагулациони дисбаланс (INR >1,5 или PT >60s), снижен број тромбоцита (тромбоцити <100.000µl). Критично оболели пацијенти са тешком траумом (према скору тежине повреде ISS Injury Severity Score, одређена употребом Abbreviated Injury Scale (AIS)>25 поена укључени су у студију након што су развили као компликацију секундарну сепсу и задовољили дијагностичке параметре за сепсу.

Критеријуми за искључивање из истраживања били су следећи: секундарна сепса/септички шок која није настала у склопу тешког перитонитиса, панкреатитиса или тешке трауме, малигне болести, постојећа имунодефицијенција, труднице и тешка леукопенија (<1000mm<sup>3</sup>). Искључујућим критеријумима, од првобитно разматраних 150 пацијената, елиминисано је 25 испитаника који су разматрани за укључење у студију.

Сви пацијенти су у периода третмана у ЈИТ лечени на основу најновијих препорука за лечење тешке сепсе и септичког шока (19), уз адекватну примену антибиотске терапије, вазопресорне потпоре, надокнаде циркулаторног волумена, респираторне подршке, као и контролом извора инфекције.

Узорци венске крви за анализу биомаркера са проинфламаторним својствима: тумор некрозис фактор алфа (TNF- $\alpha$ ), интерферон-гама (IFN- $\gamma$ ), интерлеукини 1 (IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$ ), IL-8, IL-6, IL-17A, IL-12p70, IP 10 (интерферон гама индукујући протеин10), MCP-1 (хемоатрактантни протеин моноцита 1), MIP-1 $\alpha$  и MIP-1 $\beta$  (макрофагни инфламаторни протеин алфа и бета) као и оних са анти-инфламаторним својствима: IL-33, IL-31, IL-27, IL-13, IL-10 и IL-4 прикупљани су у три временска периода, и то првог дана пријема и/или у моменту испуњавања критеријума за дијагнозу тешке сепсе или септичког шока и увођења у студију, а онда трећег и петог дана. Нивои осетљивости детекције цитокина према упутству произвођача износили су: IL-1 $\alpha$ , осетљивост (LOD): < 2 pg/mL, IL-1 $\beta$  < 5 pg/mg, IL-6 < 5 pg/mL, IL-8 < 1pg/mL, IL-12p70 < 3 pg/mL, IL-17A < 1 pg/mL, TNF $\alpha$  < 1 pg/mL, IFN- $\gamma$  < 3pg/mL, IP-10 < 3 pg/mL, MCP-1 < 2 pg/mL, MIP-1 $\alpha$  < 2 pg/mL, MIP-1 $\beta$  < 5pg/mL, IL-4 < 1 pg/mL, IL-10 < 2 pg/mL, IL-13 < 5pg/mL, IL-27 < 5pg/mL, IL-31 < 5pg/ml, IL-33 < 5pg/mL.

Такође, узорци крви су истовремено сакупљани за хемокултуру. Стандардим микробиолошким испитивањима одређена је врста бактеријског проузроковача.

Као меру исхода употребили смо хоспитални морталитет, а болеснике уведене у истраживање контролисали смо до изласка из болнице (преживели) или смрти у болници (умрли).

### 3.4 Варијабле које се мере у студији

Зависна варијабла: исход-хоспитални морталитет ( преживео, умро).

Збуњујуће независне варијабле: пол, старост.

Независне варијабле: Основно стање које је индуковало секундарну сепсу (перитонитис, панкреатитис, траума); медијатори инфламације (MIP-1 $\alpha$ , MCP-1, MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-17A, IFN- $\gamma$ , IP 10, TNF- $\alpha$ , IL-33, IL-31, IL-27, IL-13, IL-10 и IL-4); врста бактеријског проузроковача (Грам-позитивне, Грам-негативне, полимикробне и негативне хемокултуре).

Серумске вредности медијатора инфламације:

Из узорака венске крви, центрифугирањем на 1000 обртаја током 10 минута, издвојен је серум. Узорци серума били су замрзнути на -20, а потом на -80 степени скале Целзијуса и тако задржани до утврђивања концентрације биомаркера. Нивои биомаркера у узорцима серума након одмрзавања одређене су коришћењем комерцијалног flow цитометријског кита (18 PLEX MULTIPLEX ) на апарату проточном цитофлуориметру (Beckman Coulter FC500).

### 3.5 Статистичка обрада података

Током анализе података употребљаване су дескриптивне статистичке методе и методе за тестирање статистичких хипотеза. Од дескриптивних статистичких метода континуиране варијабле су представљене као аритметичка средина и стандардна девијација или медијана и интерквartilни ранг ( $Q_1 - Q_3$ ) зависно од нормалности расподеле која је тестирана *Shapiro-Wilk* тестом. Дистрибуције учесталости категоријалних параметара су представљене као апсолутни и релативни бројеви. За тестирање хипотезе о значајности разлике средњих вредности нумеричких параметара коришћен је за независне узорке *Kruskal-Wallis*-ов тест и *Mann-Whitney U test*- тест суме рангова, а за тестирање зависних узорака коришћен је *Friedman*-ов тест и *Wilcoxon*-ов тест. Хи квадрат и Fisher-ов тест тачне вероватноће су коришћени током тестирања разлике учесталости категоријалних варијабли. Предиктивна снага свих цитокинина је испитана by Receiver Operating Characteristic (ROC) analyses. Израчуната је area under the receiver-operating curve (AUC) and 95% confidence intervals, cut-off value with optimal sensitivity and specificity and Youden index. Статистичке хипотезе су тестиране на нивоу статистичке значајности (алфа ниво) од 0.05. Све анализе су урађене од стране експерта за медицинску статистику уз примену софтверског програма *SPSS Statistics 22* (*SPSS Inc., Chicago, IL, USA*).

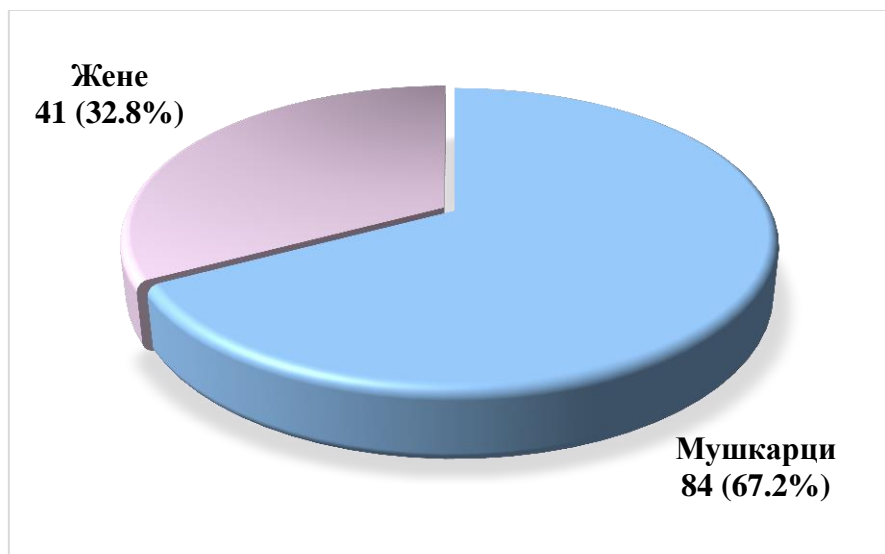


## **4. РЕЗУЛТАТИ**

#### 4.1. Демографске особине болесника

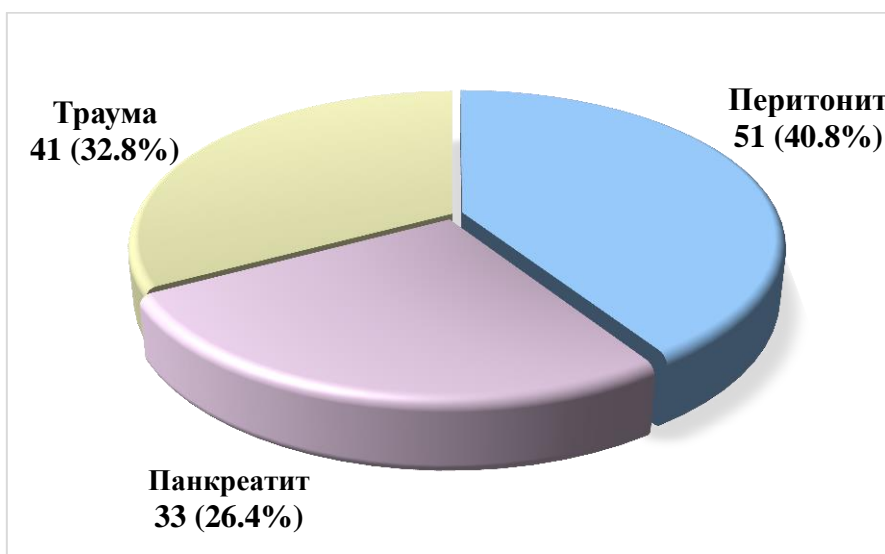
У временском периоду истраживања, који је трајао две године и једанаест месеци студијим је обухваћено 125 критично оболелих и повређених болесника, (67.2 % мушкараца; просечна старост је била  $57.7 \pm 17.3$  година).

Графикон 1- Дистрибуција пацијената према полу



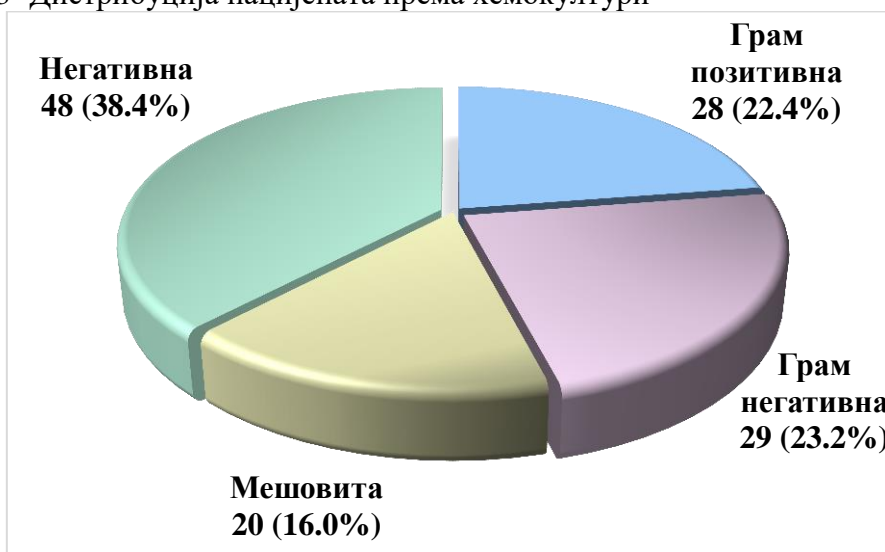
Према основном обољењу које се компликовало секундарном сепсом било је 40.8% пацијената код којих је секундарна сепса настала као компликација перитонитиса, 26.4% као последица перитонитиса и 32.8% пацијената код којих се секундарна сепса развила након трауме (Графикон 2).

Графикон 2- Дистрибуција болесника на основу обољења које је индуковало сепсу



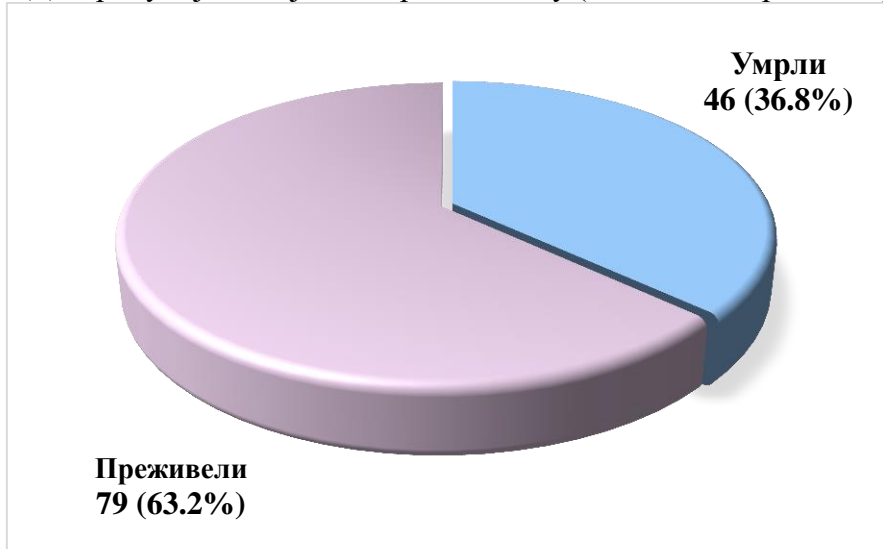
Према хемокултури било је 28 (22,4%) пацијената са изолованим Грам- позитивним патогенима, 29 (23,2%) са Грам-негативним патогенима, 20 (16,0%) са полимикробном хемокултуром и 48 (38,4%) пацијената са негативном хемокултуром.

Графикон 3- Дистрибуција пацијената према хемокултури



Укупан хоспитални морталитет приказан је графиконом 4 и износио је 36,8%, а преживело је 79 пацијената (63,2%).

Графикон 4- Дистрибуција пацијената према исходу (болнички морталитет)



Демографске особине пацијената показане су табелом 7.

Табела 7- Демографске карактеристике пацијената

Параметри	Вредности
Укупан број пацијената	125
<b>Старост</b> (године), <i>AS±SD, Med (Min-Max)</i>	57.7 ± 17.3, 61 (18 - 89)
<b>Пол, n (%)</b>	
Мушки	84 (67.2)
Женски	41 (32.8)
<b>Основно стање које се компликовало сепсом:</b>	
Перитонит	51 (40.8)
Панкреатит	33 (26.4)
Траума	41 (32.8)
<b>Хемокултура, n (%)</b>	
Грам позитивна	28 (22.4)
Грам негативна	29 (23.2)
Мешовита	20 (16.0)
Негативна	48 (38.4)
<b>Исход, n (%)</b>	
Умрли	46 (36.8)
Преживели	79 (63.2)
<b>Дужина хоспитализације</b> (дани), <i>AS±SD, Med (IQR)</i>	29.9 ± 34, 22 (1 - 305)

*n*- број пацијената, *AS±SD*- аритметичка средина±стандардна девијација, *Med*- медијана, *Min*- минимум, *Max*- максимум, *IQR*- интерквантилни ранг

#### 4.2 Поређење основних параметара према основном стању које се компликовало сепсом

Статистичка анализа података показала је да се дистрибуција полне структуре значајно разликује према основном стању које се компликовало секундарном сепсом ( $p=0,002$ ). Мушки пол је значајно учесталији у групи траума ( $p<0,001$ ), док женски пол има значајно већу учесталост код групе са перитонитисом и панкреатитисом ( $p=0,005$ ).

Учесталост изолованих хемокултура не кореспондира статистички значајно у односу на стање које се компликовало секундарном сепсом ( $p=0,338$ ), као ни у односу на исход болести ( $p=0,114$ ).

Старосна доб пацијената се статистички значајно разликује према основном стању које је индуковало секундарну сепсу ( $p<0,001$ ). Пацијенти са перитонитисом и панкреатитисом су значајно старије животне доби спрам пацијената са секундарном сепсом у групи трауме ( $p<0,001$ ).

Број дана хоспитализације код пацијената са траумом која се компликовала сепсом је значајно већи у односу на болеснике са панкреатитисом ( $p=0,013$ ), док дужина хоспитализације није била статистички значајно различита између осталих испитиваних група.

Поређење основних параметара према основном стању које се компликовало сепсом дато је у табели 8.

Табела 8 - Поређење основних параметара према основном стању које се компликовало сепсом.

	Основно стање које се компликовало секундарном сепсом			P
	Перитонитис	Панкреатитис	Траума	
Укупан број (%)	51 (40.8)	33 (24.4)	41 (66.7)	
Пол				
Мушки n (%)	27 (52.9)	21 (63.6)	36 (87.8)	0.002*
Женски n (%)	24 (47.1)	12 (36.4)	5 (12.2)	
Старост (године) Med (IQR)	65.0 (49.0-75.0)	65.0 (56.5-76.0)	52.0 (35.0-62.5)	<0.001*
Хемокултура				
Грам-позитивна n (%)	12 (23.5)	5 (15.2)	11 (27.5)	0.444
Грам-негативна n (%)	9 (17.6)	8 (24.2)	12 (30.0)	0.381
Мешовита n (%)	6 (11.8)	7 (21.2)	7 (17.5)	0.496
Негативна n (%)	24 (47.1)	13 (39.4)	10 (25.0)	0.096
Исход				
Умрли (%)	17 (33.3)	17 (51.5)	12 (29.3)	0.114
Преживели n (%)	34 (66.7)	16 (48.5)	29 (70.7)	
Дужина хоспитализације (дани) Med (IQR)	22.0 (15,0-36,0)	16,0 (8,0-28,5)	27.0 (16,0-44,0)	0.035*

#### 4.2.1 Нивои цитокина у три временска интервала према основном стању које се компликовало секундарном сепсом

Када су упоређене три групе пацијената према основном стању које се компликовало секундарном сепсом (перитонитис, панкреатитис, траума), идентификоване су значајне разлике у вредностима проинфламаторних TNF- $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IP 10, MCP-1 и антиинфламаторних IL-27, IL-33, IL-10 цитокина. Ниво ових биомаркера у првом дану мерења је био значајно већи код болесника са перитонитисом у односу на пацијенте са панкреатитисом и то: TNF- $\alpha$  ( $p = 0,006$ ), MIP-1 $\beta$  ( $p = 0,039$ ), IL-1 $\alpha$  ( $p = 0,048$ ), IP 10 ( $p = 0,011$ ), MCP-1 ( $p = 0,037$ ), IL-27 ( $p = 0,047$ ), IL-33 ( $p = 0,028$ ) и IL-10 ( $p = 0,039$ ). Није било других статистички значајних разлика у поређењу вредности биомаркера између осталих испитиваних група.

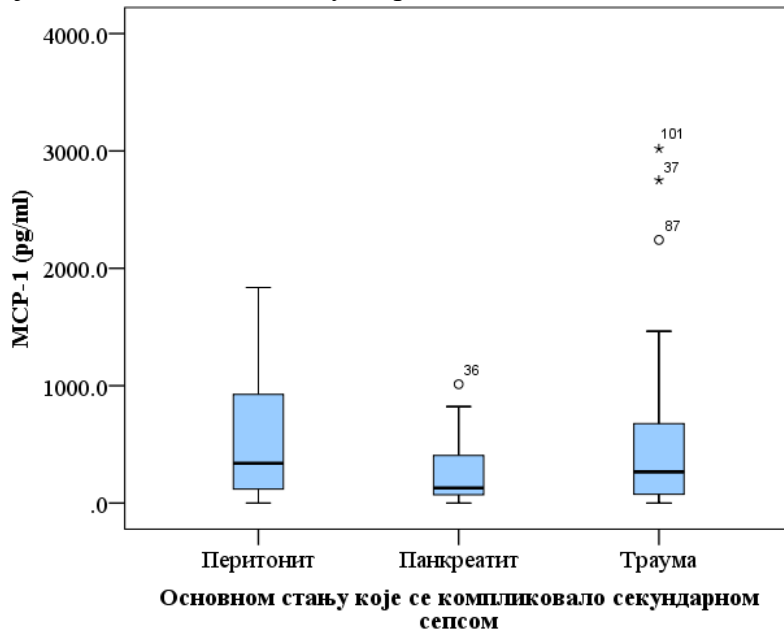
Средње вредности у првом интервалу мерења унутар група према основном стању које се компликовало секундарном сепсом приказане су у Табели 9.

Табела 9 - Концентрације цитокина у првом дану мерења унутар група према основном стању које се компликовало секундарном сепсом

pg/ml	Основно стање које се компликовало секундарном сепсом			P	p вредност између група		
	Перитонитис	Панкреатитис	Траума		Пе-Па	Пе-Тр	Па-Тр
IL-1 $\beta$	331.0 (95.2-608.1)	147.1 (47.2-366.5)	225.4 (49.0-426.1)	0.052	0.021*	0.093	0.535
TNF- $\alpha$	301.3 (124.8-590.0)	122.1 (34.0-298.9)	193.6 (55.8-340.7)	0.017*	0.006*	0.065	0.390
IP-10	232.0 (119.1-621.5)	75.4 (22.2-230.1)	159.0 (40.2-418.6)	0.011*	0.003*	0.190	0.099
IL-8	261.8 (105.0-596.1)	158.6 (82.2-398.0)	203.3 (81.3-339.0)	0.268	0.126	0.270	0.614
IL-27	169.9 (67.6-481.1)	92.0 (20.8-185.8)	121.6 (45.9-243.2)	0.047*	0.018*	0.111	0.390
IL-33	201.7 (115.1-324.9)	107.5 (38.8-193.4)	132.2 (44.9-264.1)	0.028*	0.011*	0.073	0.406
MIP-1 $\beta$	245.5 (134.4-599.1)	152.2 (107.8-257.7)	182.7 (119.4-369.2)	0.039*	0.010*	0.223	0.206
IL-4	122.4 (58.2-309.3)	61.9 (3.5-164.0)	98.5 (24.5-174.0)	0.052	0.018*	0.131	0.380
IL-17A	87.8 (38.9-300.8)	42.7 (14.6-09.6)	69.7 (33.7-144.8)	0.053	0.014*	0.229	0.285
IL-6	770.3 (254.6-1634.3)	610.7 (281.6-1587.2)	365.0 (198.9-1087.4)	0.150	0.791	0.071	0.129
IFN- $\gamma$	81.9 (43.5-177.4)	50.8 (16.6-108.2)	69.1 (21.7-114.9)	0.086	0.040*	0.121	0.491
MIP-1 $\alpha$	134.7 (70.4-427.6)	79.8 (41.4-205.2)	117.3 (59.8-322.4)	0.146	0.044*	0.337	0.403
IL-1 $\alpha$	137.6.0 (74.3-468.8)	74.3 (34.3-207.4)	114.4 (49.4-279.2)	0.048*	0.019*	0.095	0.464
IL-12p70	80.8 (34.8-138.8)	44.3 (12.4-109.3)	67.2 (25.3-107.2)	0.068	0.023*	0.166	0.399
MCP-1	334.6 (93.0-706.6)	145.4 (51.6-320.4)	142.2 (40.0-591.5)	0.037*	0.015*	0.060	0.777
IL-10	45.6 (24.2-145.0)	29.1 (0.0-51.2)	34.5 (2.7-76.6)	0.039*	0.014*	0.106	0.366
IL-31	295.8 (173.1-543.9)	175.1 (122.7-273.8)	209.2 (125.7-538.4)	0.053	0.014*	0.345	0.169
IL-13	204.3 (59.5-570.0)	70.7 (25.5-325.2)	105.2 (37.8-367.0)	0.055	0.020*	0.130	0.393

Статистички значајне разлике у концентрацији испитиваних цитокина према основном стању које се компликовало секундарном сепсом у трећем дану мерења се губе за све, осим за MCP-1 ( $p=0,047$ ). Високо статистички већа вредност у групи болесника са перитонитисом спрам групе са панкреатитисом за MCP-1 у трећем дану мерења ( $p=0,009$ ) приказана је графикомом 5.

Графикон 5 –Вредности МСР-1(pg/ml) у трећем дану мерења према основном стању које се компликовало секундарном сепсом



Вредности свих измерених цитокина у трећем дану мерења према основном стању које се компликовало секундарном сепсом приказане су у табели 10.

Табела 10 - Концентрације цитокина у трећем дану мерења унутар група према основном стању које се компликовало секундарном сепсом

pg/ml	Основно стање које се компликовало секундарном сепсом			P	p вредност између група		
	Перитонитис	Панкреатитис	Траума		Пе-Па	Пе-Тр	Па-Тр
IL-1 $\beta$	327.7 (102.2-511.6)	186.3 (76.8-390.6)	311.4 (140.8-447.4)	0.141	0.065	0.590	0.120
TNF- $\alpha$	329.2 (97.9-753.2)	159.4 (69.9-343.3)	275.8 (72.4-437.1)	0.068	0.020*	0.267	0.230
IP-10	246.1 (56.3-594.7)	139.2 (33.2-302.4)	228.8 (31.2-353.9)	0.200	0.085	0.466	0.236
IL-8	276.4 (116.3-585.0)	145.5 (55.1-352.0)	218.9 (117.4-487.2)	0.194	0.120	0.874	0.095
IL-27	221.7 (66.3-593.2)	105.8 (39.4-263.7)	169.2 (59.1-298.6)	0.148	0.057	0.297	0.323
IL-33	218.6 (91.1-443.3)	126.4 (59.4-252.2)	188.4 (76.4-342.7)	0.126	0.050*	0.406	0.180
MIP-1 $\beta$	301.3 (145.6-704.5)	160.6 (108.7-405.1)	263.6 (127.3-487.0)	0.071	0.030*	0.639	0.070
IL-4	181.2 (30.7-336.8)	87.9 (28.8-220.5)	121.9 (32.6-249.6)	0.273	0.109	0.403	0.443
IL-17A	107.3 (37.5-316.9)	53.6 (26.8-167.2)	98.5 (34.9-233.3)	0.304	0.144	0.750	0.226
IL-6	686.6 (330.1-1098.1)	443.4 (199.3-670.7)	435.9 (232.2-966.1)	0.101	0.034*	0.191	0.489
IFN- $\gamma$	106.3 (27.5-273.3)	66.4 (24.8-140.4)	92.5 (38.4-130.2)	0.236	0.104	0.340	0.390
MIP-1 $\alpha$	193.0 (74.6-971.4)	113.4 (54.0-266.8)	151.9 (62.7-712.5)	0.307	0.126	0.566	0.338
IL-1 $\alpha$	190.0 (79.9-512.5)	94.2 (49.5-279.3)	180.0 (68.1-432.3)	0.238	0.111	0.912	0.163
IL-12p70	110.9 (35.8-256.0)	57.4 (23.7-140.8)	77.0 (28.6-125.9)	0.191	0.086	0.222	0.540
MCP-1	339.0 (98.7-942.5)	128.7 (69.8-406.4)	266.5 (73.2-726.2)	0.047*	0.009*	0.452	0.161
IL-10	61.1 (18.4-156.3)	31.0 (10.9-83.4)	45.6 (6.3-154.8)	0.207	0.060	0.512	0.373
IL-31	312.6 (174.8-601.6)	214.4 (129.0-507.1)	291.1 (187.0-500.7)	0.202	0.080	0.671	0.205
IL-13	410.1 (69.9-785.8)	84.8 (26.4-551.4)	214.0 (47.9-537.0)	0.189	0.069	0.379	0.344

У петом дану мерења ни код једног цитокина није показана значајна разлика у нивоима између група по основном стању које се компликовало секундарном сепсом.

#### 4.2.2 Поређење нивоа цитокина између временских интервала према основном стању које се компликовало секундарном сепсом

Поређење вредности цитокина између три временска интервала мерења у групи пацијената са перитонитисом и панкреатитисом доказало је да нема значајне разлике ни код једног од испитиваних цитокина. За разлику од група перитонитиса и панкреатитиса, у групи пацијената са траумом која се компликовала секундарном сепсом постоје статистички високо значајне разлике између интервала мерења код проинфламаторних IL-1 $\beta$  (p= 0,007), TNF- $\alpha$  (p= 0,002), IP 10 (p= 0,006), IL-8 (p= 0,039), MIP-1 $\beta$  (p= 0,025), IL-17A (p= 0,009), IFN- $\gamma$  (p= 0,019), MIP-1 $\alpha$  (p= 0,026), IL-1 $\alpha$  (p= 0,002), IL-12p70 (p= 0,025) и анти-инфламаторних IL-33 (p= 0,008), IL-10 (p= 0,045), IL-31(p= 0,002) и IL-13 (p= 0,034) цитокина.

Средњи нивои свих цитокина током периода праћења од првог до петог дана имали су тренд раста. Средњи нивои цитокина у три временска интервала мерења код групе са траумом која се компликовала секундарном сепсом приказане су у табели 11.

Табела 11- Средњи нивои цитокина у три временска интервала мерења код групе са траумом која се компликовала секундарном сепсом

pg/ml	Време мерења			P	p вредност између мерења		
	1. дан	3 дан	5 дан		1.-3.	1.-5.	3.-5.
IL-1 $\beta$	225.4 (49.0-426.1)	311.4 (140.8-447.4)	423.3 (99.5-788.5)	0.007*	0.090	0.034*	0.285
TNF- $\alpha$	193.6 (55.8-340.7)	275.8 (72.4-437.1)	472.4 (33.0-1012.0)	0.002*	0.041*	<0.001*	0.027*
IP-10	159.0 (40.2-418.6)	228.8 (31.2-353.9)	430.1 (96.6-886.7)	0.006*	0.154	0.004*	0.076
IL-8	203.3 (81.3-339.0)	218.9 (117.4-487.2)	502.4 (109.5-1011.0)	0.039*	0.111	0.003*	0.236
IL-27	121.6 (45.9-243.2)	169.2 (59.1-298.6)	299.6 (42.6-899.0)	0.051	0.309	0.009*	0.140
IL-33	132.2 (44.9-264.1)	188.4 (76.4-342.7)	314.4 (55.2-685.1)	0.008*	0.019*	0.003*	0.122
MIP-1 $\beta$	182.7 (119.4-369.2)	263.6 (127.3-487.0)	509.6 (168.5-738.9)	0.025*	0.026*	0.043*	0.645
IL-4	98.5 (24.5-174.0)	121.9 (32.6-249.6)	214.2 (3.8-524.1)	0.152	0.100	0.003*	0.043*
IL-17A	69.7 (33.7-144.8)	98.5 (34.9-233.3)	234.9 (25.2-514.6)	0.009*	0.015*	0.005*	0.215
IL-6	365.0 (198.9-1087.4)	435.9 (232.2-966.1)	773.9 (397.3-1088.1)	0.320	0.090	0.037*	0.209
IFN- $\gamma$	69.1 (21.7-114.9)	92.5 (38.4-130.2)	133.1 (25.4-360.3)	0.019*	0.020*	0.016*	0.179
MIP-1 $\alpha$	117.3 (59.8-322.4)	151.9 (62.7-712.5)	400.7 (60.0-1622.0)	0.026*	0.024*	0.015*	0.087
IL-1 $\alpha$	114.4 (49.4-279.2)	180.0 (68.1-432.3)	395.0 (49.2-836.0)	0.002*	0.006	<0.001*	0.261
IL-12p70	67.2 (25.3-107.2)	77.0 (28.6-125.9)	131.0 (13.3-484.1)	0.025*	0.137	0.002*	0.039*
MCP-1	142.2 (40.0-591.5)	266.5 (73.2-726.2)	581.4 (86.5-1278.4)	0.053	0.021*	0.011*	0.359
IL-10	34.5 (2.7-76.6)	45.6 (6.3-154.8)	86.7 (13.0-304.6)	0.045*	0.035*	0.004*	0.164
IL-31	209.2 (125.7-538.4)	291.1 (187.0-500.7)	557.9 (180.9-1166.5)	0.002*	0.065	0.005*	0.046*
IL-13	105.2 (37.8-367.0)	214.0 (47.9-537.0)	585.6 (25.1-1118.5)	0.034*	0.021*	0.003*	0.099



### 4.3. Поређење основних параметара према хемокултурама

Статистичка анализа је установила да нема значајне разлике у дистрибуцији полне и старосне структуре према налазу хемокултуре ( $p=0,164$ ). Учесталост дијагностичких група се не разликује значајно спрам хемокултура ( $p=0,338$ ), као ни учесталост исхода ( $p=0,489$ ). Медијана броја дана хоспитализације не разликује се статистички значајно према налазу хемокултуре ( $p=0,075$ ).

Поређење основних параметара према групама хемокултура приказано је у табели 12.

Табела 12- Поређење основних параметара према хемокултури

	Хемокултура				p
	Грам-позитивна	Грам-негативна	Полимикробна	Негативна	
Укупан број(%)	28 (22.6)	29 (23.4)	20 (16.1)	47 (37.9)	
Пол					
Мушки n (%)	22 (78.6)	22 (75.9)	12 (60.0)	27 (57.4)	0.164
Женски (%)	6 (21.4)	7 (24.1)	8 (40.0)	20 (42.6)	
Старост (године) Med (IQR)	53.0 (37.0-63.0)	60.0 (41.0-69.5)	63.0 (51.5-77.25)	65.0 (50.0-74.0)	0.091
Основно стање које се компликовало секундарном сепсом					
Перитонитис n (%)	12 (42.9)	9 (31.0)	6 (30.0)	24 (51.1)	0.338
Панкреатитис n (%)	5 (17.9)	8 (27.6)	7 (35.0)	13 (27.7)	
Траума n(%)	11 (39.3)	12 (41.4)	7 (35.0)	10 (21.3)	
Исход					
Умрли n(%)	11 (39.3)	7 (24.1)	8 (40.0)	19 (40.4)	0.489
Преживели n(%)	17 (60.7)	22 (75.9)	12 (60.0)	28 (59.6)	
Дужина хоспитализације (дани) Med (IQR)	24.0 (14.75-40.0)	28.0 (15.0-49.5)	22.5 (13.0-35.25)	17.0 (10.0-27.5)	0.075

#### 4.3.1 Медијатори инфламације у три временска интервала и природа бактеријемije

Поређењем средњих вредности цитокина у првом дану мерења према налазу изоловане хемокултуре установљено је да нема значајне разлике између група.

Када су упоређене средње вредности цитокина према природи бактеријемije у трећем дану мерења, идентификоване су значајне разлике између група за проинфламаторне IL-1 $\beta$  ( $p=0,009$ ), TNF- $\alpha$  ( $p=0,006$ ), IP 10 ( $p=0,031$ ), MIP-1 $\beta$  ( $p=0,003$ ), IL-17A ( $p=0,007$ ), IL-6 ( $p=0,004$ ), IFN- $\gamma$  ( $p=0,018$ ), MIP-1 $\alpha$  ( $p=0,002$ ), IL-1 $\alpha$  ( $p=0,010$ ), IL-12p70 ( $p=0,011$ ), MCP-1 ( $p=0,004$ ) и анти-инфламаторне цитокине IL-27 ( $p=0,005$ ), IL-33 ( $p=0,006$ ), IL-4 ( $p=0,021$ ), IL-10 ( $p=0,008$ ), IL-31 ( $p=0,029$ ), IL-13 ( $p=0,007$ ).

Средње вредности цитокина трећег дана мерења су биле значајно мање код полимикробних хемокултура у компарацији са концентрацијама цитокина код осталих испитиваних група.

Поређење цитокина у трећем дану мерења према налазу хемокултуре приказано је у табели 13 .

Табела 13- Поређење цитокина у трећем дану мерења према налазу хемокултуре

pg/ml	Хемокултура				P
	Грам-позитивна	Грам-негативна	Полимикробна	Негативна	
IL-1 $\beta$	258.4 (134.6-445.8)	308.8 (84.4-547.8)	80.6 (0.6-222.7)	372.0 (181.3-477.0)	0.009*
TNF- $\alpha$	258.8 (82.0-691.0)	212.8 (79.0-441.2)	74.4 (0.0-158.0)	345.2 (140.4-559.3)	0.006*
IP-10	166.4 (21.5-339.3)	252.0 (37.0-288.6)	44.6 (13.0-268.2)	244.4 (65.4-524.4)	0.031*
IL-8	186.8 (73.8-576.8)	208.8 (81.2-461.1)	109.9 (46.0-287.4)	287.8 (132.9-660.7)	0.065
IL-27	146.0 (49.1-430.4)	146.2 (73.6-322.8)	43.4 (4.4-100.4)	226.9 (75.8-495.8)	0.005*
IL-33	195.1 (76.2-313.6)	172.0 (79.4-347.9)	64.4 (10.3-122.2)	218.6 (124.7-412.8)	0.006*
MIP-1 $\beta$	263.6 (131.9-410.4)	281.2 (132.6-475.1)	116.6 (44.0-198.8)	323.8 (157.6-747.1)	0.003*
IL-4	127.6 (43.6-253.8)	80.2 (39.0-283.0)	37.7 (0.0-92.9)	186.6 (54.8-333.1)	0.021*
IL-17A	96.2 (37.2-226.2)	69.4 (43.0-302.8)	29.2 (0.9-56.7)	140.0 (48.3-300.8)	0.007*
IL-6	458.8 (247.9-857.6)	585.2 (352.9-1020.3)	173.8 (63.1-496.1)	658.1 (374.6-1098.1)	0.004*
IFN- $\gamma$	74.4 (41.0-137.8)	71.4 (40.7-175.9)	30.2 (0.0-71.0)	113.1 (48.9-199.8)	0.018*
MIP-1 $\alpha$	148.6 (49.9-462.4)	133.2 (72.8-852.4)	59.2 (20.1-103.3)	226.6 (112.5-1136.6)	0.002*
IL-1 $\alpha$	119.5 (43.4-364.0)	128.7 (71.7-504.8)	62.0 (8.5-146.3)	266.1 (97.4-500.5)	0.010*
IL-12p70	66.2 (23.1-147.2)	78.6 (35.5-155.7)	31.3 (0.0-65.1)	112.2 (41.0-182.5)	0.011*
MCP-1	221.2 (70.9-547.8)	212.2 (72.7-710.5)	80.4 (4.2-161.8)	424.1 (147.6-897.4)	0.004*
IL-10	46.4 (13.7-144.3)	30.8 (9.2-98.5)	14.4 (0.0-29.4)	73.2 (20.0-156.3)	0.008*
IL-31	270.8 (125.8-560.0)	285.3 (154.6-542.6)	171.2 (46.4-268.4)	345.2 (197.9-624.3)	0.029*
IL-13	214.0 (46.6-647.3)	173.2 (61.8-650.6)	42.0 (0.0-108.7)	416.4 (78.9-659.0)	0.007*

Општу значајност разлике измерених цитокина смо даље тестирали да утврдимо између којих група хемокултура постоји значајност разлике у вредностима испитиваних цитокина (табела 14).

Статистички знатно мање вредности код полимикробне спрам Грам - позитивне хемокултуре трећег дана мерења добијене су за проинфламаторне MIP-1 $\beta$ , IL-17A, IFN- $\gamma$ , MIP-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$  IL-12p70, IL-1 $\beta$ , MCP-1, IL-6 и анти-инфламаторне IL-13, IL-33, IL-4, IL-27, IL-10.

Статистички знатно мање вредности код полимикробне спрам Грам-негативне и негативне хемокултуре добијене су за све испитиване проинфламаторне и анти-инфламаторне цитокине, осим за IL-8, што је приказано табелом 14.

Табела 14- Нивои значајности статистичке разлике у средњим вредностима цитокина према групама хемокултура у трећем дану мерења

pg/ml	G+/P	G-/P	P/N
IL-1 $\beta$	0.011*	0.019*	0.001*
TNF- $\alpha$	0.009*	0.018*	0.001*
IP 10	0.262	0.047*	0.005*
IL-8	0.237	0.157	0.006*
IL-27	0.017*	0.009*	0.001*
IL-33	0.010*	0.016*	0.001*
MIP-1 $\beta$	0.006*	0.005*	0.001*
IL-4	0.011*	0.045*	0.002*
IL-17A	0.008*	0.012*	0.001*
IL-6	0.014*	0.004*	0.001*
IFN- $\gamma$	0.026*	0.024*	0.003*
MIP-1 $\alpha$	0.048*	0.016*	<0.001*
IL-1 $\alpha$	0.054	0.034*	0.001*
IL-12p70	0.024*	0.014*	0.001*
MCP-1	0.021*	0.032*	<0.001*
IL-10	0.015*	0.048*	0.001*
IL-31	0.081	0.050*	0.002*
IL-13	0.015*	0.016*	0.001*

Једини биомаркер који се издвојио са статистички значајно већим вредностима код негативне у односу на Грам-позитивну хемокултуру, био је MIP-1 $\alpha$  са нивоом значајности ( $p=0,048$ ). Вредности испитиваних цитокина нису се статистички значајно разликовале између Грам-позитивне и Грам-негативне хемокултуре, као ни између Грам-негативне и негативне хемокултуре.

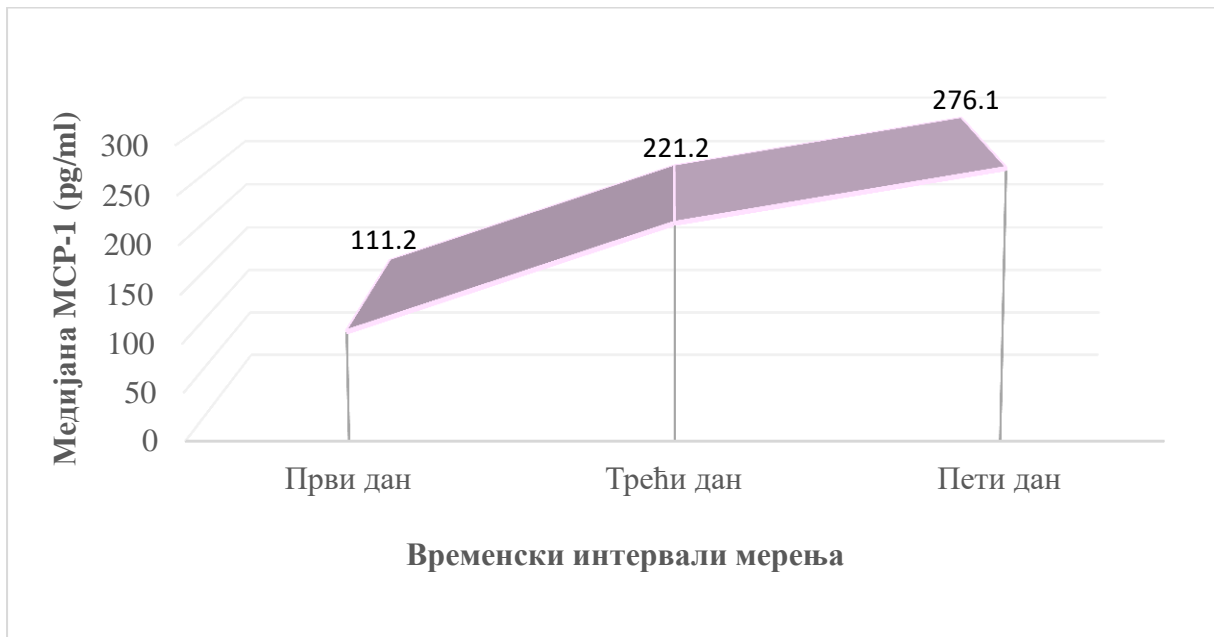
У петом дану мерења цитокини нису имали статистички значајну разлику према изолованој хемокултури.

#### 4.3.2 Поређење нивоа цитокина између временских интервала мерења према групама хемокултура

Статистичком анализом је установљено да нема значајне разлика између три интервала мерења код пацијената са Грам-позитивном хемокултуром, осим за MCP-1.

Код пацијената са Грам-позитивном хемокултуром вредности медијане разликују се статистички значајно у посматраним временима MCP-1 ( $p=0,047$ ) и статистички су знатно веће у трећем спрам првог дана мерења, међутим разлика није била значајна између других термина.

Графикон 6 - Вредности МСР-1(pg/ml) код пацијената са Грам-позитивном хемокултуром у односу на интервале мерења



За све цитокине који су поређени у три временска интервала код пацијената са Грам-негативном и полимикробном хемокултуром установљено је да нема значајне разлике.

Поређењем вредности цитокина у три временска интервала мерења код пацијената који су имали негативну хемокултуру установљено је да постоји значајна разлика код проинфламаторних IP 10 ( $p=0,031$ ), MIP-1 $\beta$  ( $p=0,003$ ), IL-17A ( $p=0,006$ ), MIP-1 $\alpha$  ( $p=0,005$ ), IL-1 $\alpha$  ( $p=0,050$ ), IL-12p70 ( $p=0,040$ ) и анти-инфламаторних цитокина IL-4 (0,034), IL-10 ( $p=0,023$ ), IL-31( $p=0,004$ ) и IL-13 ( $p=0,007$ ).

Код пацијената са негативном хемокултуром вредности наведених цитокина су знатно веће у трећем и петом дану мерења спрам првог дана, док разлика није била статистички значајна између трећег и петог дана мерења.

Поређење вредности цитокина у три временска интервала мерења код пацијената који су имали негативну хемокултуру приказано је у табели 15.

Табела 15- Поређење вредности цитокина у три временска интервала мерења код пацијената који су имали негативну хемокултуру

pg/ml	Интервали мерења			p	p вредност између интервала мерења		
	1. дан	3. дан	5. дан		1.-3.	1.-5.	3.-5.
IL-1 $\beta$	307.7 (85.3-533.5)	372.0 (181.3-477.0)	365.8 (126.8-527.8)	0.297	0.194	0.093*	0.823
TNF- $\alpha$	252.4 (107.6-448.9)	345.2 (140.4-559.3)	422.7 (114.7-825.1)	0.138	0.020*	0.029*	0.350
IP 10	174.6 (46.2-256.3)	244.4 (65.4-524.4)	307.8 (100.0-737.4)	0.031*	0.039*	0.021*	0.712
IL-8	211.0 (84.7-494.3)	287.8 (132.9-660.7)	301.8 (134.6-747.8)	0.061	0.030*	0.041*	0.648
IL-27	159.5 (51.9-299.6)	226.9 (75.8-495.8)	287.4 (68.4-726.9)	0.054	0.002*	0.006*	0.677
IL-33	201.7 (65.9-291.7)	218.6 (124.7-412.8)	308.1 (102.4-418.4)	0.125	0.004*	0.028*	0.707
MIP-1 $\beta$	233.4 (137.3-423.8)	323.8 (157.6-747.1)	429.1 (182.8-600.4)	0.003*	0.001*	0.010*	0.563
IL-4	128.9 (37.4-232.0)	186.6 (54.8-333.1)	213.1 (63.0-383.9)	0.034*	0.003*	0.006*	0.482
IL-17A	72.5 (33.1-208.3)	140.0 (48.3-300.8)	195.4 (37.9-381.0)	0.006*	0.010*	0.003*	0.347
IL-6	617.3 (254.6-1312.8)	658.1 (374.6-1098.1)	749.2 (304.2-1133.9)	0.102	0.034*	0.309	0.933
IFN- $\gamma$	77.9 (31.8-136.3)	113.1 (48.9-199.8)	122.1 (52.2-308.4)	0.187	0.002*	0.023*	0.861
MIP-1 $\alpha$	146.7 (58.6-305.0)	226.6 (112.5-1136.6)	510.6 (80.4-1148.0)	0.005*	0.001*	0.004*	0.667
IL-1 $\alpha$	137.6 (59.1-313.0)	266.1 (97.4-500.5)	287.6 (69.9-698.6)	0.050*	0.002*	0.003*	0.452
IL12p70	79.7 (30.3-128.7)	112.2 (41.0-182.5)	106.9 (45.0-273.8)	0.040*	0.001*	0.005*	0.436
MCP-1	263.6 (111.0-594.0)	424.1 (147.6-897.4)	601.6 (122.6-909.0)	0.099	0.005*	0.019*	1.00
IL-10	40.7 (14.4-85.7)	73.2 (20.0-156.3)	74.4 (15.4-226.8)	0.023*	0.003*	0.022*	0.802
IL-31	272.7 (152.4-477.4)	345.2 (197.9-624.3)	405.0 (202.6-704.7)	0.004*	0.005*	0.001*	0.426
IL-13	246.9 (42.2-468.8)	416.4 (78.9-659.0)	475.6 (80.9-961.1)	0.007*	0.001*	0.003*	0.354

#### 4.3.3 Предиктивна вредност цитокина трећег дана мерења у односу на хемокултуру

ROC анализа је урађена за све четири групе хемокултуре у трећем дану мерења како би се проценила предиктивна способност цитокина у односу на врсту бактеријског проузроковача. ROC анализа трећег дана мерења није показала статистичку значајност цитокина у предикцији Грам-позитивне, као ни Грам-негативне хемокултуре.

Сви испитивани биомаркери у трећем дану мерења су се издвојили као значајни предиктори полимикробне хемокултуре. Вредности AUC ROC за већину цитокина у трећем дану мерења су 0,7-0,8 што им даје добру дискриминаторну моћ. Као најјачи предиктор полимикробне хемокултуре издвојио се MIP-1 $\beta$ , AUC ROC износи 0,772 (95% интервал поверења 0,684-0,845),  $p < 0,001$ . Вредност MIP-1 $\beta$  мање од cut-of вредности (215,4 pg/ml) су добри предиктори полимикробне хемокултуре.

Предиктивна вредност цитокина у трећем дану мерења спрам полимикробне хемокултуре показана је табелом 16.

Табела 16- Предиктивна вредност цитокина у трећем дану мерења у односу на полимикробну хемокултуру

pg/ml	AUC ROC	вредност	95% Интервал поверења		Cutt-of вредност	Сензитивност (%)	Специфичност (%)	Youden индекс
			Доња граница	Горња граница				
IL-1 $\beta$	0.752	<0.001*	0.663	0.828	248.9	87.5	58.6	0.46
TNF- $\alpha$	0.754	<0.001*	0.665	0.830	159.6	81.2	67.7	0.49
IP 10	0.684	0.004*	0.591	0.768	68.9	68.7	71.7	0.40
IL-8	0.669	0.011*	0.575	0.754	155.9	68.7	63.6	0.32
IL-27	0.757	<0.001*	0.668	0.832	104.2	81.2	68.7	0.50
IL-33	0.755	<0.001*	0.666	0.831	165.9	87.5	61.6	0.49
MIP-1 $\beta$	0.772	<0.001*	0.684	0.845	215.4	87.5	65.7	0.53
IL-4	0.730	<0.001*	0.639	0.808	96.9	81.2	60.6	0.42
IL-17A	0.759	<0.001*	0.670	0.834	65.1	87.5	59.6	0.47
IL-6	0.760	<0.001*	0.672	0.835	205.0	62.5	86.9	0.49
IFN- $\gamma$	0.727	<0.001*	0.636	0.806	59.3	75.0	67.7	0.43
MIP-1 $\alpha$	0.751	<0.001*	0.661	0.827	110.5	81.2	70.7	0.52
IL-1 $\alpha$	0.733	<0.001*	0.642	0.811	82.7	68.7	72.7	0.41
IL12p70	0.739	<0.001*	0.649	0.817	70.0	87.5	56.6	0.44
MCP-1	0.748	<0.001*	0.658	0.824	167.5	81.2	63.6	0.45
IL-10	0.734	<0.001*	0.643	0.812	30.4	81.2	64.6	0.46
IL-31	0.711	<0.001*	0.620	0.792	200.3	75.0	71.7	0.47
IL-13	0.752	<0.001*	0.663	0.828	114.2	81.2	63.6	0.45

Сви биомаркери трећег дана мерења су се издвојили као значајни предиктори негативне хемокултуре. Вредности AUC ROC за ове биомаркере су биле 0,6-0,7. Као најјачи предиктор негативне хемокултуре издвојио се MIP-1 $\alpha$  чије су вредности веће од cut-of вредности (176,3 pg/ml ) добри предиктори негативне хемокултуре.

Предиктивна вредност цитокина у односу на негативну хемокултуру приказана је табелом 17.

Табела 17- Предиктивна вредност цитокина у односу на негативну хемокултуру

pg/ml	AUC ROC	p вредност	95% Интервал поверења		Cutt-of вредност	Сензитивност (%)	Специфичност (%)	Youden индекс
			Доња граница	Горња граница				
IL-1 $\beta$	0.610	0.046*	0.515	0.700	292.4	60.5	62.5	0.23
TNF- $\alpha$	0.616	0.036*	0.520	0.705	221.7	69.8	56.9	0.27
IP 10	0.614	0.039*	0.518	0.703	34,1	88,4	33,3	0.22
IL-8	0.622	0.026*	0.527	0.711	233.8	62.8	59.7	0.23
IL-27	0.633	0.015*	0.538	0.721	169.1	67.4	65.3	0.33
IL-33	0.627	0.020*	0.532	0.716	123.1	76.7	47.2	0.24
MIP-1 $\beta$	0.631	0.017*	0.536	0.719	397.0	48.8	79.2	0.28
IL-4	0.605	0.057	0.510	0.695	133.0	62.8	62.5	0.25
IL-17A	0.610	0.046*	0.515	0.700	97.9	58.1	62.5	0.21
IL-6	0.626	0.022*	0.531	0.714	350.8	81.4	41.7	0.23
IFN- $\gamma$	0.618	0.032*	0.523	0.707	100.6	62.8	66.7	0.30
MIP-1 $\alpha$	0.669	0.002*	0.576	0.754	176.3	69.8	65.3	0.35
IL-1 $\alpha$	0.635	0.014*	0.540	0.722	189.2	65.1	66.7	0.32
IL12p70	0.620	0.029*	0.525	0.709	82.4	65.1	63.9	0.29
MCP-1	0.649	0.006*	0.555	0.736	116.9	81.4	45.8	0.27
IL-10	0.632	0.016*	0.537	0.720	61.4	58.1	68.1	0.26
IL-31	0.615	0.038*	0.519	0.704	163.4	90.7	31.9	0.23
IL-13	0.623	0.025*	0.528	0.711	257.4	67.4	63.9	0.31

#### 4.4 Поређење основних параметара према исходу болести

Статистичка анализа је установила да нема значајне разлике у дистрибуцији полне и старосне структуре, основног стања које се компликовало секундарном сепсом и хемокултура према исходу. Медијана дужине хоспитализације преживелих болесника има значајно веће вредности у односу на болеснике који су умрли ( $p < 0,01$ ).

Поређење основних параметара према исходу болести приказано је у табели 18.

Табела 18- Поређење основних параметара према исходу болести

	Исход		p вредност
	Умрли	Преживели	
Укупан број (%)	46 (36.8)	79 (63.2)	
Пол			
Мушки n(%)	28 (60.9)	56 (70.9)	0.250
Женски n(%)	18 (39.1)	23 (29.1)	
Старост (године) Med (IQR)	64.0 (53.2-72.5)	58.0 (38.0-71.0)	0.064
Основно сатање које се компликовало секундарном сепсом			
Перитонитис n(%)	17 (37.0)	34 (43.0)	0.114
Панкреатитис n(%)	17 (37.0)	16 (20.3)	
Траума n(%)	12 (26.1)	29 (36.7)	
Хемокултура			
Грам-позитивна n(%)	11 (24.4)	17 (21.5)	0.489
Грам-негативна n(%)	7 (15.6)	22 (27.8)	
Полимикробна n(%)	8 (17.8)	12 (15.2)	
Негативна n(%)	19 (42.2)	28 (35.4)	
Дужина хоспитализације (дани) Med (IQR)	14.5 (7.8-25.2)	26.0 (16.0-41.0)	<0.001*

##### 4.4.1 Вредности цитокина у три временска интервала мерења према исходу

Статистичка анализа је установила да нема значајне разлике поређењем средњих вредности цитокина према исходу (преживео, умро) у прва два временска интервала мерења. До значајно веће разлике долази тек у петом дану мерења.

У том интервалу мерења вредности следећих цитокина биле су значајно веће у преживелих спрам умрлих: IL-1, IP-10, IL-8, IL-27, IL-33, MIP-1 $\beta$ , IL-4, IL-17A, IFN- $\gamma$ , MIP-1 $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-12p70, IL-31 и IL-13, што је показано табелом 19.

Табела 19- Вредности цитокина петог дана мерења према исходу

pg/ml	Исход		Р вредно ст
	Умрли	Преживели	
IL-1 $\beta$	176.4 (69.0-375.2)	382.7 (99.5-714.5)	0.028*
TNF- $\alpha$	154.2 (24.2-523.9)	422.7 (75.4-860.0)	0.055
IP 10	88.4 (19.5-490.6)	332.9 (96.6-717.1)	0.014*
IL-8	124.6 (55.5-488.5)	403.0 (108.4-846.8)	0.021*
IL-27	89.0 (13.0-322.1)	277.8 (62.7-676.3)	0.022*
IL-33	103.2 (28.9-350.6)	301.2 (80.2-531.4)	0.012*
MIP-1 $\beta$	151.4 (97.5-439.9)	446.4 (159.1-637.3)	0.026*
IL-4	101.8 (0.0-217.4)	207.0 (47.2-443.6)	0.043*
IL-17A	51.6 (13.6-238.3)	195.4 (37.1-450.8)	0.017*
IL-6	536.1 (164.5-1138.7)	693.8 (249.6-1020.3)	0.684
IFN- $\gamma$	58.8 (10.9-121.0)	122.2 (33.0-257.8)	0.038*
MIP-1 $\alpha$	98.2 (50.8-554.8)	237.0 (76.4-1127.8)	0.042*
IL-1 $\alpha$	89.5 (36.1-300.2)	352.9 (67.0-697.7)	0.025*
IL-12p70	45.8 (2.8-109.1)	112.9 (38.9-379.7)	0.012*
MCP-1	159.6 (67.3-735.0)	501.3 (83.4-884.5)	0.325
IL-10	30.3 (0.0-124.2)	65.8 (13.0-65.8)	0.181
IL-31	154.2 (83.8-487.5)	471.0 (226.0-904.1)	0.002*
IL-13	89.0 (7.6-526.7)	475.6 (52.6-990.3)	0.032*

#### 4.4.2 Поређење вредности цитокина између временских интервала мерења према исходу

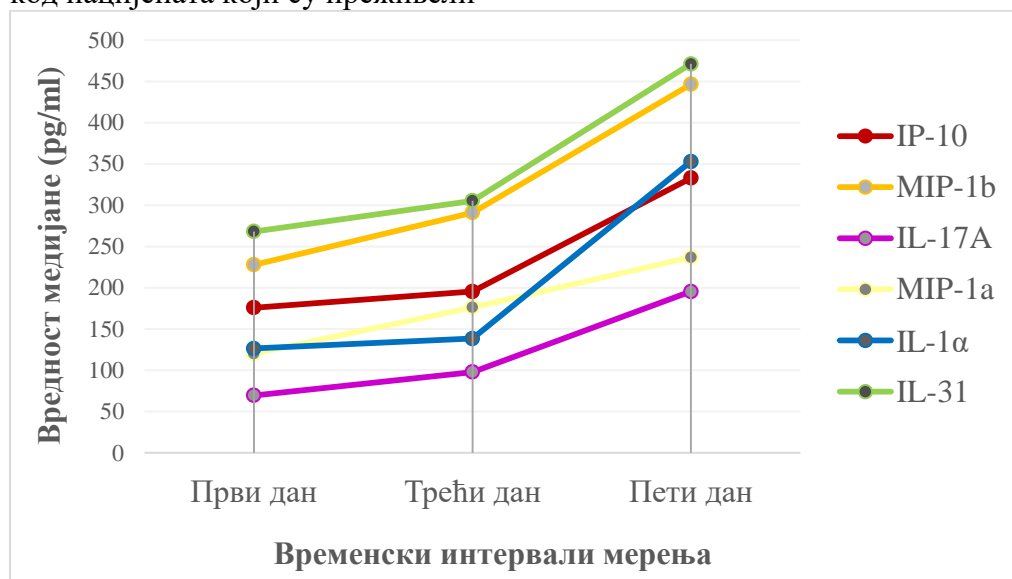
Вредности испитиваних цитокина нису се статистички значајно разликовале између три временска интервала код умрлих.

Поређењем вредности цитокина између три временска интервала код пацијената који су преживели значајне разлике су постојале код биомаркера приказаних графиком 7.

Општи тренд је да нивои биомаркера расту у посматраном временском интервалу мерења од првог ка петом дану.



Графикон 7- Поређење вредности цитокина између три временска интервала мерења код пацијената који су преживели



#### 4.4.3 Вредности цитокина у предикцији леталног исхода

ROC анализа је урађена за све пацијенте према исходу, у сва три временска интервала мерења. Цитокини нису били добри предиктори леталног исхода првог, као ни трећег дана мерења. Тек петог дана мерења ROC анализа је издвојила статистички значајне предикторе леталног исхода (табела 20), чије су AUC ROC вредности од 0,6 умерене поузданости за дискриминацију.

Табела 20- AUC ROC петог дана мерења у предикцији леталног исхода

	AUC ROC	p вредност	95% Интервал поверења		Cutt-of вредност	Сензитивност (%)	Специфичност (%)	Youden индекс
			Доња граница	Горња граница				
IL-1β	0.631	0.017*	0.535	0.720	356.0	51.9	76.5	0.28
TNF-α	0.614	0.041*	0.518	0.704	307.3	57.0	67.6	0.25
IP 10	0.647	0.007*	0.551	0.734	218.3	62.0	67.6	0.30
IL-8	0.637	0.012*	0.541	0.725	186.7	68.4	61.8	0.30
IL-27	0.636	0.012*	0.541	0.725	92.0	72.2	55.9	0.28
IL-33	0.650	0.006*	0.554	0.737	183.7	64.6	64.7	0.29
MIP-1β	0.633	0.016*	0.537	0.721	217.3	68.4	61.8	0.30
IL-4	0.620	0.031*	0.524	0.710	226.8	46.8	79.4	0.26
IL-17A	0.641	0.009*	0.546	0.729	63.8	67.1	58.8	0.26
IL-6	0.524	0.682	0.428	0.619	759.7	44.3	70.6	0.15
IFN-γ	0.624	0.025*	0.528	0.713	116.9	53.2	76.5	0.30
MIP-1α	0.621	0.029*	0.525	0.711	207.9	55.7	73.5	0.29
IL-1α	0.633	0.015*	0.537	0.722	300.2	53.2	79.4	0.33
IL12p70	0.649	0.006*	0.553	0.736	106.9	53.2	76.5	0.30
MCP-1	0.558	0.314	0.462	0.652	380.0	57.0	67.6	0.25
IL-10	0.579	0.167	0.483	0.672	17.2	72.2	47.1	0.19
IL-31	0.681	<0.001*	0.587	0.766	324.9	59.5	73.5	0.33
IL-13	0.628	0.020*	0.532	0.717	96.4	70.9	55.9	0.27

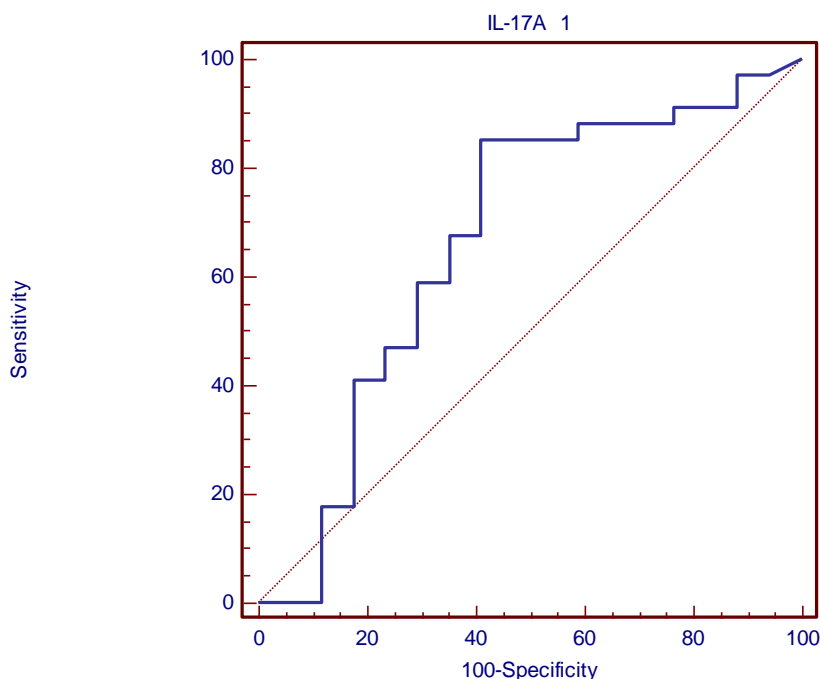
#### 4.5 Цитокини као предиктори леталног исхода према основном обољењу које се компликовало секундарном сепсом (перитонитис, панкреатитис, траума)

Вредности цитокина као предиктора леталног исхода према основном обољењу које се компликовало секундарном сепсом испитиване су у првом интервалу мерења за све три групе пацијената.

##### 4.5.1 Цитокини као предиктори леталног исхода код пацијената са секундарном сепсом порекла перитонитиса

Код пацијената код којих је секундарна сепса настала као компликација перитонитиса, једини значајан предиктор леталног исхода у првом дану мерења је био IL-17A, AUR ROC 0,665 (95% интервал поверења 0,519-0,791;  $p=0,034$ ). Вредности IL-17A у првом дану мерења мање од cut-of вредности (43,2 pg/ml) су умерени предиктори леталног исхода код ове групе пацијената.

Графикон 8- AUC ROC крива за IL-17A у предикцији леталног исхода код пацијената код којих је секундарна сепса настала као компликација панкреатитиса у првом дану мерења.



##### 4.5.2 Цитокини као предиктори леталног исхода код пацијената са секундарном сепсом порекла панкреатитиса

Код пацијената код којих је секундарна сепса настала као компликација панкреатитиса, ни један од испитиваних цитокина није имао статистички значајну дискриминаторну моћ у погледу леталног исхода (табела 21).

Табела 21- AUC ROC крива за предикцију леталног исхода код пацијената код којих је секундарна сепса настала као компликација панкреатитиса

pg/ml	AUC ROC	p вредност	95% Интервал		Cut-off вредност	Сензитивност (%)	Специфичност (%)	Youden индекс
			поверења					
			Доња граница	Горња граница				
IL-1 $\beta$	0.544	0.664	0.362	0.718	372.9	87.5	29.4	0.17
TNF- $\alpha$	0.511	0.914	0.332	0.688	689.0	100.0	11.8	0.12
IP 10	0.533	0.745	0.352	0.708	14.9	25.0	94.1	0.19
IL-8	0.507	0.943	0.328	0.685	130.5	43.7	70.6	0.14
IL-27	0.482	0.857	0.305	0.662	40.6	68.7	47.1	0.16
IL-33	0.504	0.971	0.325	0.682	74.0	62.5	52.9	0.15
MIP-1 $\beta$	0.535	0.732	0.354	0.710	143.0	62.5	58.8	0.21
IL-4	0.529	0.773	0.349	0.705	158.2	87.5	35.3	0.23
IL-17A	0.529	0.773	0.349	0.705	13.0	31.2	88.2	0.19
IL-6	0.640	0.150	0.455	0.799	286.1	43.7	88.2	0.32
IFN- $\gamma$	0.544	0.664	0.362	0.718	122.1	93.7	29.4	0.23
MIP-1 $\alpha$	0.561	0.548	0.378	0.732	98.6	68.7	52.9	0.22
IL-1 $\alpha$	0.537	0.718	0.355	0.711	32.1	31.2	82.4	0.14
IL12p70	0.551	0.611	0.369	0.724	150.6	100.0	17.6	0.18
MCP-1	0.636	0.162	0.451	0.796	51.0	37.5	88.2	0.26
IL-10	0.583	0.409	0.399	0.751	43.9	87.5	47.1	0.35
IL-31	0.562	0.537	0.380	0.734	124.2	81.2	35.3	0.17
IL-13	0.531	0.759	0.350	0.706	339.0	87.5	29.4	0.17

#### 4.5.3 Цитокини као предиктори леталног исхода код пацијената са секундарном сепсом порекла трауме

Код пацијената код којих је секундарна сепса настала као компликација трауме, ни један од испитиваних цитокина није имао статистички значајну дискриминаторну моћ у погледу леталног исхода, што је показано табелом 22.

Табела 22- AUC ROC крива за предикцију леталног исхода код пацијената код којих је секундарна сепса настала као компликација трауме

pg/ml	AUC ROC	P вредност	95% Интервал		Cut-off вредност	Сензитивност (%)	Специфичност (%)	Youden индекс
			поверења					
			Доња граница	Горња граница				
IL-1 $\beta$	0.497	0.976	0.335	0.659	144.9	46.4	75.0	0.21
TNF $\alpha$	0.515	0.883	0.352	0.676	103.4	39.3	75.0	0.14
IP 10	0.530	0.769	0.366	0.689	135.1	50.0	66.7	0.17
IL-8	0.610	0.246	0.443	0.760	263.6	46.4	91.7	0.38
IL-27	0.521	0.835	0.357	0.681	320.0	21.4	100.0	0.21
IL-33	0.555	0.577	0.390	0.712	279.3	28.6	100.0	0.29
MIP-1 $\beta$	0.560	0.545	0.394	0.716	195.3	53.6	75.0	0.29
IL-4	0.510	0.918	0.348	0.672	47.2	46.4	75.0	0.21
IL-17A	0.564	0.514	0.398	0.720	201.8	25.0	100.0	0.25
IL-6	0.525	0.803	0.362	0.685	1925.4	96.4	25.0	0.21
IFN- $\gamma$	0.522	0.826	0.359	0.682	47.7	46.4	75.0	0.21
MIP-1 $\alpha$	0.543	0.671	0.378	0.701	65.8	39.3	83.3	0.23
IL-1 $\alpha$	0.524	0.814	0.360	0.684	66.0	46.4	75.0	0.21
IL12p70	0.515	0.883	0.352	0.676	43.9	46.4	75.0	0.21
MCP-1	0.524	0.814	0.360	0.684	116.9	50.0	75.0	0.25
IL-10	0.527	0.789	0.363	0.686	223.1	17.9	100.0	0.18
IL-31	0.574	0.446	0.408	0.729	609.1	28.6	100.0	0.29
IL-13	0.519	0.847	0.356	0.680	452.0	21.4	100.0	0.21

#### 4.6 Цитокини као предиктори леталног исхода према врстама бактеријског проузроковача

Вредности цитокина као предиктора леталног исхода према врстама бактеријског проузроковача испитиване су ROC анализом у трећем дану мерења за све четири групе.

Код пацијената са Грам-позитивном, полимикробном и негативном хемокултуром цитокини у трећем дану мерења се нису издвојили као статистички значајни за дискриминацију између умрлих и преживелих болесника.

Код пацијената са Грам-негативном хемокултуром, сви биомаркери су били статистички значајни предиктори леталног исхода, осим IL-6, AUC ROC износи 0,051, ( $p=0,694$ ). Вредности AUC ROC за све остале биомаркере у трећем дану мерења биле су 0,7-0,8, и приказане су у табели 23. Као најјачи предиктор леталног исхода издвојио се MIP-1 $\alpha$ , AUC ROC износи 0,796. Вредности MIP-1 $\alpha$  у трећем дану мерења, мање од cutt-of вредности (79,0 pg/ml) су добри предиктори леталног исхода код пацијената са Грам-негативном хемокултуром.

Табела 23 - Предикција леталног исхода трећег дана мерења цитокина код пацијената са Грам-негативном хемокултуром

pg /ml	AUC ROC	p вредност	95% Интервал поверења		Cutt-of вредност	Сензитивност (%)	Специфичност (%)	Youden индекс
			Доња граница	Горња граница				
IL-1 $\beta$	0.776	0.003*	0.579	0.910	241.5	66.7	85.7	0.52
TNF- $\alpha$	0.755	0.009*	0.557	0.896	139.6	76.2	71.4	0.48
IP 10	0.762	0.006*	0.564	0.901	30.4	90.5	57.1	0.48
IL-8	0.728	0.026*	0.528	0.877	114.0	81.0	71.4	0.52
IL-27	0.755	0.009*	0.557	0.896	107.3	76.2	71.4	0.48
IL-33	0.789	0.001*	0.594	0.919	123.1	71.4	85.7	0.57
MIP-1 $\beta$	0.755	0.009*	0.557	0.896	215.0	81.0	71.4	0.52
IL-4	0.762	0.006*	0.564	0.901	60.7	76.2	71.4	0.48
IL-17A	0.772	0.004*	0.575	0.908	60.4	66.7	85.7	0.52
IL-6	0.551	0.694	0.353	0.738	1020.3	85.7	42.9	0.29
IFN- $\gamma$	0.776	0.003*	0.579	0.910	61.2	66.7	85.7	0.52
MIP-1 $\alpha$	0.796	<0.001*	0.602	0.923	79.0	85.7	71.4	0.57
IL-1 $\alpha$	0.782	0.002*	0.587	0.914	102.0	71.4	85.7	0.57
IL12p70	0.776	0.003*	0.579	0.910	68.5	66.7	85.7	0.52
MCP-1	0.759	0.007*	0.560	0.898	111.8	71.4	85.7	0.57
IL-10	0.748	0.012*	0.549	0.891	28.3	71.4	85.7	0.57
IL-31	0.762	0.006*	0.564	0.901	183.2	85.7	71.4	0.57
IL-13	0.782	0.002*	0.587	0.914	89.7	71.4	85.7	0.57

*AUC ROC- Area under ROC curve*

## **5. ДИСКУСИЈА**

У данашње време све је више аргумената да већина болесника са сепсом не умире због нерегулисаног, прекомерног проинфламаторног одговора, већ подлежу болести због настанка стања имуносупресије. Иако контрола инфекције и супортитивна терапија и даље остају главни терапијски правац у раним фазама сепсе, постоји растући тренд према имуномодулацији код болесника код којих је наступила имуносупресија. Напредак у терапијским мерама подршке органским системима код животно угрожених болесника са сепсом и/или траумом довео је до тога да се њихово тридесетодневно преживљавање побољша (119). То је показало да се изменио имуноинфламаторни одговор код ове категорије пацијената.

Раније се сматрало да је проинфламаторни одговор генератор раног морталитета (у првих неколико дана), а да компензаторни анти-инфламаторни одговор индукује оштећење органа, имуносупресију и морталитет након неколико недеља. Нова истраживања су показала да дуготрајни и симултани проинфламаторни и анти-инфламаторни одговор, у чијој основи су дисфункционални урођен и супримиран стечени имунитет, кулминира перзистентним оштећењем органа и смртним исходом (85,120). Раније је постојала бифазна дистрибуција морталитета код критично оболелих са сепсом, са првим пиком због неадекватне иницијалне терапијске подршке кардиоваскуларном и респираторном систему до кога долази у прве две недеље, а другим због перзистентне дисфункције органа најчешће у трећој и четвртој недељи болести. Као резултат истраживачког фокуса на имунски одговор у популацији критично оболелих, чињенице да је та популација све старија и да тридесетодневни морталитет не одражава стварно стање ствари, искристалисао се нови модел дистрибуције морталитета. У новој, тримодалној дистрибуцији морталитета и даље постоје два пика, али су слабијег интензитета него раније. Трећи, највећи пик морталитета почиње након два до три месеца од почетка сепсе и нагло се повећава са протоком времена (121). У тој одложеној, касној смрти критично оболелог веома значајну улогу има имунска дисфункција.

По питању већ описаног имунског одговора код критично оболелих са сепсом у литератури постоје различити подаци па је због тога ово актуелан фокус истраживања. Колико је ово значајан проблем показује и чињеница да је у нову дефиницију сепсе (SEPSIS-3) из 2016. године уведен термин „дисрегулација имунског одговора“ (19) где се сепса дефинише као животно угрожавајућа дисфункција органа проузрокована дисрегулацијом одговора домаћина на инфекцију. Овај проблем је комплексан јер постоји подгрупа пацијената са сепсом код којих доминира проинфламаторни имунски одговор као и већи део пацијената код којих се дисрегулација имунског одговора манифестује имуносупресијом. Да би се ове две категорије пацијената разликовале, неопходан је мониторинг имунског фенотипа сваког појединачног пацијента што би помогло жељеном индивидуалном терапијском приступу имуномодулацији (122,123).

Наведених осамнаест медијатора у досадашњим истраживањима нису евалуирани истовремено, а тек треба истражити њихов међусобни однос у стању хроничне критичне болести. Наша проспективна опсервациона студија фокусира се на истовремено мерење про- и анти-инфламаторних цитокина у добро дефинисаним популацијама животно угрожавајућих болесника са тешком секундарном сепсом као компликацијом перитонитиса, панкреатитиса или трауме, како бисмо минимизирали разлике у хетерогености које су наглашене код сепсе. Истовремена процена већег броја цитокина у сепси у различитим временским интервалима може да идентификује комплексне цитокинске обрасце (124) који одражавају имунски одговор критично

оболелих пацијената. Појава мултиплексног тестирања омогућила је проучавање ширег имуно-инфламаторног одговора и ова нова техника је предложена као потенцијално дијагностичко средство за сепсу због могућности да карактерише специфичне подгрупе пацијената са сепсом (15). Обрасци про- и анти-инфламаторних цитокина код пацијената са сепсом су широко проучавани у предходном студијама (52,124,125,126).

У нашем истраживању цитокински профил код пацијената са сепсом као компликацијом перитонитиса показао је значајно веће вредности и про- (TNF- $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IP 10 IFN- $\gamma$ , MCP-1) и анти-инфламаторних цитокина (IL-27, IL-33, IL-10) спрам пацијената са сепсом код тешког панкреатитиса у првом дану мерења. Ни за један од процењених цитокина концентрација није била значајно нижа у групи секундарне сепсе која је настала као компликација трауме у односу на средње нивое код интраабдоминалне сепсе. Примећено је рано повећање и истовремена секреција и про- и анти-инфламаторних цитокина, које чине део раног и истовременог имуно - инфламаторног одговора и подржавају хипотезу да се лучење про- и анти-инфламаторних цитокина у септичком шоку јавља као симултани програм имуног одговора који је покренут рано у току болести, што је у складу са литературом (85).

Секундарни перитонитис изазива системски инфламаторни одговор који карактерише мултимодална имунолошка каскада праћена повећањем различитих нивоа про- и анти-инфламаторних медијатора у плазми (127). IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  су идентификовани као примарни посредници и рани регулатори имуно-инфламаторног одговора код ових пацијената. Ови медијатори индукују ослобађање и осталих про- и анти-инфламаторних цитокина, као што су MCP-1, IL-8, IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$  (128). Занимљиво је да је MCP-1 једини цитокин који је у трећем дану мерења у нашој студији задржао високо статистички изражену разлику код болесника са сепсом порекла перитонитиса у односу на секундарну сепсу порекла панкреатитиса. MCP-1 је моћан хемоатрактант мононуклеарних ћелија и регулаторни посредник у сепси, који је истраживан у експерименталним моделима септичког перитонитиса на мишевима. Налази групе аутора сугеришу да ендогени MCP-1 утиче на равнотежу цитокина у ткивима у корист антиинфламаторних и цитокина који побољшавају имунитет, вероватно штитећи домаћина од оштећења ткива/органа током сепсе (129). Неколико клиничких извештаја је указало на повећан ниво MCP-1 код септичних пацијената (124,130). Ким и аутори су истраживали експресију MCP-1 и IL-10 код пацијената са цирозом јетре и спонтаним бактеријским перитонитисом и закључили су да нивои ових цитокина могу бити повезани са клиничким током бактеријског перитонитиса (131).

Мало информација је доступно у вези са динамиком профила цитокинског серума код хомогених кохорти пацијената код којих је секундарна сепса настала као компликација секундарног перитонитиса, тешког панкреатитиса или трауме. Риче и коаутори анализирали су профиле цитокина код 52 пацијената са септичким шоком изазваним секундарним перитонитисом, са циљем да процене цитокински одговор у хомогеној групи пацијената (132). Они су показали да је дошло до системског ослобађања TNF- $\alpha$  и IL-6 код ових пацијената, чији су се нивои значајно смањили између првог и трећег дана мерења, за разлику од наших резултата, где су наредним мерењима није запажено статистички значајно смањење. Иста група аутора је у касније објављеној студији испитала профиле цитокина (IL-1, IL-10, IL-6, IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ ) у перитонеуму и плазми пацијената са секундарним перитонитисом. Виши нивои свих цитокина су примећени у плазми пацијената са најтежом формом болести, али се та разлика није одразила на перитонеалну течност иако је увек постојао велики градијент у концентracији

citoкина између перитонеалног и плазма компартмента, наглашавајући важност компартментализације имунолошког одговора код перитонитиса (133).

Друга група аутора спровела је студију динамике медијатора имуног одговора код дифузног перитонитиса у којој су доказали висок ниво проинфламаторних citoкина (IL-6 и TNF- $\alpha$ ) које су одржане трећег, као и седмог дана, што је у сагласности са резултатима нашег истраживања, код пацијената који су касније имали неповољну еволуцију ка септичним компликацијама (134).

Клиничке студије су доказале да масиван системски инфламаторни одговор, а не панкреатитис сам по себи, индукује МОДС-а и смртни исход у случајевима тешког некротизирајућег панкреатитиса. У току прве недеље долази до отказивања више органа као последица синдрома системског инфламаторног одговора, а отказивање органа које се јавља после прве недеље болести обично је последица септичких компликација, које настају услед инфициране панкреасне некрозе. Ово је познато као „други удар“ у коме инфламаторни одговор активира инвазивна инфекција. Имуноски одговор и накнадна сепса у овом моменту нису довољно разјашњене, јер тренутне клиничке процене тежине само стратификују 60-80% пацијената, што наглашава недостатак у нашем разумевању патофизиологије болести (135). Динамичке нивое citoкина код тешког панкреатитиса који се компликовао инфекцијим проучавао је Shen (136) са групом аутора и дошао до закључка да су нивои проинфламаторних citoкина у односу на прво мерење били већи трећег и седмог дана, а мањи четрнаестог дана, док су анти-инфламаторни citoкини веће нивое имали седмог и четрнаестог дана. У групи наших пацијената са сепсом која је настала као компликација панкреатитиса, иако су средњи нивои citoкина имали тренд раста од првог ка трећем дану мерења, они нису постигли статистичку значајност. Према томе, поновљеним мерењима у трећем и петом дану у нашем истраживању нису примећене статистички значајне разлике између одређених дана мерења код проинфламаторних, као ни код анти-инфламаторних citoкина.

Иако ни за један од процењених citoкина концентрација није била значајно нижа у групи секундарне сепсе која је настала као компликација трауме у односу на добијене вредности код интраабдоминалне сепсе, у групи пацијената са траумом која се компликовала секундарном сепсом установили смо високо значајне разлике између свих интервала мерења за 14 од 18 испитиваних citoкина код следећих проинфламаторних: IL-1 $\beta$ , IP 10, TNF- $\alpha$ , IL-8, MIP-1 $\beta$ , IL17A, IFN- $\gamma$ , MIP-1 $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-12p70, и анти-инфламаторних citoкина: IL-33, IL-10, IL-31, IL-13. Средњи нивои концентрација ових citoкина током периода праћења од првог до петог дана имали су тренд раста. Велики број студија је показао да траума резултује дубоком имunosупресијом која пацијенте предиспонира ка настанку септичких компликација (137,138).

Бројни citoкини су у различитим студијама анализирани као рани предиктори развоја сепсе код пацијената са траумом (139,140,141). Међутим, иако је пријављено око 180 биомаркера за сепсу, студија спроведених са биомаркерима за посттрауматску сепсу је мало, а резултати истраживања су контроверзни (142). Засад нисмо нашли податке у литератури које бисмо упоредили са нашим резултатима истраживања. Група аутора (138) наводи да су имунолошки механизми који посредују у преласку трауме у тешку сепсу углавном непознати, те да је прелазак у тешку сепсу праћен појачаном производњом TNF- $\alpha$ . Динамика производње citoкина имала је тренд раста од првог ка петом дану у групи секундарне сепсе која је настала као компликација трауме у нашем истраживању, а нивои ових citoкина нису биле нижи у односу на секундарну сепсу порекла перитонитиса или панкреатитиса.



Иако међународне смернице у вези са лечењем тешке сепсе и септичког шока не узимају у обзир тип узрочника патогена, ин витро подаци сугеришу да постоје бројне разлике у профилима цитокина и стопама морталитета између подкласа као што су Грам-негативне и Грам позитивне бактерије (143). Бројне студије су показале да на профил цитокина код критично оболелих значајно утиче врста бактеријског узрочника (14,144). Међутим, иако постоји значајан проценат микробиолошки недокументованих инфекција (145), у нама доступној литератури нисмо пронашли студију код критично оболелих пацијената на интензивној нези која је известила о профилу цитокина у негативним хемокултурама. Само једна студија је информисала о мерењу цитокина у негативним хемокултурама код пацијената са сепсом у одељењу хитне помоћи (146). Ова проспективно опсервационо истраживање је имало циљ да истражи да ли се нивои инфламаторних медијатора у плазми разликују између пацијената са сепсом са бактеријемом и оних без бактеријемје током почетне фазе хоспитализације. Укупно 80 пацијената било је подељено у две главне подгрупе, на основу чињенице да ли се бактеријемја могла открити или није. Узорци плазме у овој студији сакупљени су у року од 24 сата (најчешће 3 ч) од хоспитализације и мерени само у овом интервалу. Аутори су дошли до закључка да је бактеријемја повезана са вишим нивоима инфламаторних медијатора, за разлику од наших резултата где су инфламаторни медијатори били значајно нижи код полимикробне у односу на Грам-негативну, Грам-позитивну и негативну хемокултуру у трећем дану мерења. У осталим интервалима мерења разлике у профилу цитокина нису биле значајне у односу на хемокултуру. Испитивани цитокини су се показали као добри предиктори полимикробне и негативне хемокултуре, док у дискриминацији Грам-негативне и Грам-позитивне хемокултуре ниједан од цитокина није био добар предиктор.

Feezog и коаутори су утврдили значајно веће концентрације проинфламаторних цитокина код 52 пацијента са сепсом која је резултат Грам-позитивне спрам Грам-негативне бактерије (147). Насупрот томе, у другој студији, истраживачи су утврдили да Грам-негативне бактерије индукују више про- и анти-инфламаторних цитокина у односу на Грам-позитивне бактерије (14). Очекивали смо да ћемо наћи већу разлику у имуно-инфламаторном одговору између Грам-негативних и Грам-позитивних бактеријских инфекција, али за разлику од предходних студија (14,147) нисмо нашли значајно веће разлике у инфламаторним медијаторима.

На смртност може утицати врста инфективног агенса. Неки аутори су известили да постоји повећан морталитет код Грам-позитивних бактерија, док други истраживачи наводе значајно већу стопу морталитета код Грам-негативних бактерија (148). Захар и његове колеге нису показали повезаност бактерија са смртношћу (149). У предикцији леталног исхода у нашој студији издвојила се само Грам-негативна хемокултура, код које су сви цитокини, осим IL-6 били значајни предиктори смртног исхода, са AUC ROC вредностима у трећем мерењу између 0,7-0,8. Као најјачи предиктор леталног исхода издвојио се MIP-1 $\alpha$ , са нижим вредностима од 79 pg /ml код умрлих у односу на преживеле. MIP-1 $\alpha$  је инфламаторни хемокин који производе ћелије током инфекције или инфламације. Припада породици CC хемокина, који показује моћна хемотактичка својства. Овај протеин је назван MIP-1 $\alpha$  због његовог биолошког дејства изазивања инфламаторног одговора који карактерише неутрофилна инфилтрација. Обавља различите функције, као што је регрутовање инфламаторних ћелија, зарастање рана, инхибиција матичних ћелија и одржавање ефекторског имуног одговора. Већина зрелих хематопоеетских ћелија може индуковати синтезу MIP-1 $\alpha$ . Моноцити, Т лимфоцити, Б лимфоцити, неутрофили, дендритске ћелије и природне ћелије убице

познато је да луче МІР-1 $\alpha$ . У нормалним условима долази до синтезе МІР-1 $\alpha$  на веома ниским нивоима. Међутим, након стимулације рецептивних ћелија ендотоксинима као што су липополисахарид (ЛПС) или проинфламаторни цитокини, долази до ћелијске активације која индукује повећану производњу МІР-1 $\alpha$  (74). Повишени нивои МІР-1 $\alpha$  у циркулацији се такође налазе код пацијената са септичким шоком.

Идентификација критично оболелих пацијената са већим ризиком од смрти је важна (150). Укупан хоспитални морталитет у нашем истраживању износио је 36,8%. Afuware и коаутори (151) су анализирали утицај цитокинског одговора (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ ) на преживљавање код пацијената са генерализованим перитонитисом током 6 месеци у пилот студији током које су дошли до закључка да су нижи нивои TNF- $\alpha$  и виши нивои IL-1 $\alpha$  повезани са преживљавањем. У нашој студији једини значајан предиктор леталног исхода у првом дану мерења био је IL-17A, са нижим вредностима код умрлих у односу на преживеле, код секундарне сепсе која је настала као компликација перитонитиса. Насупрот томе, нивои осталих цитокина су корелирали са исходом тек петог дана мерења и били већи код преживелих у односу на умрле. Са клиничке тачке гледишта за предикцију исхода у петом дану мерења је прилично касно. Студије које су проучавале улогу IL-17A на животињским моделима сепсе објавиле су да IL-17A изазива значајну патологију и да је елиминација овог цитокина резултирала значајно побољшаним преживљавањем (152). Касније студије објавиле су супротне резултате (153), а садашња литература садржи бројне студије које показују мешовите ефекте блокаде IL-17A у сепси (154). У студији на људима коју су спровели Ahmed Ali и колеге повишени нивои IL-17A у серуму предвиђају развој сепсе и морталитета код пацијената са политраумом (140). Код пацијената који су имали секундарну сепсу као компликацију панкреатитиса или трауме нити један од испитиваних цитокина није имао дискриминаторну моћ у погледу предикције леталног исхода у првом дану мерења.

Упркос високој преваленцији културе негативне сепсе, претходне студије не извештавају о профилима цитокина у истој, код критично оболелих септичких пацијената у јединици интензивне терапије. Очекивали смо да ћемо наћи много слабији имуно-инфламаторни одговор код негативне сепсе. Питања која се намећу са нашим резултатима гласе: Зашто бисмо очекивали да тамо где има мало бактерија има пуно цитокина и шта се скрива у негативним хемокултурама? Какав је заправо капацитет за продукцију цитокина код негативне сепсе? Иако ова студија не може да одговори на ова питања, њени налази пружају изванредан увид у следеће могућности. Претпостављени разлози укључују изложеност антибиотицима пре доласка у јединицу интензивне терапије и потенцијално присуство споро растућих или изборљивих бактерија. Молекуларне технике засноване на ланчаној реакцији полимеризације (PSR) могу побољшати стопе откривања патогена, а многи пацијенти са клиничком сепсом су заиста ПСР позитивни, али негативни у култури (155).

Наша садашња студија има неколико ограничења. То је опсервациона студија спроведена у једној установи на релативно малој величини узорка (125 пацијената), тако да би трендови и обрасци профила цитокина које смо открили требало да буду потврђени у већој популацији пацијената мултицентричном студијом. Наше групе пацијената су биле неуједначене, са мањим бројем пацијената у групи панкреатитиса и трауме у односу на групу перитонитиса. Не можемо генерализовати наше резултате на друге групе критично болесних и трауматизованих пацијената. Општа примењивост наших резултата на друге облике сепсе је нејасна. Наши налази представљају

прелиминарне резултате, а даља истраживања са већим бројем пацијената и другим субпопулацијама септичких пацијената су оправдана.

## **6 . ЗАКЉУЧЦИ**

1. Профил цитокина у нашој студији показао је да су нивои про-инфламаторних (MCP-1, TNF- $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IP 10) и анти-инфламаторних (IL-10, IL-33 и IL-27) цитокина знатно већи у групи перитонитиса спрам групе са панкреатитисом у првом дану мерења. Није постојала значајност разлике у профилу цитокина између осталих група у овом термину мерења. У друга два термина мерења није евидентирана разлика у профилу цитокина између група.
2. Поређењем нивоа цитокина између првог, трећег и петог дана мерења у групи секундарне сепсе која је настала као компликација трауме установљене су значајне разлике код проинфламаторних IL-17A, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IP 10, MIP-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , MIP-1 $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-12p70 и анти-инфламаторних цитокина IL-33, IL-10, IL-31, IL-13. Вредности ових цитокина су значајно расли између интервала мерења, тј. од првог ка петом дану.
3. Значајне разлике у нивоима цитокина у погледу природе бактеријемije установили смо код свих про- и анти-инфламаторних цитокина, осим IL-8, у трећем дану мерења. Генерално, најнижи нивои су пронађени код пацијената са полимикробном хемокултуром.
4. Сви испитивани биомаркери у трећем дану мерења су се издвојили као значајни предиктори полимикробне хемокултуре. Као најјачи предиктор полимикробне хемокултуре издвојио се MIP-1 $\beta$ , чије вредности мање од 215,4 pg/ml су добри предиктори полимикробне хемокултуре.
5. Сви биомаркери трећег дана мерења су се издвојили као значајни предиктори негативне хемокултуре. Као најјачи предиктор исте издвојио се MIP-1 $\alpha$  чије вредности веће од 176,3 pg/ml су добри предиктори негативне хемокултуре.
6. Код пацијената са Грам-негативном хемокултуром, сви биомаркери су били статистички значајни предиктори леталног исхода, осим IL-6. Као најјачи предиктор леталног исхода издвојио се MIP-1 $\alpha$ , чије вредности мање од 79,0 pg/ml су добри предиктори леталног исхода код пацијената са Грам-негативном хемокултуром.
7. Једини значајан предиктор леталног исхода у првом дану мерења био је IL-17A, са секундарном сепсом као компликацијом перитонитиса. IL-17A је добар предиктор исхода код секундарне сепсе која је настала као компликација перитонитиса. Ниска концентрација IL-17A код пацијената са септичким перитонитисом предвиђа смртни исход у првом дану мерења. Насупрот томе, нивои осталих цитокина корелирали су са исходом тек петог дана мерења, и били већи код преживелих у односу на умрле.

## **7. ЛИТЕРАТУРА**

1. Monneret G, Venet F. Sepsis-induced immune alterations monitoring by flow cytometry as a promising tool for individualized therapy. *Cytometry B Clin Cytom.* 2016 Jul;90(4):376-86.
2. Gentile LF, Cuenca AG, Efron PA, Ang D, Bihorac A, McKinley BA, Moldawer LL, Moore FA. Persistent Inflammation and immunosuppression: a common syndrome and new horizon for surgical intensive care. *J Trauma Acute Care Surg.* 2012 Jun;72(6):1491-501
3. Surbatovic M, Veljovic M, Jevdjic J, Popovic N, Djordjevic D, Radakovic S. Immunoinflammatory response in critically ill patients: severe sepsis and/or trauma. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:362793.
4. Boomer JS, To K, Chang KC, Takasu O, Osborne DF, Walton AH, Bricker TL, Jarman SD 2nd, Kreisel D, Krupnick AS, Srivastava A, Swanson PE, Green JM, Hotchkiss RS. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA.* 2011 Dec 21;306(23):2594-605.
5. Tsirigotis P, Chondropoulos S, Gkirkas K, Meletiadis J, Dimopoulou I. Balanced control of both hyper and hypo-inflammatory phases as a new treatment paradigm in sepsis. *J Thorac Dis.* 2016 May;8(5):E312-6.
6. Prucha M, Zazula R, Russwurm S. Immunotherapy of Sepsis: Blind Alley or Call for Personalized Assessment? *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2017 Feb;65(1):37-49.
7. Pène F, Pickkers P, Hotchkiss RS. Is this critically ill patient immunocompromised? *Intensive Care Med.* 2016 Jun;42(6):1051-4.
8. Shankar-Hari M. How could we enhance translation of sepsis immunology to Inform immunomodulation trials in sepsis? *Crit Care.* 2017 May 26;21(1):125.
9. Surbatovic M, Grujic K, Cikota B, Jevtic M, Filipovic N, Romic P, Strelac N, Magic Z. Polymorphisms of genes encoding tumor necrosis factor-alpha, interleukin-10, cluster of differentiation-14 and interleukin-1ra in critically ill patients. *J Crit Care.* 2010 Sep;25(3):542.e1-8.
10. Martín S, Pérez A, Aldecoa C. Sepsis and Immunosenescence in the Elderly Patient: A Review. *Front Med (Lausanne).* 2017 Feb 28;4:20.
11. Andreis DT, Singer M. Catecholamines for Inflammatory shock: a Jekyll-and-Hyde conundrum. *Intensive Care Med.* 2016 Sep;42(9):1387-97.
12. Asehnoune K, Villadangos J, Hotchkiss RS. Understanding host-pathogen interaction. *Intensive Care Med.* 2016 Dec;42(12):2084-2086.
13. Antonakos N, Tsaganos T, Oberle V, Tsangaris I, Lada M, Pistiki A, Machairas N, Souli M, Bauer M, Giamarellos-Bourboulis EJ. Decreased cytokine production by mononuclear cells after severe gram-negative Infections: early clinical signs and association with final outcome. *Crit Care.* 2017 Mar 9;21(1):48.

14. Surbatovic M, Popovic N, Vojvodic D, Milosevic I, Acimovic G, Stojicic M, Veljovic M, Jevdjic J, Djordjevic D, Radakovic S. Cytokine profile in severe Gram-positive and Gram-negative abdominal sepsis. *Sci Rep*. 2015 Jun 16;5:11355.
15. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent JL, Angus DC. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016 Feb 23;315(8):801-10.
16. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med*. 1992 Jun;20(6):864-74. PMID: 1597042.
17. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, Reinhart K, Angus DC, Brun-Buisson C, Beale R, Calandra T, Dhainaut JF, Gerlach H, Harvey M, Marini JJ, Marshall J, Ranieri M, Ramsay G, Sevransky J, Thompson BT, Townsend S, Vender JS, Zimmerman JL, Vincent JL. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Intensive Care Med*. 2008 Jan;34(1):17-60.
18. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb SA, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R; Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med*. 2013 Feb;41(2):580-637.
19. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, Kumar A, Sevransky JE, Sprung CL, Nunnally ME, Rochwerger B, Rubenfeld GD, Angus DC, Annane D, Beale RJ, Bellinghan GJ, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith C, De Backer DP, French CJ, Fujishima S, Gerlach H, Hidalgo JL, Hollenberg SM, Jones AE, Karnad DR, Kleinpell RM, Koh Y, Lisboa TC, Machado FR, Marini JJ, Marshall JC, Mazuski JE, McIntyre LA, McLean AS, Mehta S, Moreno RP, Myburgh J, Navalesi P, Nishida O, Osborn TM, Perner A, Plunkett CM, Ranieri M, Schorr CA, Seckel MA, Seymour CW, Shieh L, Shukri KA, Simpson SQ, Singer M, Thompson BT, Townsend SR, Van der Poll T, Vincent JL, Wiersinga WJ, Zimmerman JL, Dellinger RP. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Crit Care Med*. 2017 Mar;45(3):486-552.
20. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, Brunkhorst FM, Rea TD, Scherag A, Rubenfeld G, Kahn JM, Shankar-Hari M, Singer M, Deutschman CS, Escobar GJ, Angus DC. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016 Feb 23;315(8):762-74.
21. Popović N. et al. Anestezija u traumi. Wind press, Beograd. 2010
22. Šurbatović M. Imunska disonanca u MODS-u nakon traume i/ili sepse. Zadužbina Andrejević; 2003.



23. Hamilton-Davies C.: Endotoxin Immune Status and Protection Against MODS in the Surgical Patients. U: Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine; ed J.L. Vincent, str 24-28, 1996.
24. Marshall JC. The gut as a potential trigger of exercise-induced Inflammatory responses. *Can J Physiol Pharmacol.* 1998 May;76(5):479-84.
25. Hack CE, Zeerleder S. The endothelium in sepsis: source of and a target for Inflammation. *Crit Care Med.* 2001 Jul;29(7 Suppl):S21-7.
26. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest.* 1997 Jul;112(1):235-43.
27. Abbul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Shiv Pillai, Osnovna imunologija, Funkcionisanje I poremećaji imunskog sistema .Data Status 2016
28. Tang P, Hung M-C, Klostergaard J. Human pro-tumor necrosis factor is a homotrimer. *Biochemistry.* 1996 Jun 25;35(25):8216-25.
29. Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, Peschon JJ, Slack JL, Wolfson MF, Castner BJ, Stocking KL, Reddy P, Srinivasan S, Nelson N, Boiani N, Schooley KA, Gerhart M, Davis R, Fitzner JN, Johnson RS, Paxton RJ, March CJ, Cerretti DP. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. *Nature.* 1997 Feb 20;385(6618):729-33.
30. Kriegler M, Perez C, DeFay K, Albert I, Lu SD. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell.* 1988 Apr 8;53(1):45-53.
31. Šurbatović M, Jovanović K, Vojvodić D. Correlation between tumor necrosis factor-alpha and the severity and outcome of sepsis. *Anestezija i intenzivna terapija* 2003; 26: 31–49. (Serbian)
32. Dinarello CA. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest.* 1997 Dec;112(6 Suppl):321S-329S.
33. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest.* 2000 Aug;118(2):503-8.
34. Randal M, Kossiakoff AA. The structure and activity of a monomeric interferon-gamma:alpha-chain receptor signaling complex. *Structure.* 2001 Feb 7;9(2):155-63.
35. Boehm U, Klamp T, Groot M, Howard JC. Cellular responses to interferon-gamma. *Annu Rev Immunol.* 1997;15:749-95.
36. Romero CR, Herzig DS, Etogo A, Nunez J, Mahmoudizad R, Fang G, Murphey ED, Toliver-Kinsky T, Sherwood ER. The role of interferon- $\gamma$  in the pathogenesis of acute intra-abdominal sepsis. *J Leukoc Biol.* 2010 Oct;88(4):725-35.
37. Krumm B, Xiang Y, Deng J. Structural biology of the IL-1 superfamily: key cytokines in the regulation of immune and Inflammatory responses. *Protein Sci.* 2014 May;23(5):526-38.

38. Sims JE, Smith DE. The IL-1 family: regulators of immunity. *Nat Rev Immunol*. 2010 Feb;10(2):89-102. doi: 10.1038/nri2691. Epub 2010 Jan 18. PMID: 20081871.
39. Dinarello CA. Immunological and Inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:519-50
40. Dinarello, C.A., Aiura, K., Gelfand, J.A. (1992). The Role of Interleukin-1 in Septic Shock. In: Vincent, J.L. (eds) *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine 1992*. Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine, vol 1992. Springer, Berlin, Heidelberg.
41. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in Inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014 Sep 4;6(10):a016295.
42. Scheller J, Rose-John S. Interleukin-6 and its receptor: from bench to bedside. *Med Microbiol Immunol*. 2006 Dec;195(4):173-83.
43. Kishimoto T. Interleukin-6: from basic science to medicine--40 years in immunology. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:1-21.
44. Chomarat, P., Banchereau, J., Davoust, J. *et al*. IL-6 switches the differentiation of monocytes from dendritic cells to macrophages. *Nat Immunol* **1**, 510–514 (2000).
45. Borden EC, Chin P. Interleukin-6: a cytokine with potential diagnostic and therapeutic roles. *J Lab Clin Med*. 1994 Jun;123(6):824-9.
46. Z. Chai, S. Gatti, C. Toniatti, V. Poli, and T. Bartfai, "Interleukin (IL)-6 gene expression in the central nervous system is necessary for fever response to lipopolysaccharide or IL-1 $\beta$ : a study on IL-6-deficient mice," *Journal of Experimental Medicine*, vol. 183, no. 1, pp. 311–316, 1996.
47. I. Kushner and D. L. Rzewnicki, "The acute phase response: general aspects," *Bailliere's Clinical Rheumatology*, vol. 8, no. 3, pp. 513–530, 1994.
48. Takahashi W, Nakada TA, Yazaki M, Oda S. Interleukin-6 Levels Act as a Diagnostic Marker for Infection and a Prognostic Marker in Patients with Organ Dysfunction in Intensive Care Units. *Shock*. 2016 Sep;46(3):254-60.
49. Jekarl DW, Lee SY, Lee J, Park YJ, Kim Y, Park JH, Wee JH, Choi SP. Procalcitonin as a diagnostic marker and IL-6 as a prognostic marker for sepsis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013 Apr;75(4):342-7.
50. Bernhard S, Hug S, Stratmann AEP, Erber M, Vidoni L, Knapp CL, Thomaß BD, Fauler M, Nilsson B, Nilsson Ekdahl K, Föhr K, Braun CK, Wohlgemuth L, Huber-Lang M, Messerer DAC. Interleukin 8 Elicits Rapid Physiological Changes in Neutrophils That Are Altered by Inflammatory Conditions. *J Innate Immun*. 2021;13(4):225-241.
51. de Pablo R, Monserrat J, Prieto A, Alvarez-Mon M. Role of circulating soluble chemokines in septic shock. *Med Intensiva*. 2013 Nov;37(8):510-8. English, Spanish.

52. Mehra S, Tiwari AK, Aggarwal G, Mehta SP, Chauhan R, Rajvanshi C, Govil D. Diagnostic value of different interleukins and procalcitonin in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Indian J Pathol Microbiol.* 2022 Jan-Mar;65(1):111-116
53. Hamza T, Barnett JB, Li B. Interleukin 12 a key immunoregulatory cytokine in Infection applications. *Int J Mol Sci.* 2010 Feb 26;11(3):789-806
54. Zheng H, Ban Y, Wei F, Ma X. Regulation of Interleukin-12 Production in Antigen-Presenting Cells. *Adv Exp Med Biol.* 2016;941:117-138.
55. Lauw, F.N., van Deventer, S.J.H., van der Poll, T. (2000). The Role of Interleukin (IL)-12 and IL-18 During Endotoxemia and Bacterial Infection. In: Vincent, J.L. (eds) *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine 2000. Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine*, vol 2000. Springer, Berlin, Heidelberg.
56. Ethuin F, Delarche C, Gougerot-Pocidalo MA, Eurin B, Jacob L, Chollet-Martin S. Regulation of interleukin 12 p40 and p70 production by blood and alveolar phagocytes during severe sepsis. *Lab Invest.* 2003 Sep;83(9):1353-60
57. Kostareva OS, Gabdulkhakov AG, Kolyadenko IA, Garber MB, Tishchenko SV. Interleukin-17: Functional and Structural Features, Application as a Therapeutic Target. *Biochemistry (Mosc).* 2019 Jan;84(Suppl 1):S193-S205.
58. Cua DJ, Tato CM. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2010 Jul;10(7):479-89.
59. Li Y, Wei C, Xu H, Jia J, Wei Z, Guo R, Jia Y, Wu Y, Li Y, Qi X, Li Z, Gao X. The Immunoregulation of Th17 in Host against Intracellular Bacterial Infection. *Mediators Inflamm.* 2018 Mar 19;2018:6587296
60. Amatya N, Garg AV, Gaffen SL. IL-17 Signaling: The Yin and the Yang. *Trends Immunol.* 2017 May;38(5):310-322.
61. Reynolds JM, Angkasekwinai P, Dong C. IL-17 family member cytokines: regulation and function in innate immunity. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010 Dec;21(6):413-23.
62. Freitas A, Alves-Filho JC, Victoni T, Secher T, Lemos HP, Sônego F, Cunha FQ, Ryffel B. IL-17 receptor signaling is required to control polymicrobial sepsis. *J Immunol.* 2009 Jun 15;182(12):7846-54.
63. Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in Inflammation. *N Engl J Med.* 2006 Feb 9;354(6):610-21.
64. Cassatella MA, Gasperini S, Calzetti F, Bertagnin A, Luster AD, McDonald PP. Regulated production of the interferon-gamma-inducible protein-10 (IP-10) chemokine by human neutrophils. *Eur J Immunol.* 1997 Jan;27(1):111-5.

65. Liu M, Guo S, Hibbert JM, Jain V, Singh N, Wilson NO, Stiles JK. CXCL10/IP-10 in Infectious diseases pathogenesis and potential therapeutic implications. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2011 Jun;22(3):121-30.
66. Chan T, Gu F. Early diagnosis of sepsis using serum biomarkers. *Expert Rev Mol Diagn.* 2011 Jun;11(5):487-96.
67. Chen HL, Hung CH, Tseng HI, Yang RC, Chen HL, Hung CH, Tseng HI, Yang RC. Plasma IP-10 as a predictor of serious bacterial Infection in Infants less than 4 months of age. *J Trop Pediatr.* 2011 Apr;57(2):145-51.
68. Van Coillie E, Van Damme J, Opdenakker G. The MCP/eotaxin subfamily of CC chemokines. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1999 Mar;10(1):61-86
69. Yoshimura T, Robinson EA, Tanaka S, Appella E, Leonard EJ. Purification and amino acid analysis of two human monocyte chemoattractants produced by phytohemagglutinin-stimulated human blood mononuclear leukocytes. *J Immunol.* 1989 Mar 15;142(6):1956-62.
70. Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *J Interferon Cytokine Res.* 2009 Jun;29(6):313-26.
71. Wang Y, Liu Q, Liu T, Zheng Q, Xu X, Liu X, Gao W, Li Z, Bai X. Early plasma monocyte chemoattractant protein 1 predicts the development of sepsis in trauma patients: A prospective observational study. *Medicine (Baltimore).* 2018 Apr;97(14):e0356.
72. Sherry B, Tekamp-Olson P, Gallegos C, Bauer D, Davatelis G, Wolpe SD, Masiarz F, Coit D, Cerami A. Resolution of the two components of macrophage Inflammatory protein 1, and cloning and characterization of one of those components, macrophage Inflammatory protein 1 beta. *J Exp Med.* 1988 Dec 1;168(6):2251-9.
73. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity.* 2000 Feb;12(2):121-7.
74. Bhavsar I, Miller CS, Al-Sabbagh M. Macrophage Inflammatory Protein-1 Alpha (MIP-1 alpha)/CCL3: As a Biomarker. *General Methods in Biomarker Research and their Applications.* 2015 Jun 1:223-49.
75. Walter MR, Cook WJ, Zhao BG, Cameron RP Jr, Ealick SE, Walter RL Jr, Reichert P, Nagabhushan TL, Trotta PP, Bugg CE. Crystal structure of recombinant human interleukin-4. *J Biol Chem.* 1992 Oct 5;267(28):20371-6.
76. Gregory GD, Raju SS, Winandy S, Brown MA. Mast cell IL-4 expression is regulated by Ikaros and Influences encephalitogenic Th1 responses in EAE. *J Clin Invest.* 2006 May;116(5):1327-36.
77. Nelms K, Keegan AD, Zamorano J, Ryan JJ, Paul WE. The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions. *Annu Rev Immunol.* 1999;17:701-38.

78. Song Z, Zhang J, Zhang X, Li D, Wang H, Xu X, Xu W, Yin Y, Cao J. Interleukin 4 Deficiency Reverses Development of Secondary *Pseudomonas aeruginosa* Pneumonia During Sepsis-Associated Immunosuppression. *J Infect Dis.* 2015 May 15;211(10):1616-27
79. Song GY, Chung CS, Chaudry IH, Ayala A. MAPK p38 antagonism as a novel method of inhibiting lymphoid immune suppression in polymicrobial sepsis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001 Aug;281(2):C662-9.
80. Hynninen M, Pettilä V, Takkunen O, Orko R, Jansson SE, Kuusela P, Renkonen R, Valtonen M. Predictive value of monocyte histocompatibility leukocyte antigen-DR expression and plasma interleukin-4 and -10 levels in critically ill patients with sepsis. *Shock.* 2003 Jul;20(1):1-4.
81. Zdanov A. Structural analysis of cytokines comprising the IL-10 family. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010 Oct;21(5):325-30.
82. Walter MR. Structural analysis of IL-10 and Type I interferon family members and their complexes with receptor. *Adv Protein Chem.* 2004;68:171-223.
83. Opal SM, DePalo VA. Anti-Inflammatory cytokines. *Chest.* 2000 Apr;117(4):1162-72.
84. Mazer M, Unsinger J, Drewry A, Walton A, Osborne D, Blood T, Hotchkiss R, Remy KE. IL-10 Has Differential Effects on the Innate and Adaptive Immune Systems of Septic Patients. *J Immunol.* 2019 Oct 15;203(8):2088-2099
85. Tamayo E, Fernández A, Almansa R, Carrasco E, Heredia M, Lajo C, Goncalves L, Gómez-Herreras JI, de Lejarazu RO, Bermejo-Martin JF. Pro- and anti-Inflammatory responses are regulated simultaneously from the first moments of septic shock. *Eur Cytokine Netw.* 2011 Jun;22(2):82-7.
86. Junttila IS. Tuning the Cytokine Responses: An Update on Interleukin (IL)-4 and IL-13 Receptor Complexes. *Front Immunol.* 2018 Jun 7;9:888.
87. Wynn TA. Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies. *Nat Rev Immunol.* 2015 May;15(5):271-82.
88. Bhattacharjee A, Shukla M, Yakubenko VP, Mulya A, Kundu S, Cathcart MK. IL-4 and IL-13 employ discrete signaling pathways for target gene expression in alternatively activated monocytes/macrophages. *Free Radic Biol Med.* 2013 Jan;54:1-16.
89. Marone G, Granata F, Pucino V, Pecoraro A, Heffler E, Loffredo S, Scadding GW, Varricchi G. The Intriguing Role of Interleukin 13 in the Pathophysiology of Asthma. *Front Pharmacol.* 2019 Dec 6;10:1387
90. Blanco-Quirós A, Casado-Flores J, Garrote A, Adrados JA, Moro MN, Antón JA, Sanz EA. Interleukin-13 is involved in the survival of children with sepsis. *Acta Paediatr.* 2005 Dec;94(12):1828-31.
91. Collighan N, Giannoudis PV, Kourgeraki O, Perry SL, Guillou PJ, Bellamy MC. Interleukin 13 and Inflammatory markers in human sepsis. *Br J Surg.* 2004 Jun;91(6):762-8.

92. Pflanz S, Timans JC, Cheung J, Rosales R, Kanzler H, Gilbert J, Hibbert L, Churakova T, Travis M, Vaisberg E, Blumenschein WM, Mattson JD, Wagner JL, To W, Zurawski S, McClanahan TK, Gorman DM, Bazan JF, de Waal Malefyt R, Rennick D, Kastelein RA. IL-27, a heterodimeric cytokine composed of EBI3 and p28 protein, induces proliferation of naive CD4+ T cells. *Immunity*. 2002 Jun;16(6):779-90
93. Liu J, Guan X, Ma X. Regulation of IL-27 p28 gene expression in macrophages through MyD88- and interferon-gamma-mediated pathways. *J Exp Med*. 2007 Jan 22;204(1):141-52.
94. Molle C, Nguyen M, Flamand V, Renneson J, Trottein F, De Wit D, Willems F, Goldman M, Goriely S. IL-27 synthesis induced by TLR ligation critically depends on IFN regulatory factor 3. *J Immunol*. 2007 Jun 15;178(12):7607-15
95. Guzzo C, Che Mat NF, Gee K. Interleukin-27 induces a STAT1/3- and NF-kappaB-dependent proinflammatory cytokine profile in human monocytes. *J Biol Chem*. 2010 Aug 6;285(32):24404-11
96. Hunter CA, Kastelein R. Interleukin-27: balancing protective and pathological immunity. *Immunity*. 2012 Dec 14;37(6):960-9.
97. Fitzgerald DC, Fonseca-Kelly Z, Cullimore ML, Safabakhsh P, Saris CJ, Zhang GX, Rostami A. Independent and interdependent immunoregulatory effects of IL-27, IFN- $\beta$ , and IL-10 in the suppression of human Th17 cells and murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol*. 2013 Apr 1;190(7):3225-34.
98. Wang Y, Zhao J, Yao Y, Zhao D, Liu S. Interleukin-27 as a Diagnostic Biomarker for Patients with Sepsis: A Meta-Analysis. *Biomed Res Int*. 2021 Apr 13;2021:5516940
99. Dillon SR, Sprecher C, Hammond A, Bilsborough J, Rosenfeld-Franklin M, Presnell SR, et al. Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice. *Nat Immunol*. 2004 Jul;5(7):752-60.
100. Raap U, Gehring M, Kleiner S, Rüdrieh U, Eiz-Vesper B, Haas H, Kapp A, Gibbs BF. Human basophils are a source of - and are differentially activated by - IL-31. *Clin Exp Allergy*. 2017 Apr;47(4):499-508.
101. Cevikbas F, Wang X, Akiyama T, Kempkes C, Savinko T, Antal A, Kukova G, Buhl T, Ikoma A, Buddenkotte J, Soumelis V, Feld M, Alenius H, Dillon SR, Carstens E, Homey B, Basbaum A, Steinhoff M. A sensory neuron-expressed IL-31 receptor mediates T helper cell-dependent itch: Involvement of TRPV1 and TRPA1. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Feb;133(2):448-60.
102. Kunsleben N, Rüdrieh U, Gehring M, Novak N, Kapp A, Raap U. IL-31 Induces Chemotaxis, Calcium Mobilization, Release of Reactive Oxygen Species, and CCL26 in Eosinophils, Which Are Capable to Release IL-31. *J Invest Dermatol*. 2015 Jul;135(7):1908-1911.

103. Gu X, Wei C, Zhu X, Lu F, Sheng B, Zang X. Effect of interleukin-31 on septic shock through regulating Inflammasomes and interleukin-1 $\beta$ . *Exp Ther Med*. 2018 Jul;16(1):171-177.
104. Lingel A, Weiss TM, Niebuhr M, Pan B, Appleton BA, Wiesmann C, Bazan JF, Fairbrother WJ. Structure of IL-33 and its interaction with the ST2 and IL-1RAcP receptors--insight into heterotrimeric IL-1 signaling complexes. *Structure*. 2009 Oct 14;17(10):1398-410.
105. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate Inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev*. 2018 Jan;281(1):8-27.
106. Xu H, Turnquist HR, Hoffman R, Billiar TR. Role of the IL-33-ST2 axis in sepsis. *Mil Med Res*. 2017 Feb 2;4:3
107. Alves-Filho JC, Sônego F, Souto FO, Freitas A, Verri WA Jr, Auxiliadora-Martins M, Basile-Filho A, McKenzie AN, Xu D, Cunha FQ, Liew FY. Interleukin-33 attenuates sepsis by enhancing neutrophil Influx to the site of Infection. *Nat Med*. 2010 Jun;16(6):708-12.
108. Lv R, Zhao J, Lei M, Xiao D, Yu Y, Xie J. IL-33 Attenuates Sepsis by Inhibiting IL-17 Receptor Signaling through Upregulation of SOCS3. *Cell Physiol Biochem*. 2017;42(5):1961-1972.
109. European Society of Intensive Care Medicine (ESICM); Global Sepsis Alliance (GSA); Society of Critical Care Medicine (SCCM). Reducing the global burden of sepsis: a positive legacy for the COVID-19 pandemic? *Intensive Care Med*. 2021 Jul;47(7):733-736
110. Alhazzani W, Møller MH, Arabi YM, Loeb M, Gong MN, Fan E, Oczkowski S, Levy MM, Derde L, Dzierba A, Du B, Aboodi M, Wunsch H, Cecconi M, Koh Y, Chertow DS, Maitland K, Alshamsi F, Belley-Cote E, Greco M, Laundry M, Morgan JS, Kesecioglu J, McGeer A, Mermel L, Mammen MJ, Alexander PE, Arrington A, Centofanti JE, Citerio G, Baw B, Memish ZA, Hammond N, Hayden FG, Evans L, Rhodes A. Surviving Sepsis Campaign: Guidelines on the Management of Critically Ill Adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Crit Care Med*. 2020 Jun;48(6):e440-e469.
111. Dhama K, Patel SK, Pathak M, Yattoo MI, Tiwari R, Malik YS, Singh R, Sah R, Rabaan AA, Bonilla-Aldana DK, Rodriguez-Morales AJ. An update on SARS-CoV-2/COVID-19 with particular reference to its clinical pathology, pathogenesis, immunopathology and mitigation strategies. *Travel Med Infect Dis*. 2020 Sep-Oct;37:101755.
112. Zhang Q, Bastard P, Liu Z, Le Pen J, Moncada-Velez M, Chen J, Ogishi M, Sabli IKD, Hodeib S, Korol C, et al. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science*. 2020 Oct 23;370(6515):eabd4570.
113. Peng X, Wang Y, Xi X, Jia Y, Tian J, Yu B, Tian J. Promising Therapy for Heart Failure in Patients with Severe COVID-19: Calming the Cytokine Storm. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2021 Apr;35(2):231-247.
114. Song P, Li W, Xie J, Hou Y, You C. Cytokine storm induced by SARS-CoV-2. *Clin Chim Acta*. 2020 Oct;509:280-287

115. Shimabukuro-Vornhagen A, Gödel P, Subklewe M, Stemmler HJ, Schlöber HA, Schlaak M, Kochanek M, Böll B, von Bergwelt-Baildon MS. Cytokine release syndrome. *J Immunother Cancer*. 2018 Jun 15;6(1):56
116. Tang L, Yin Z, Hu Y, Mei H. Controlling Cytokine Storm Is Vital in COVID-19. *Front Immunol*. 2020 Nov 30;11:570993.
117. Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Muhammad J, Khan A, Sule AA et al. Role of Inflammatory Cytokines in COVID-19 Patients: A Review on Molecular Mechanisms, Immune Functions, Immunopathology and Immunomodulatory Drugs to Counter Cytokine Storm. *Vaccines (Basel)*. 2021 Apr 29;9(5):436.
118. Beltrán-García J, Osca-Verdegal R, Pallardó FV, Ferreres J, Rodríguez M, Mulet S, Ferrando-Sánchez C, Carbonell N, García-Giménez JL. Sepsis and Coronavirus Disease 2019: Common Features and Anti-Inflammatory Therapeutic Approaches. *Crit Care Med*. 2020 Dec;48(12):1841-1844
119. Delano MJ, Ward PA. The immune system's role in sepsis progression, resolution, and long-term outcome. *Immunol Rev*. 2016;274(1):330-353.
120. Novotny AR, Reim D, Assfalg V, et al. Mixed antagonist response and sepsis severity-dependent dysbalance of pro- and anti-Inflammatory responses at the onset of postoperative sepsis. *Immunobiology*. 2012;217(6):616-621.
121. Delano MJ, Ward PA. Sepsis-induced immune dysfunction: can immune therapies reduce mortality? *J Clin Invest*. 2016 Jan;126(1):23-31.
122. Pickkers P, Kox M. Towards precision medicine for sepsis patients. *Crit Care*. 2017;21(1):11. Published 2017 Jan 12.
123. Pène F, Vincent JL, Martin-Loeches I. On the verge of using an immune toolbox in the intensive care unit? *Intensive Care Med*. 2017 Aug;43(8):1154-1156.
124. Mera S, Tatulescu D, Cismaru C, Bondor C, Slavcovici A, Zanc V, Carstina D, Oltean M. Multiplex cytokine profiling in patients with sepsis. *APMIS*. 2011 Feb;119(2):155-63.
125. Bozza FA, Salluh JJ, Japiassu AM, Soares M, Assis EF, Gomes RN, Bozza MT, Castro-Faria-Neto HC, Bozza PT. Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis. *Crit Care*. 2007;11(2):R49.
126. Jekarl DW, Kim JY, Lee S, Kim M, Kim Y, Han K, Woo SH, Lee WJ. Diagnosis and evaluation of severity of sepsis via the use of biomarkers and profiles of 13 cytokines: a multiplex analysis. *Clin Chem Lab Med*. 2015 Mar;53(4):575-81.
127. Emparan C, Senninger N. Cytokine Responses in Secondary Peritonitis. *Chir Gastroenterol* 2000; 16:304–314
128. van Till JW, van Veen SQ, van Ruler O, Lamme B, Gouma DJ, Boermeester MA. The innate immune response to secondary peritonitis. *Shock*. 2007 Nov;28(5):504-17.



129. Matsukawa A, Hogaboam CM, Lukacs NW, Lincoln PM, Strieter RM, Kunkel SL. Endogenous MCP-1 Influences systemic cytokine balance in a murine model of acute septic peritonitis. *Exp Mol Pathol*. 2000 Apr;68(2):77-84.
130. Wang Y, Liu Q, Liu T, Zheng Q, Xu X, Liu X, Gao W, Li Z, Bai X. Early plasma monocyte chemoattractant protein 1 predicts the development of sepsis in trauma patients: A prospective observational study. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Apr;97(14):e0356.
131. Kim JK, Chon CY, Kim JH, Kim YJ, Cho JH, Bang SM, Ahn SH, Han KH, Moon YM. Changes in serum and ascitic monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) and IL-10 levels in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *J Interferon Cytokine Res*. 2007 Mar;27(3):227-30.
132. Riché FC, Cholley BP, Panis YH, Laisné MJ, Briard CG, Graulet AM, Guéris JL, Valleur PD. Inflammatory cytokine response in patients with septic shock secondary to generalized peritonitis. *Crit Care Med*. 2000 Feb;28(2):433-7.
133. Riché F, Gayat E, Collet C, Matéo J, Laisné MJ, Launay JM, Valleur P, Payen D, Cholley BP. Local and systemic innate immune response to secondary human peritonitis. *Crit Care*. 2013 Sep 12;17(5):R201.
134. Badiu DC, Paunescu V, Aungurenci A, Pasarica D. Proinflammatory cytokines in peritonitis. *J Med Life*. 2011 May 15;4(2):158-62. Epub 2011 May 25.
135. Thomson JE, Brand M, Fonteh P. The immune imbalance in the second hit of pancreatitis is independent of IL-17A. *Pancreatology*. 2018 Apr;18(3):246-252.
136. Shen Y, Cui N, Miao B, Zhao E. Immune dysregulation in patients with severe acute pancreatitis. *Inflammation*. 2011 Feb;34(1):36-42.
137. 37. Gupta DL, Bhoi S, Mohan T, Galwankar S, Rao DN. Coexistence of Th1/Th2 and Th17/Treg imbalances in patients with post traumatic sepsis. *Cytokine*. 2016 Dec;88:214-221.
138. Paraschos MD, Patrani M, Pistiki A, Katsenos C, Tsaganos T, Netea MG, Giamarellos-Bourboulis EJ, Mandragos K. Defective cytokine production early after multiple traumas: Modulation in severe sepsis. *Cytokine*. 2015 Dec;76(2):222-226
139. Wang Y, Liu Q, Liu T, Zheng Q, Xu X, Liu X, Gao W, Li Z, Bai X. Early plasma monocyte chemoattractant protein 1 predicts the development of sepsis in trauma patients: A prospective observational study. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Apr;97(14):e0356
140. Ahmed Ali, M., Mikhael, E.S., Abdelkader, A. *et al.* Interleukin-17 as a predictor of sepsis in polytrauma patients: a prospective cohort study. *Eur J Trauma Emerg Surg* **44**, 621–626 (2018).
141. Gołębek-Dropiewska K, Pawłowska J, Witkowski J, Lasek J, Marks W, Stasiak M, Jaskólski D, Kawecka A, Łuczkiwicz P, Baczkowski B. Analysis of selected pro- and anti-

Inflammatory cytokines in patients with multiple injuries in the early period after trauma. *Cent Eur J Immunol.* 2018;43(1):42-49

142. Jin, H., Liu, Z., Xiao, Y. *et al.* Prediction of sepsis in trauma patients. *Burn Trauma* **2**, 106–113 (2014).

143. Gao H, Evans TW, Finney SJ. Bench-to-bedside review: sepsis, severe sepsis and septic shock - does the nature of the Infecting organism matter? *Crit Care.* 2008;12(3):213.

144. Tang Y, Liao C, Xu X, Song H, Shi S, Yang S. Th1/Th2 cytokine profiles in G+/G-bacteremia in pediatric hematology/oncology patients. *Pediatr Blood Cancer.* 2012 Jan;58(1):50-4.

145. Cohen J. A role for the micro-organism in the outcome from Infection? A principle challenged. *Crit Care Med.* 2011 Aug;39(8):2001-2.

146. Mosevoll KA, Skrede S, Markussen DL, Fanebust HR, Flaatten HK, Aßmus J, Reikvam H, Bruserud Ø. Inflammatory Mediator Profiles Differ in Sepsis Patients With and Without Bacteremia. *Front Immunol.* 2018 Apr 6;9:691.

147. Feezor RJ, Oberholzer C, Baker HV, Novick D, Rubinstein M, Moldawer LL, Pribble J, Souza S, Dinarello CA, Ertel W, Oberholzer A. Molecular characterization of the acute Inflammatory response to Infections with gram-negative versus gram-positive bacteria. *Infect Immun.* 2003 Oct;71(10):5803-13.

148. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, Moreno R, Carlet J, Le Gall JR, Payen D; Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients Investigators. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med.* 2006 Feb;34(2):344-53.

149. Zahar JR, Timsit JF, Garrouste-Orgeas M, Français A, Vesin A, Descorps-Declere A, Dubois Y, Souweine B, Haouache H, Goldgran-Toledano D, Allaouchiche B, Azoulay E, Adrie C. Outcomes in severe sepsis and patients with septic shock: pathogen species and Infection sites are not associated with mortality. *Crit Care Med.* 2011 Aug;39(8):1886-95.

150. Zambon M, Ceola M, Almeida-de-Castro R, Gullo A, Vincent JL. Implementation of the Surviving Sepsis Campaign guidelines for severe sepsis and septic shock: we could go faster. *J Crit Care.* 2008 Dec;23(4):455-60

151. Afuwape OO, Ayandipo OO, Kuti M, Adigun TA, Idowu OK. Tumor Necrosis Factor-Alpha and Interleukin-1 Alpha as Predictors of Survival in Peritonitis: A Pilot Study. *Niger J Surg.* 2018 Jul-Dec;24(2):107-110.

152. Flierl MA, Rittirsch D, Gao H, Hoesel LM, Nadeau BA, Day DE, Zetoune FS, Sarma JV, Huber-Lang MS, Ferrara JL, Ward PA. Adverse functions of IL-17A in experimental sepsis. *FASEB J.* 2008 Jul;22(7):2198-205

153. Freitas A, Alves-Filho JC, Victoni T, Secher T, Lemos HP, Sônego F, Cunha FQ, Ryffel B. IL-17 receptor signaling is required to control polymicrobial sepsis. *J Immunol.* 2009 Jun 15;182(12):7846-54.

154. Morrow KN, Coopersmith CM, Ford ML. IL-17, IL-27, and IL-33: A Novel Axis Linked to Immunological Dysfunction During Sepsis. *Front Immunol.* 2019 Aug 22;10:1982

155. Tassinari M, Zannoli S, Farabegoli P, Pedna MF, Pierro A, Mastroianni A, Fontan R, Luongo L, Sarnataro G, Menegatti E, Caruso A, Sambri V. Rapid diagnosis of bloodstream Infections in the critically ill: Evaluation of the broad-range PCR/ESI-MS technology. *PLoS One.* 2018 May 15;13(5):e0197436.

## БИОГРАФИЈА

Др Ђукић Снежана је рођена 21. априла 1981. године у Косовској Митровици, Република Србија. Основну школу је завршила у Зубином Потоку, Средњу Медицинску школу са домом ученика у Косовској Митровици 2000. године са одличним успехом. Медицински факултет у Приштини са привременим седиштем у Косовској Митровици уписала је школске 2000/2001 године, а звање доктора медицине стекла је 2007. године са просечном оценом 9,21 као студент генерације. Након завршених студија обавила је обавезан приправнички стаж у Косовској Митровици и положила стручни испит 2008. године у Београду.

Специјализацију из области Анестезиологије је завршила 2016. године на ВМА, Београд. Ужу специјализацију из Медицине бола УКЦ Београд, завршила је 07.12.2023. године. Тренутно запослена на Медицинском факултету Универзитета у Приштини са привременим седиштем у Косовској Митровици као клинички асистент на катедри Хирургије.

Члан је Удружења анестезиолога и интензивиста Србије (UAIS SAAI), Европског удружења анестезиолога (ESA), члан председништва Секције за анестезиологију, интензивно лечење и терапију бола Српског лекарског друштва (SLD) и Лекарске коморе Србије.

Кандидат је објавио више радова као аутор или коаутор из области анестезиологије и експерименталне медицине у часописима који су на SCI листи.

Докторске академске студије уписала је 2016. године на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу и положила све испите предвиђене планом и програмом.

## БИБЛИОГРАФИЈА

1. **Ђукић S., Pavlović A., Ilić A. et al.** Cytokine profile in critically ill and/or injured patients with secondary sepsis - Influence of different pathogens, *Vojnosanitetski pregled*, 2023 OnLine-FirstIssue00,Pages:54-54

<https://doi.org/10.2298/VSP230105054D>

2. **S. Milosavljević, A. Pavlović, S Trpković, A. Ilić, A. Sekulić.** Influence of spinal and general anesthesia on the metabolic, hormonal, and hemodynamic response in elective surgical patients. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 20, pp 1833–1840, 2014.

3. **D. Đorđević, G. Rondović, M. Šurbatović, I. Stanojević, I. Udovičić, T. Anđelić, S. Zeba, S. Milosavljević, N. Stanković, D. Abazović, J. Jevđić, D. Vojvodić,** Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio, Monocyte-to-Lymphocyte Ratio, Platelet-to-Lymphocyte Ratio, and Mean Platelet Volume-to-Platelet Count Ratio as Biomarkers in Critically Ill and Injured Patients: Which Ratio to Choose to Predict Outcome and Nature of Bacteremia?. *Mediators of Inflammation*. 2018; 3758068, 2018.

4. **I. Udovičić, M. Šurbatović, G. Rondović, I. Stanojević, S. Zeba, D. Đorđević, A. Popadić, S. Milosavljević, N. Stanković, D. Abazović, D. Vojvodić.** Myeloid-derived suppressor cells

in secondary sepsis: Is there an association with lethal outcome? [Supresorske ćelije mijeloidnog porekla u sekundarnoj sepsi: postoji li povezanost sa smrtnim ishodom?]. *Vojnosanitetski Pregled*, 77 (8), pp 773–783, 2020.

Образац I

**ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Карактеристике медијатора инфламације у  
системској циркулацији крвнично обољелих  
пацијената са секундарном сепсом порекла  
перитонитиса, панкреатитиса и тешке трауме

представља оригинално ауторско дело настало као резултат сопственог истраживачког рада.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам једини аутор наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији нисам извршио/ла повреду ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

у Крагујевцу, 1.11.2023 године.

Ђукић Стефане  
потпис аутора

Образац 2

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ  
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:

Карактеристике мрежног инфраструктурног  
система; циркуларни и релативни  
појмови са секундарним сепарационим  
пројектом панкредитива, перитонитиса и  
Тешке трауме "

истоветне.

у Крагујевцу 1.11.2023 године.

Ђукић Снежана  
потпис аутора

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Ја, Ђукић Светлана

дозвољавам

не дозвољавам

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

Критеријумске механизме информације  
у системској циркулацији критично објекта  
изумљеног са секундарном серијом пресека  
перигонима, полиморфизма и тешке  
трајне

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

Овом Изјавом такође

дозвољавам




не дозвољавам<sup>1</sup>

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

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада<sup>2</sup>

у Крагујевцу, 1. 11. 2023 године,

  
потпис аутора

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

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