

**UNIVERZITET U BEOGRADU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Dr Suzana Č. Bojić**

**ZNAČAJ RANOG PREDVIĐANJA  
AKUTNOG OŠTEĆENJA BUBREGA KOD  
BOLESNIKA SA SEPSOM POSLE  
HIRURŠKIH INTERVENCIJA**

**Doktorska disertacija**

**Beograd, 2016**

**UNIVERSITY OF BELGRADE  
SCHOOL OF MEDICINE**

**Dr. Suzana C. Bojic**

**SIGNIFICANCE OF EARLY PREDICTION  
OF ACUTE KIDNEY INJURY  
IN SURGICAL PATIENTS WITH SEPSIS**

**Doctoral Dissertation**

**Belgrade, 2016**



**Mentor:**

---

Prof. dr Sanja Simić-Ogrizović,  
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

**Komentor:**

---

Prof. dr Nevena Kalezić,  
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

**Članovi komisije:**

---

Prof. dr Višnja Ležaić,  
Predsednica komisije,  
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

---

Prof. dr Nada Popović,  
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

---

Doc. dr Zorica Dimitrijević,  
Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu



*Zahvaljujem se svojoj mentorki, prof. dr Sanji Simić-Ogrizović,  
za ogromno znanje koje mi je nesebično prenela, za veliku  
podršku i neizmerno strpljenje koje je uvek imala.*

*Iskrenu i veliku zahvalnost dugujem svojoj komentorki,  
prof. dr Neveni Kalezić, na ukazanom poverenju i podršci.*

*Zahvaljujem se svim članovima komisije,  
Prof. dr Višnji Ležaić, Prof. dr Nadi Popović, Doc. dr Zorici Dimitrijević,  
na korisnim sugestijama.*

*Zahvaljujem se celokupnom kolektivu  
Kliničko-bolničkog centra "Bežanijska kosa",  
na razumevanju i pomoći tokom izrade doktorske disertacije.*

*Zahvaljujem se Katedri za specijalističku nastavu iz  
anesteziologije, reanimatologije i intenzivne terapije,  
Medicinskog fakulteta u Beogradu,  
što mi je omogućila da se usavršavam iz oblasti anesteziologije.*

*Neizmernu zahvalnost dugujem svojoj porodici i prijateljima,  
bez čije velike ljubavi i razumevanja  
izrada ove doktorske disertacije ne bi bila moguća.*



# ZNAČAJ RANOG PREDVIĐANJA AKUTNOG OŠTEĆENJA BUBREGA KOD BOLESNIKA SA SEPSOM POSLE HIRURŠKIH INTERVENCIJA

## *Sažetak*

**Uvod:** Akutno oštećenje bubrega u sepsi (S-AOB) značajno utiče na morbiditet i mortalitet hirurških bolesnika sa sepsom.

**Cilj:** Cilj naše studije je bio da se ispituju vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kod septičnih hirurških bolesnika sa S-AOB kao i da se evaluiira njihov značaj kao dijagnostičkih, prediktivnih i prognostičkih biomarkera S-AOB i sepse.

**Bolesnici i metode:** U ovoj prospektivnoj observacionoj studiji je poređeno 53 abdominalnih hirurških bolesnika obolelih od sepse, od čega 37 sa S-AOB i 16 bez S-AOB, sa kontrolnom grupom operisanih (n = 53) i kontrolnom grupom neoperisanih (n = 53) bolesnika sličnih po godinama, polu, komorbiditetima i tipu hirurške intervencije. Uzorci krvi i urina su uzimani pri prijemu u jedinicu intenzivnog lečenja i 24, 48, 72 i 96 sati kasnije od septičnih bolesnika i jednom od bolesnika kontrolnih grupa. U prikupljenim uzorcima su merene vrednosti standardnih biomarkera bubrežne funkcije kao i novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa. Skorovi težine bolesti su računati svakog dana posmatranja za sve bolesnike.

**Rezultati:** Septični bolesnici sa S-AOB su imali statistički značajno različite vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa u poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB i kontrolnim grupama. Vrednosti ovih biomarkera se nisu značajno menjale tokom 96 sati. Nađena je značajana korelacija između vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije, oksidativnog stresa i vrednosti standardnih biomarkera bubrežne funkcije i skorova težine bolesti. Pojedinačno ili u



kombinaciji, ispitivani biomarkeri su bili dobri dijagnostički, prediktivni i prognostički biomarkeri S-AOB i sepse.

**Zaključci:** Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa su potencijalno dobri dijagnostički, prediktivni i prognostički biomarkeri S-AOB i sepse.

**Ključne reči:** akutno oštećenje bubrega, biomarkeri, inflamacija, oksidativni stres, sepsa, hirurgija.

**Naučna oblast:** Nefrologija

## **SIGNIFICANCE OF EARLY PREDICTION OF ACUTE KIDNEY INJURY IN SURGICAL PATIENTS WITH SEPSIS**

### *Abstract*

**Introduction:** Sepsis-associated acute kidney injury (SA-AKI) severely impacts morbidity and mortality in the surgical patients with sepsis.

**Aim:** The aim of our study was to investigate the levels of the novel biomarkers of kidney injury, inflammation and oxidative stress in the septic surgical patients with SA-AKI and to evaluate their diagnostic, predictive and prognostic value in SA-AKI and sepsis.

**Patients and methods:** This prospective observational study compared 53 major abdominal surgery patients with sepsis divided into SA-AKI (n = 37) and non-SA-AKI (n =16) groups to 50 operated controls and 50 not-operated controls matched by age, gender, comorbidities and type of surgery. Blood and urine samples from the septic patients were collected on admission to Intensive Care Unit and 24 h, 48 h, 72 h and 96 h later and once from the controls. Standard and novel biomarkers of kidney function and injury, inflammation and oxidative stress were measured. Disease severity scores were calculated for all patients daily during the entire observational period.

**Results:** The septic patients with SA-AKI had altered levels of the novel biomarkers of kidney injury, inflammation and oxidative stress compared to the septic patients without sepsis and control groups. The levels of these biomarkers did not change significantly over 96 h. The novel biomarkers of kidney injury, inflammation and oxidative stress significantly correlated with the standard biomarkers of kidney function and disease severity scores. These biomarkers, independently or in combination, were good diagnostic, predictive and prognostic biomarkers of SA-AKI and sepsis.

**Conclusions:** The novel biomarkers of kidney injury, inflammation and oxidative stress could serve as potential diagnostic, predictive and prognostic biomarkers of SA-AKI and sepsis.

**Key words:** acute kidney injury, biomarkers, inflammation, oxidative stress, sepsis, surgery

**Scientific area:** Nephrology

# SADRŽAJ

<b>1</b>	<b>UVOD</b> .....	<b>1</b>
1.1	Akutno oštećenje bubrega - definicija, klasifikacija, faktori rizika, prevencija i lečenje .....	1
1.1.1	Definicija akutnog oštećenja bubrega.....	2
1.1.2	Klasifikacija akutnog oštećenja bubrega .....	3
1.1.3	Faktori rizika za nastanak akutnog oštećenja bubrega .....	4
1.1.4	Prevencija akutnog oštećenja bubrega.....	5
1.1.5	Lečenje akutnog oštećenja bubrega - tehnike zamene bubrežne funkcije.....	7
1.2	Akutno oštećenje bubrega kod bolesnika sa sepsom .....	17
1.2.1	Sepsa.....	17
1.2.2	Akutno oštećenje bubrega u sepsi (S-AOB).....	20
1.3	Akutno oštećenje bubrega kod hirurških bolesnika .....	23
1.4	Rano predviđanje akutnog oštećenja bubrega.....	24
1.4.1	Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja .....	25
1.4.1.1	Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL).....	26
1.4.1.2	Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) .....	27
1.4.2	Biomarkeri inflamacije .....	28
1.4.2.1	Matriks metaloproteinaza-9 (MMP-9) i tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1 (TIMP-1).....	29
1.4.3	Biomarkeri oksidativnog stresa .....	29
<b>2</b>	<b>CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....	<b>31</b>
<b>3</b>	<b>MATERIJALI I METODE</b> .....	<b>32</b>

3.1	Bolesnici .....	32
3.2	Metode .....	34
3.2.1	Klinička procena bolesnika .....	34
3.2.2	Uzorci krvi i urina.....	34
3.2.3	Biomarkeri bubrežne funkcije i oštećenja .....	35
3.2.4	Biomarkeri inflamacije .....	35
3.2.5	Biomarkeri oksidativnog stresa .....	36
3.2.6	Ostali laboratorijski parametri .....	36
3.3	Statistička analiza .....	37
<b>4</b>	<b>REZULTATI .....</b>	<b>38</b>
4.1	Razlike u vrednostima novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa između obolelih od sepse i kontrolnih grupa .....	38
4.1.1	Demografske i kliničke karakteristike obolelih od sepse i kontrolnih grupa ..	38
4.1.2	Vrednosti osnovnih laboratorijskih parametara kod obolelih od sepse pri prijemu u JIL i obe kontrolne grupe.....	40
4.1.3	Vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kod obolelih od sepse pri prijemu u JIL i obe kontrolne grupe .....	42
4.1.4	Dinamika vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kod obolelih od sepse .....	46
4.2	Razlike u vrednostima novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB .....	56
4.2.1	Demografske i kliničke karakteristike septičnih bolesnika sa i bez S-AOB ..	56
4.2.2	Razlike u vrednostima novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kod septičnih bolesnika sa i bez S-AOB .....	58
4.2.3	Dinamika novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kod septičnih bolesnika sa i bez S-AOB .....	64

4.3	Povezanost između novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa i standardnih biomarkera bubrežne funkcije .....	74
4.4	Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kao dijagnostički biomarkeri sepse.....	81
4.5	Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kao dijagnostički biomarkeri S-AOB .....	90
4.6	Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kao prediktori nastanka S-AOB.....	93
4.7	Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kao prognostički biomarkeri sepse .....	96
4.7.1	Predikcija primene tehnika zamene bubrežne funkcije, mehaničke ventilacije i vazopresora i/ili inotropa.....	96
4.7.2	Predikcija preživljavanja sepse.....	100
<b>5</b>	<b>DISKUSIJA .....</b>	<b>110</b>
<b>6</b>	<b>ZAKLJUČCI .....</b>	<b>123</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>125</b>

# 1 UVOD

## 1.1 Akutno oštećenje bubrega - definicija, klasifikacija, faktori rizika, prevencija i lečenje

Akutno oštećenje bubrega (AOB) je klinički sindrom koji podrazumeva naglo smanjenje bubrežne funkcije (1). Ranije prepoznati klinički entiteti kao što su akutna bubrežna insuficijencija ili akutna tubularna nekroza nisu obuhvatali i suptilniji porast vrednosti serumskog kreatinina. Međutim, vremenom je postalo jasno da čak i ova blaga smanjenja bubrežne funkcije mogu imati ozbiljne kliničke posledice uključujući i značajan porast mortaliteta (1, 2). Iz tih razloga je uveden pojam AOB koji obuhvata širok raspon oštećenja bubrežne funkcije od malih promena u vrednostima serumskog kreatinina i diureze do potpunog prestanka rada bubrega koji zahteva primenu tehnika zamene bubrežne funkcije (TZBF). Tako, sindrom AOB podrazumeva i morfološko oštećenje bubrežnog tkiva praćeno smanjenjem bubrežne funkcije ali i oštećenje bubrežne funkcije bez morfološkog supstrata. Razvoj AOB je povezan sa kratkoročnim morbiditetom i mortalitetom koji se ne mogu objasniti samo gubitkom bubrežne funkcije. Smanjeni bubrežni klirens citokina, kao i povećana produkcija citokina u samim oštećenim bubrežima, doprinosi sistemskoj inflamaciji. Iz tih razloga se AOB, čak, smatra sistemskom bolešću koja može imati značajne posledice na funkciju udaljenih organa kao i urođenog i stečenog imuniteta (3, 4). Nastanak AOB je i važan faktor rizika za nastanak *de novo* hronične bolesti bubrega (HBB) ili ubrzanja progresije već postojeće HBB što je povezano sa pogoršanjem kvaliteta života, invaliditetom i dugoročno velikim troškovima lečenja (2).

AOB se javlja kod 3 do 7% hospitalizovanih bolesnika (4), odnosno kod 10% do 67% bolesnika u jedinicama intenzivnog lečenja (JIL) (5). Uprkos značajnom usavršavanju

TZBF tokom poslednjih decenija, stopa mortaliteta povezana sa AOB je ostala nepromenjena (6).

### **1.1.1 Definicija akutnog oštećenja bubrega**

Jedan od osnovnih problema u vezi sa interpretacijom studija o AOB je bio nedostatak jedinstvene definicije AOB što je, neminovno, dovelo do velike heterogenosti rezultata u, pre svega, epidemiološkim ali i drugim studijama. Inicijalni naponi da se definiše AOB su se ogledali u uvođenju Risk, Injury, Failure, Loss and End stage kidney failure (RIFLE) (7) i Acute Kidney Injury Network (AKIN) (8) kriterijuma za dijagnostikovanje i klasifikaciju AOB.

Konačno, jedinstvena definicija AOB koja istovremeno sumira i dijagnostičke kriterijume za AOB je po prvi put predložena u Kidney Disease Improving Global Outcome (KDIGO): Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury vodiču (1).

Po ovoj definiciji, AOB postoji ukoliko je ispunjen bar jedan od sledećih uslova:

- Povećanje vrednosti serumskog kreatinina za  $\geq 26,5$   $\mu\text{mol/l}$  u poslednjih 48 sati ili
- Povećanje vrednosti serumskog kreatinina na vrednost 1,5 puta veću od bazalne a za koje se pretpostavlja ili zna da je nastalo u poslednjih 7 dana ili
- Diureza  $< 0,5/\text{kg/h}$  tokom sukcesivnih 6 sati.



### 1.1.2 Klasifikacija akutnog oštećenja bubrega

KDIGO vodič (1) takođe daje i klasifikacione kriterijume za AOB. U tabeli 1 su prikazani kriterijumi po kojima se bolesnici koji imaju AOB razvrstavaju po težini odnosno stadijumima AOB.

**Tabela 1. Klasifikacija akutnog oštećenja bubrega**

Stadijum	Serumski kreatinin	Diureza
1	1,5 - 1,9 puta veći od bazalne vrednosti ili Povećanje za $\geq 26,5 \mu\text{mol/l}$	$< 0,5/\text{kg/h}$ tokom 6 - 12 sati
2	2,0 - 2,9 puta veći od bazalne vrednosti	$< 0,5/\text{kg/h}$ tokom $\geq 12$ sati
3	3,0 puta veći od bazalne vrednosti ili $\geq 353,6 \mu\text{mol/l}$ ili Inicijacija zamene bubrežne funkcije ili JGF $< 35 \text{ ml/min}/1,73\text{m}^2$ kod $< 18$ godina	$< 0,3/\text{kg/h}$ tokom $\geq 24$ sata ili Anurija $\geq 12$ sati

JGF - Jačina glomerulske filtracije.

Jedan od osnovnih nedostataka serumskog kreatinina kao dijagnostičkog i klasifikacionog kriterijuma AOB je što u realnim kliničkim okolnostima njegova bazalna vrednost vrlo često nije poznata. Bolesnik može imati povišene vrednosti serumskog kreatinina i usled HBB koja nije prepoznata ili usled koegzistiranja HBB i AOB. U oba slučaja može doći do pogrešne dijagnoze ili klasifikacije AOB. KDIGO vodič (1) predlaže nekoliko različitih pristupa ovom problemu. Prvo, bazalna vrednost serumskog kreatina se može izračunati na osnovu Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) formule sa pretpostavkom da je jačina glomerulske filtracije (JGF)  $75 \text{ ml/min}/1,73\text{m}^2$ . Ovaj pristup je adekvatan samo za bolesnike bez istorije HBB. Drugo, kao bazalna vrednost serumskog

kreatinina se može uzeti i njegova najniža vrednost u toku hospitalizacije. Ovaj pristup nije adekvatan u slučaju hemodilucije izazvane masivnom nadoknadom tečnosti a dijagnostikovanje AOB je, posledično, retrogradno.

### 1.1.3 Faktori rizika za nastanak akutnog oštećenja bubrega

AOB je klinički sindrom uzrokovan širokim spektrom etioloških faktora. Uzroci AOB se klasično dele na prerrenalne ili tzv. nespecifične, renalne tj. specifične bolesti bubrega (npr. akutni intersticijalni nefritis, akutni vaskulitis bubrega, akutni glomerulonefritis) i postrenalne (npr. akutna opstruktivna nefropatija). Specifične bolesti bubrega i akutna opstruktivna nefropatija su uzrok do najviše 10% slučajeva AOB u opštoj populaciji (5), a praktično zanemarljiv u JIL. AOB uzrokovano prerrenalnim tj, nespecifičnim faktorima je daleko češće. Šta više, ne smatra se opravdanim ni postavljanje oštre granice između prerrenalnih i renalnih uzroka AOB. Zato je ispravnije govoriti o faktorima rizika za nastanak AOB umesto o etiološkim faktorima.

KDIGO vodič preporučuje da se rizik za nastanak nespecifičnog AOB kod svih bolesnika proceni na osnovu prisustva faktora rizika navedenih u tabeli 2 (1).

**Tabela 2. Faktori rizika za nastanak nespecifičnog akutnog oštećenja bubrega**

<b>Stanja</b>	<b>Predispozicije</b>
Sepsa	Dehidracija
Kritično oboleli	Starije životno doba
Šok	Ženski pol
Opekotine	Crna rasa
Trauma	Hronična bolest bubrega
Kardio hirurgija	Hronične bolesti srca, pluća i jetre
Velike nekardiohirurške hirurške procedure	Diabetes mellitus
Nefrotoksični lekovi	Maligni tumori
Radiokontrasti	Anemija
Biljni i životinjski otrovi	

Kao što se u tabeli 2 može videti, AOB se najčešće javlja kod kritično obolelih, pre svega bolesnika sa sepsom kao i kod hirurških bolesnika. O faktorima rizika za razvoj AOB u populaciji septičnih i hirurških bolesnika biće više reči u poglavljima 1.2 i 1.3, respektivno. Otkrivanje i modifikovanje faktora rizika su cilj prevencije nastanka i progresije AOB (9). Prilikom procene rizika za nastanak i progresiju AOB, važno je uzeti u obzir ceo klinički kontekst svakog pojedinačnog bolesnika i u skladu sa tim preduzeti adekvatne mere monitoringa bubrežne funkcije, odnosno pratiti vrednosti serumskog kreatinina i satne diureze u odgovarajućim vremenskim intervalima (1, 9).

#### **1.1.4 Prevencija akutnog oštećenja bubrega**

Kod bolesnika sa AOB ili obolelih u riziku za nastanak AOB moguće je preduzeti određene preventivne mere sa ciljem da se spreči nastanak AOB ili njegova progresija. Tu spada postizanje i očuvanje hemodinamskih ciljeva, optimizacija glikemije, kalorijskog i proteinskog unosa kao i adekvatna upotreba nefrotoksičnih lekova, diuretika i N-acetil cisteina.

Hemodinamski ciljevi obuhvataju postizanje i održavanje adekvatnog srčanog minutnog volumena kao i perfuzionog pritiska bubrega koji kod zdrave osobe iznosi oko 65 mmHg. U te svrhe preporučuje se povećanje cirkulatornog volumena rastvorima kristaloida, održavanje perfuzionog pritiska korišćenjem vazopresora zajedno sa tečnostima te protokolarizovan pristup u praćenju i postizanju hemodinamskih parametara i parametara oksigenacije, naročito kod visokorizičnih hirurških bolesnika i obolelih od sepse (1). Naravno, hemodinamski ciljevi se određuju po prioritetu lečenja stanja koja koegzistiraju kod istog bolesnika kao (10) kao i potrebama i mogućnostima svakog individualnog bolesnika.

Kod kritično obolelih u riziku za nastanak AOB glikemiju je potrebno održavati između 6,1 - 8,3 mmol/l i obezbediti energetske unos od 20 - 30 kcal/kg/dan sa 0,8 - 1,0 g/kg/dan proteina za nekatabolične pacijente, 1,0 - 1,5 g/kg/dan proteina za bolesnike kod kojih se primenjuju TZBF i maksimalno 1,7 g/kg/dan proteina za hiperkatabolične bolesnike i bolesnike na kontinuiranim TZBF (1). S obzirom da se ovi ciljevi u nekim situacijama ne mogu postići ili su u koliziji sa ciljevima lečenja drugog, koegzistirajućeg stanja (11), neophodno ih je razmotriti u kompletnom kliničkom kontekstu svakog individualnog bolesnika.

Iako upotreba diuretika u prevenciji i lečenju AOB ima duboke istorijske korene, aktuelni vodič ne preporučuje upotrebu diuretika u te svrhe osim u lečenju opterećenja tečnostima. Nekada široko prihvaćena upotreba niskih tzv. renalnih doza dopamina, fenoldopama i atrijalnog natriuretskog peptida se više ne preporučuje (1).

Aminoglikozidi su antibiotici sa najvećim nefrotoksičnim potencijalom. Ukoliko nije moguće koristiti alternativni antibiotik bez nefrotoksičnog dejstva, preporučuje se doziranje jednom dnevno, po mogućstvu lokalno, uz praćenje koncentracije leka u krvi ukoliko se aminoglikozid primenjuje duže od 24 sata u podeljenim dozama ili duže od 48 sati ako se primenjuje jednom dnevno. Ukoliko se upotreba amfotericina ne može izbeći, poželjna je upotreba lipidne formulacije (1).

Radiokontrasti, bez obzira da li sadrže jod, mogu uzrokovati AOB kod 1 - 2% obolelih sa normalnom bubrežnom funkcijom i kod čak 25% visokorizičnih pacijenta ili bolesnika sa HBB. Po KDIGO vodiču, od preventivnih intervencija efikasne su jedino ekspanzija cirkulišućeg volumena intravenskom primenom izotoničnih rastvora kristaloida u kombinaciji sa oralno primenjenim N-acetil cisteinom (1). Međutim, po skorašnjoj randomizovanoj kontrolisanoj studiji, nije bilo dokaza o efikasnosti N-acetil cisteina u prevenciji radiokontrastom izazvanog AOB (12).

N-acetil cistein se ne preporučuje ni u prevenciji AOB kod obolelih od sepse ili hirurških pacijenata zbog nedostataka dokaza o efikasnosti (1) ali se može ordinirati iz drugih indikacija (13).

Naravno, od suštinske je važnosti da se primena navedenih mera razmatra u kliničkom kontekstu koji je individualan za svakog bolesnika.

### **1.1.5 Lečenje akutnog oštećenja bubrega - tehnike zamene bubrežne funkcije**

Tehnike zamene bubrežne funkcije (TZBF) predstavljaju osnovu lečenja bolesnika sa AOB.

Ciljevi lečenja AOB primenom TZBF su:

- Održavanje homeostaze tečnosti, elektrolita i ostalih rastvorljivih supstanci kao i acidobazne ravnoteže,
- Prevencija daljeg oštećenja bubrega,
- Omogućavanje oporavka bubrega,
- Omogućavanje sprovođenja drugih suportativnih mera (primena antibiotika, nutritivna potpora).

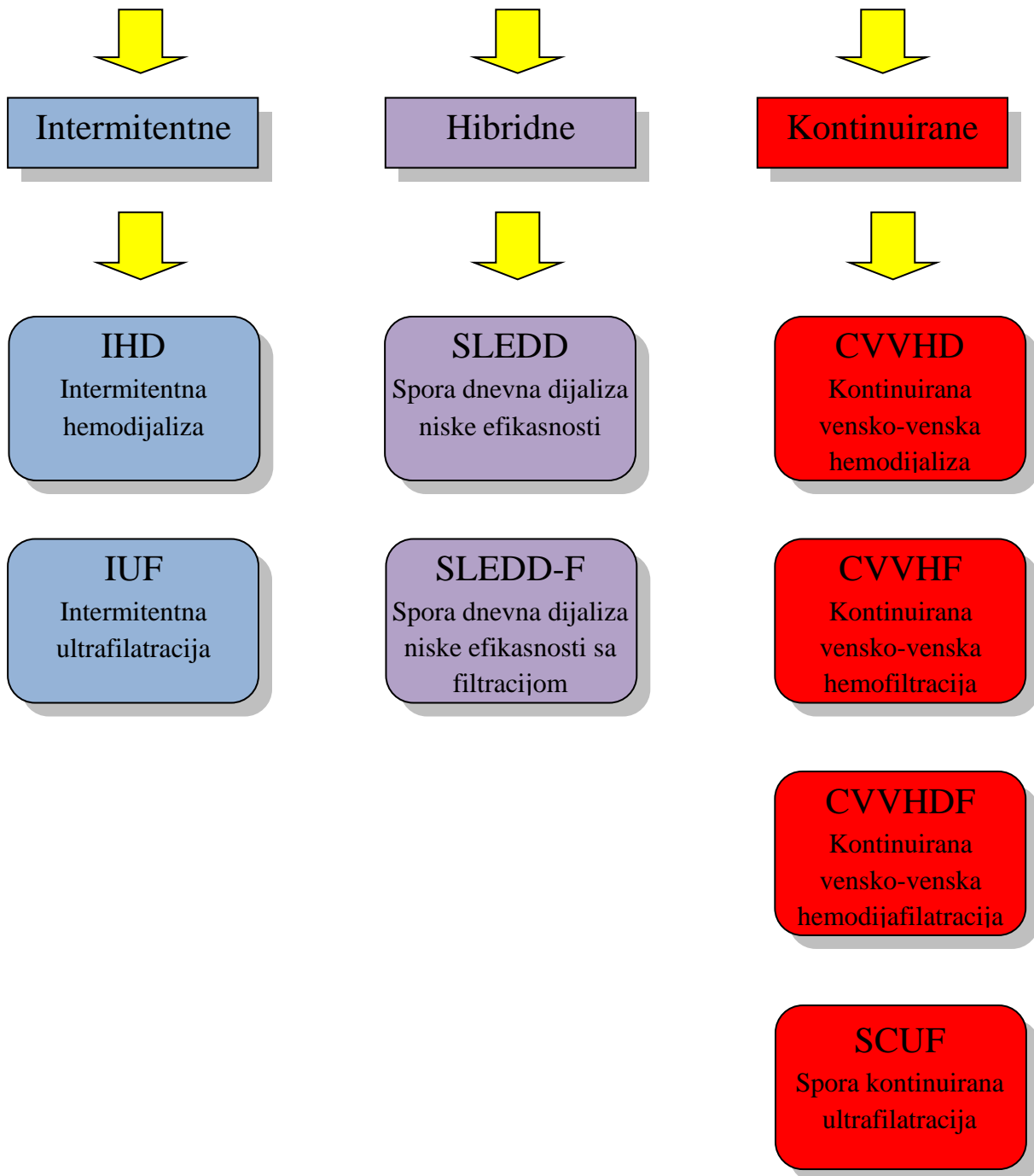
Indikacije za primenu TZBF u JIL (14) su:

- Oligurija < 200ml/12 sati,
- Hiperkalijemija > 6,5 mmol/l,
- Acidoza pH < 7,0,
- Uremija > 30 mmol/l,
- Komplikacije uremije,
- Natrijemija > 155 or < 120 mmol/l,
- Hiper- i hipotermija
- Trovanja dijalizabilnim supstancama.

U današnjim uslovima je, međutim, postalo izuzetno retko da se komplikacije uremije razviju kod bolesnika sa AOB. U svakodnevnoj kliničkoj praksi se apsolutne vrednosti elektrolita, pre svega kalijuma, ne smatraju “pragom” za inicijaciju TZBF već se razmatraju u kontekstu eventualnih EKG promena. Acidoza se inicijalno tretira rastvorima bikarbonata i samo se izuzetno, i to najčešće ukoliko je uzrokovana trovanjem kiselinama, smatra indikacijom za primenu TZBF. S obzirom na rizike, ali i troškove koji prate primenu TZBF kod kritično obolelih, neophodno je svakog bolesnika razmatrati individualno i pri tom uvek uzimati u obzir celokupan klinički kontekst.

Na grafikonu 1 prikazane su TZBF koje se koriste u lečenju AOB u populaciji kritično obolelih. Primena peritoneumske dijalize nije uobičajena kod odraslih kritično obolelih (15) i kontraindикована je kod bolesnika nakon hirurških intervencija u abdomenu.

# Tehnike zamene bubrežne funkcije



Grafikon 1. Tehnike zamene bubrežne funkcije

Prednosti intermitentnih TZBF su relativno niža cena u poređenju sa kontinuiranim, fleksibilnost u vremenu i mestu korišćenja, brzo odstranjivanje viška cirkulišuće tečnosti, dijalizabilnih lekova i toksina, brza regulacija acidobazih i elektrolitnih disbalansa kao i minimalno izlaganje antikoagulansima. Relativno učestala hipotenzija kao i rizik za razvoj ili pogoršanje edema mozga predstavljaju glavna ograničenja u primeni intermitentnih TZBF kod kritično obolelih.

Kontinuirane TZBF u odnosu na intermitentne karakteriše bolja hemodinamska stabilnost bolesnika, stabilna i predvidiva kontrola cirkulišućeg volumena i biohemijskih parametara kao i manji uticaj na porast intrakranijalnog pritiska. Međutim, potreba za kontinuiranom antikoagulacijom, češće začepljenje filtera, veliki troškovi, imobilnost tj. teškoće u transportu bolesnika i opreme vrlo često ograničavaju primenu kontinuiranih TZBF. Zbog bolje hemodinamske stabilnosti bolesnika kao i manjih fluktuacija osmotskog pritiska što je od esencijalne važnosti kod npr. traumatskih povreda mozga, kontinuirane TZBF se smatraju poželjnijim u JIL (16).

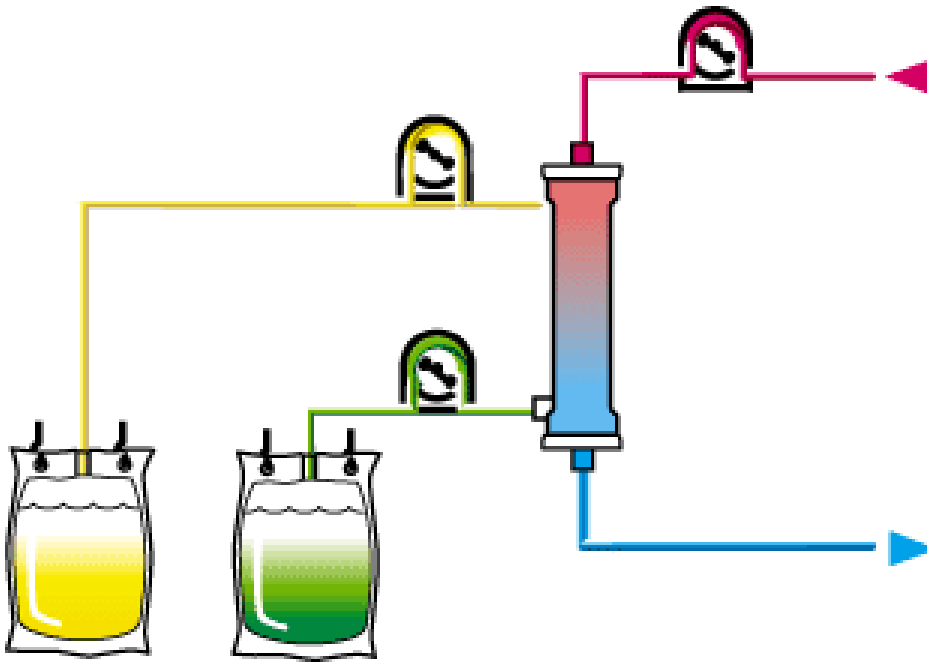
Za koju će se tehniku opredeliti intenzivista ili nefrolog zavisi od više faktora među kojima, čak i u najopremljenijim JIL, dominira raspoloživost što samih aparata što osoblja koje je obučeno da radi sa njima. Iz tih razloga u poslednje vreme se sve više koriste hibridne TZBF koje kombinuju prednosti intermitentnih i kontinuiranih tehnika (17-19). Spora dnevna dijaliza niske efikasnosti (SLEDD) i spora dnevna dijaliza niske efikasnosti sa filtracijom (SLEDD-F) su, u suštini, intermitentne TZBF u kojima su protoci slični onima u kontinuiranim tehnikama ali se koriste intermitentno u periodima dužim nego što je to uobičajemo u klasičnim intermitentnim tehnikama.

Uprkos brojnim studijama, za sada nema konkretnih dokaza o apsolutnom preimućtvu kontinuiranih nad intermitentnim tehnikama (20, 21). Šta više, oni se smatraju komplementarnim u lečenju AOB s tim što se prednost daje kontinuiranim kod hemodinamski nestabilnih bolesnika i bolesnika sa povišenim intrakranijalnim pritiskom ili edemom mozga (1). Kod bolesnika sa povišenim intrakranijalnim pritiskom ili edemom



mozga prednost treba dati kontinuiranim ili hibridnim TZBF ili, čak, peritoneumskoj dijalizi pre nego intermitentnim TZBF (22).

Iako nema dokaza o većoj efikasnosti kontinuiranih nad intermitentnim TZBF, kontinuirane TZBF se daleko češće koriste u JIL u razvijenim zemljama (21, 23). Iz tog razloga će u narednom tekstu detaljnije biti prikazane najznačajnije kontinuirane TZBF.

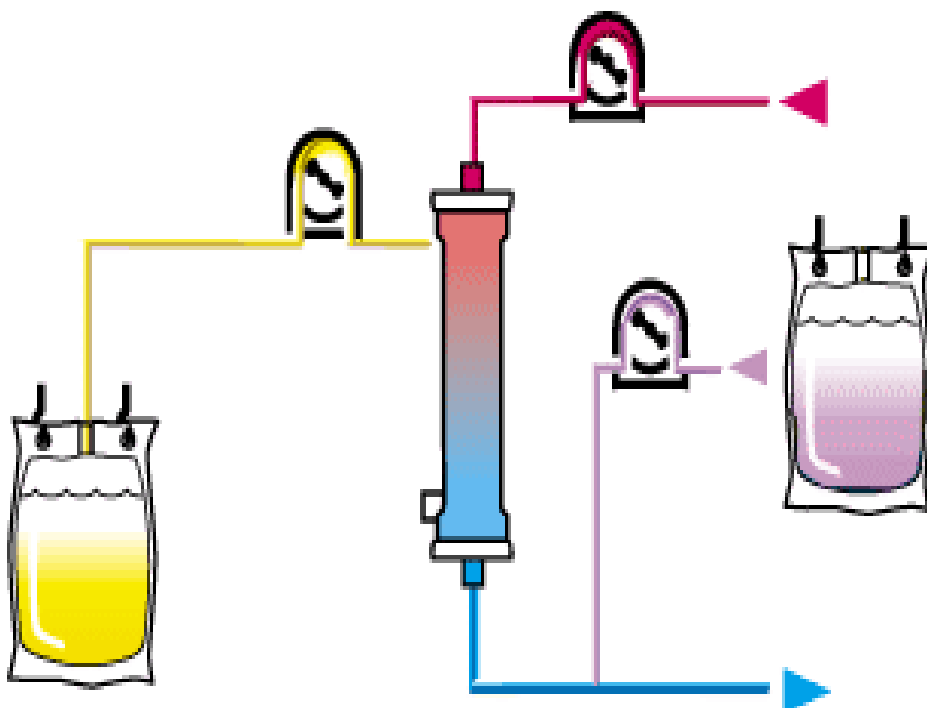


## Grafikon 2. Kontinuirana vensko-venska hemodijaliza.

Zelena keska- dijalizat, žuta keska - efluentna tečnost.

(Preuzeto sa <http://www.slideshare.net/fergua/renal-replacement-therapy-in-intensive-care.>)

Kontinuirana vensko-venska hemodijaliza (CVVHD) je TZBF koja se prevashodno zasniva na principu difuzije rastvorljivih molekula preko dijalizne membrane u dijalizat koji teče u smeru suprotnom od smera protoka krvi bolesnika kroz filter aparata (Grafikon 2). U ovoj tehnici se ne koristi zamenska tečnost pa zapremina efluentne tečnosti predstavlja zbir zapremine tečnosti odstranjene iz bolesnika i zapremine dijalizata. Indikovana je za odstranjivanje tečnosti i malih molekula. Protok krvi bolesnika je najčešće 50 do 200 ml/min, protok dijalizata 15 do 60 ml/min, a brzina ultrafiltracije 1 do 8 ml/min.

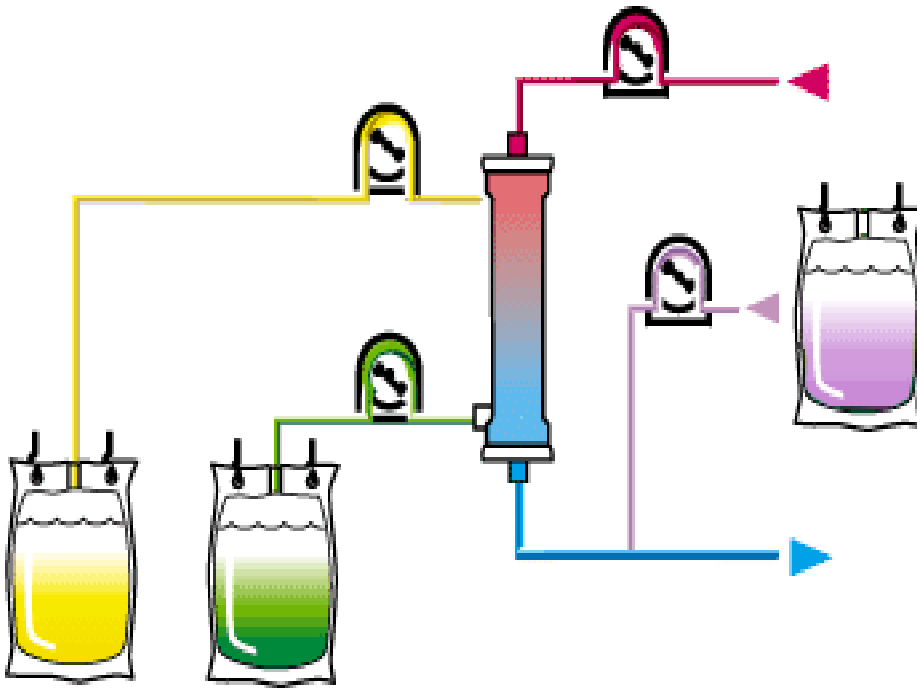


### Grafikon 3. Kontinuirana vensko-venska hemofiltracija.

Ljubičasta kesha - zamenska tečnost, žuta kesha - efluentna tečnost.

(Preuzeto sa <http://www.slideshare.net/fergua/renal-replacement-therapy-in-intensive-care.>)

Dominantan proces u kontinuiranoj vensko-venskoj hemofiltraciji (CVVHF) (Grafikon 3) je ultrafiltracija krvi preko dijalizne membrane bez upotrebe dijalizata. Zamenska tečnost se može dodati ili pre ili posle filtera pa tako imamo predilucionu i postdilucionu CVVHF. Volumen efluentne tečnosti je zbir volumena tečnosti koja je odstranjena iz bolesnika i zamenske tečnosti. Ova tehnika je indicovana kod bolesnika kod kojih je potrebno odstraniti elektrolite, toksine i druge rastvorljive supstance dok je, istovremeno, potrebno održati nulti ili pozitivni balans tečnosti. Protok krvi se najčeće podešava na 50 do 200 ml/min, a brzina ultrafiltracije na 10 do 60 ml/min.

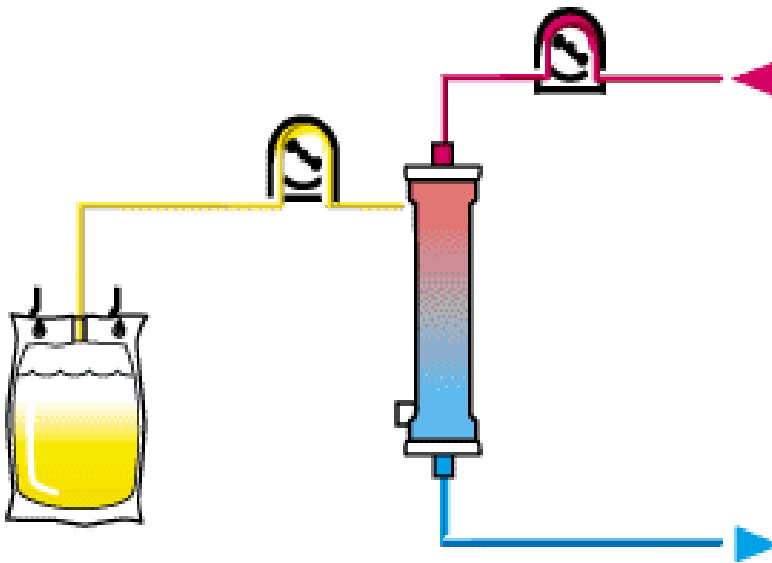


#### **Grafikon 4. Kontinuirana vensko-venska hemodijafiltracija.**

Ljubičasta kesha - zamenska tečnost, zelena kesha - dijalizat, žuta kesha - efluentna tečnost.

(Preuzeto sa <http://www.slideshare.net/fergua/renal-replacement-therapy-in-intensive-care>.)

Kontinuirana vensko-venska hemodijafiltracija (CVVHDF) objedinjuje karakteristike CVVHD i CVVHF što je čini najverzatilnijom TZBF. Efluentni volumen predstavlja zbir volumena tečnosti koja je odstranjena iz bolesnika, dijalizata i zamenske tečnosti (Grafikon 4). Indikovana je kod bolesnika kod kojih postoji preopterećenje tečnostima uz istovremenu potrebu za odstranjivanjem rastvorenih molekula ili regulacije elektrolitnog i/ili acidobaznog statusa. Protok krvi je najčešće 50 do 200 ml/min, dijalizata 15 do 30 ml/min, zamenske tečnosti 10 do 30 ml/min, a brzina ultrafiltracije 10 do 60 ml/min.



### Grafikon 5. Spora kontinuirana ultrafiltracija.

Žuta kesica - efluentna tečnost.

(Preuzeto sa <http://www.slideshare.net/fergua/renal-replacement-therapy-in-intensive-care>.)

Spora kontinuirana ultrafiltracija (SCUF) je najjednostavnija TZBF u kojoj krv bolesnika prelazi preko dijalizne membrane pri čemu se odstranjuje prvenstveno voda što ovu tehniku čini nepogodnom za odstranjivanje rastvorenih molekula (Grafikon 5). Iz tih razloga je pogodna za primenu kod bolesnika sa preopterećenjem tečnostima bez uremije, elektrolitnog ili acidobaznog disbalansa. Efluentni volumen je jednak volumenu tečnosti koja je odstranjena iz bolesnika jer se ne primenjuju ni dijalizat ni zamenska tečnost. Protok krvi se i ovde najčeće podešava na 50 do 200 ml/min, a brzina ultrafiltracije je 2 do 8 ml/min.

Što se doziranja TZBF tiče, važeće KDIGO preporuke su Kt/V 3,9 nedeljno za intermitentne tehnike i 20 - 25 ml/kg/h efluentnog volumena za kontinuirane (1). Međutim, s obzirom na praktične aspekte računanja Kt/V, European Renal Best Practice (ERBP) vodič ne preporučuje ovaj parametar za merenje doze intermitentne TZBF. Takođe, u kontinuiranim TZBF se ne preporučuju efluentni volumeni veći od 25 ml/kg/h (22).

Dva osnovna pitanja sa kojima se susreću nefrolozi i intenzivisti koji učestvuju u lečenju obolelih od teškog AOB su da li i kada započeti primenu TZBF. Opšte je prihvaćeno da se primena TZBF započne što pre ukoliko postoje životno ugrožavajući poremećaji koje nije moguće uspešno korigovati konzervativnim merama kao što su teška hiperkalijemija, metabolička acidoza, plućni edem ili uremijske komplikacije. Što se ostalih indikacija tiče, uvek je potrebno sagledati širi klinički kontekst u smislu procene potencijalne koristi i štete i ne oslanjati se samo na vrednosti serumskog kreatinina kao praga za započinjanje primene TZBF (1). Postoji opšta saglasnost da rano započinjanje primene TZBF sa ciljem da se očuva rezidualna bubrežna funkcija može da dovede do smanjenja mortaliteta bolesnika u poređenju sa kasno započetom primenom TZBF koja za cilj ima zamenu već potpuno izgubljene bubrežne funkcije. Iako je verovatno da je pravovremeno započinjanje primene TZBF udruženo sa poboljšanjem ishoda lečenja, u literaturi, za sada, nema dovoljno dokaza da se precizno identifikuje najadekvatniji trenutak za započinjanje primene TZBF (24, 25). U pripremi su velike multicentrične randomizovane studije koje bi mogle da daju odgovore na ova pitanja (26).

Precizni kriterijumi za obustavu primene TZBF nikada nisu jasno bili definisani. Očigledno je da sa primenom TZBF treba prestati kada se bubrežna funkcija oporavi dovoljno da zadovoljava potrebe pacijenta. U slučaju da se bubrežna funkcija nije oporavila ali su se ciljevi lečenja promenili, preporučuje se prekid primene TZBF. Upotreba diuretika sa idejom da se ubrza oporavak bubrežne funkcije ili smanji trajanje ili učestalost primene TZBF se ne preporučuje (1).

Upotreba antikoagulanasa je obavezna u toku primene TZBF. Ukoliko pacijent nije u povećanom riziku od krvarenja, nema poremećenu koagulaciju ili već nije na sistemskoj

antikoagulaciji, preporučuje se upotreba nefrakcionisanog ili niskomolekularnog heparina za intermitentne TZBF, regionalne citratne antikoagulacije za kontinuirane TZBF ukoliko nema kontraindikacija za primenu citrata, odnosno nefrakcionisani ili niskomolekularni heparin ukoliko ima kontraindikacija za primenu citrata. Ukoliko bolesnik ima povećani rizik od krvarenja, a nije već na antikoagulantnoj terapiji, treba koristiti regionalnu citratnu antikoagulaciju ukoliko nema kontraindikacija za citrat i izbegavati regionalnu heparinizaciju. Kod bolesnika sa heparinom uzrokovanom trombocitopenijom, preporučuje se korišćenje direktnih inhibitora trombina ili inhibitora faktora Xa (1). Skorašnja multicentrična randomizovana studija je potvrdila da u kontinuiranim TZBF nema razlike između citratne i heparinske antikoagulacije u smislu ishoda lečenja ali da je citratna superiorna u pogledu bezbednosti, efikasnosti i troškova u populaciji kritično obolelih sa AOB (27).

Važeće preporuke daju prednost upotrebi bikarbonatnih dijaliznih rastvora naročito kod bolesnika sa šokom, insuficijencijom jetre i laktičkom acidozom (1).

U smislu odabira dijaliznih venskih katera, preporučuje se plasiranje netunelizovanih katetera bez kafa. Prvi izbor je plasiranje u v. jugularis dex. zatim vv. femoralis pa v. jugularis sin., i na kraju v. subclavia dominantne strane (1, 22). Plasiranje i dalje održavanje dijaliznog katetera se ne razlikuje od plasiranja i održavanja bilo kog drugog centralnog venskog katetera.

## **1.2 Akutno oštećenje bubrega kod bolesnika sa sepsom**

### **1.2.1 Sepsa**

Sepsa je teško i često fatalno oboljenje. Njeno lečenje je udruženo sa značajnom potrošnjom ljudskih i finansijskih resursa. Incidencija sepse u razvijenim zemljama se

procenjuje na između 0.4 i 3 obolela na 1000 stanovnika. U JIL, između 10% i 63% bolesnika je obolelo od sepse dok se u striktno hirurškim JIL dijagnoza sepse sreće kod 8,7% do 30% bolesnika (28). Mortalitet obolelih od sepse iznosi 28,6% (29). U opštoj populaciji, sepsa je, posle kardiovaskularnih bolesti i karcinoma, treći najučestaliji uzrok smrti. Takođe predstavlja i vodeći uzrok smrti u nekoronarnim JIL (30).

Dijagnostikovanje i klasifikovanje sepse se vrši na osnovu American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference (ACCP/SCCM) kriterijuma (31) koji su inkorporirani i u međunarodni vodič za lečenje sepse Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012 (SSC) (11).

Sepsa je definisana kao sindrom sistemskog inflamatornog odgovora (SIRS) dokazano ili verovatno uzrokovan infekcijom. Infekcija je najčešće bakterijskog porekla ali je mogu izazvati i virusi, gljivice i paraziti.

Dijagnoza SIRS se postavlja ukoliko su ispunjena bar dva od četiri kriterijuma:

- Telesna temperatura  $> 38,3^{\circ}\text{C}$  ili temperatura unutrašnjosti tela  $< 36^{\circ}\text{C}$ ,
- Srčana frekvenca  $> 90/\text{min}$  ili više od dve standardne devijacije iznad normalnih vrednosti za uzrast,
- Disajna frekvenca  $> 20/\text{min}$  ili  $\text{pCO}_2 < 32 \text{ mmHg}$ ,
- Leukocitoza  $> 12 \times 10^9/\text{l}$  ili leukopenija  $< 4 \times 10^9/\text{l}$  ili normalan broj leukocita sa više od 10% nezrelih formi.

Kriterijumi definišu i tri nivoa težine sepse pa bolesnik može imati sepsu koja ne ispunjava kriterijume za tešku sepsu i septični šok, tešku sepsu ili septični šok. Da bi se izbegla dvoznačnost, u daljem tekstu će pacijenti koji ispunjavaju kriterijume za sepsu, ali ne i za tešku sepsu i septični šok, biti označeni kao pacijenti sa SIRS-om. U tom smislu, važno je napomenuti da se SIRS može javiti i u stanjima koja nisu izazvana infekcijom kao što su trauma, opekotine i sl.



Tešku sepsu karakteriše sepsom uzrokovana hipoperfuzija tkiva ili disfunkcija bar jednog organa ili organskog sistema. Sepsom izrokovana hipoperfuzija tkiva se definiše kao sepsom uzrokovana hipotenzija, povišenje laktata ili oligurija. Sepsom uzrokovana hipotenzija se definiše kao sistolni krvni protisak (SKP) < 90 mmHg ili srednji arterijski pritisak < 70 mmHg ili pad SKP > 40mmHg ili za više od dve standardne devijacije ispod normalnih vrednosti za uzrast u odsustvu drugih uzroka hipotenzije.

Septični šok se odlikuje sepsom uzrokovanom hipotenzijom koja perzistira uprkos adekvatnoj nadoknadi tečnosti.

Lečenje sepse je kompleksno i zavisi od brojnih faktora, najviše od drugih bolesti i stanja koja neretko koegzistiraju sa sepsom kod kritično obolelih (npr. trauma, opekotine i sl.) kao i od resursa kojima JIL raspolaže. Iz tog razloga je 2012. god. predložena poslednja verzija već pomenutog međunarodnog SSC vodiča za lečenje teške sepse i septičnog šoka (11) čije su okosnice pravovremena administracija antibiotika i nadoknada tečnosti. Postoje indicije da će se izvesni, pre svega hemodinamski, aspekti terapije sepse promeniti u skoroj budućnosti (32) ali, za sada, terapijski ciljevi propisani ovim vodičem ostaju na snazi. Postoje studije koje ukazuju da bi se TZBF, kao način modulacije imunog odgovora, mogle koristiti u lečenju sepse nezavisno od postojanja AOB (33).

Sepsa kod hirurških bolesnika se definiše kao sepsa zbog koje je potrebno izvesti hiruršku intervenciju sa ciljem kontrole izvora infekcije ili kao sepsa nastala 14 dana nakon hirurške intervencije. Sepsa je, kod hirurških bolesnika, čak češća komplikacija u ranom postoperativnom periodu od infarkta miokarda ili plućne embolije. Starost veća od 60 godina, hitna hirurška intevencija, kao i prisustvo bilo kog komorbiditeta, višestruko povećavaju rizik od lošeg ishoda lečenja u ovoj populaciji septičnih bolesnika (34). Sepsa kod hirurških bolesnika se smatra različitom od sepse kod nehirurških, internističkih bolesnika iz nekoliko razloga (4). Prvo, hirurška trauma i lekovi korišćeni u anesteziji utiču na lokalni i sistemski imuni odgovor. Hirurška trauma dovodi do aktivacije makrofaga, neutrofila, ćelija ubica i endotelnih ćelija koji onda sintetišu tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-6 i druge medijatore inflamacije u okviru urođenog imuniteta. Stečeni imunitet

se takođe aktivira i to zahvaljujući proinflamatornim tip-1 helper (Th1) i antiinflamatornim tip-2 helper (Th2) ćelijama (35). Drugo, za razliku od internističkih bolesnika, hirurškim bolesnicima sa sepsom je često potrebna hitna hirurška intevencija zbog kontrole izvora infekcije. Kontrola izvora infekcije mora biti koordinirana sa drugim reanimacionim merama ali ima potencijal da dramatično utiče na tok sepse (11).

### **1.2.2 Akutno oštećenje bubrega u sepsi (S-AOB)**

Sepsa je najčešći izrok AOB (1, 36). Po, za sada, jedinoj epidemiološkoj studiji koja je koristila nove KDIGO kriterijume za dijagnozu AOB kod 40,7% bolesnika lečenih u JIL koji su imali AOB, sepsa je bila uzročnik AOB (36). Težina sepse značajno povećava incidenciju AOB (37), a AOB je često teže kod obolelih od sepse nego kod bolesnika bez sepse (5). Dodatno, kod čak 6,1% obolelih od teške sepse će biti primenjene TZBF (38), što značajno uvećava ionako velike troškove lečenja. Mortalitet bolesnika koji imaju i sepsu i AOB je značajno veći od mortaliteta bolesnika koji imaju samo jedno od ova dva stanja (4).

AOB u sepsi (S-AOB) se zbog svoje jedinstvene patofiziologije smatra posebnim, specifičnim podtipom AOB (5). Prvobitno, makrohemodinamske promene koje nastaju u sepsi, slične onima koje se viđaju u šoku ili srčanoj insuficijenciji su smatrane odgovornim za nastanak S-AOB. Kao najverovatniji patofiziološki mehanizam nastanka S-AOB opisivana je hipoperfuzija bubrega. Međutim, u histološkim preparatima S-AOB su viđene promene potpuno različite od onih koje bi se očekivale ukoliko bi hipoperfuzija bubrega bila uzrok S-AOB. U parenhimu bubrega bolesnika sa S-AOB su opisana nehomogena, “zakrpasta” oštećenja parenhima sa poljima tubulocita sa apikalnom vakuolizacijom uz istovremeno odsustvo tubularne nekroze i ekstenzivne apoptoze (39). Studije na životinjskim modelima S-AOB su demonstrirale redistribuciju intrarenalnog protoka krvi sa očuvanom kortikalnom ali smanjenom medularnom oksigenacijom i perfuzijom (40). Svi ovi nalazi ukazuju na to da hipoperfuzija bubrega izazvana makrohemodinamskim

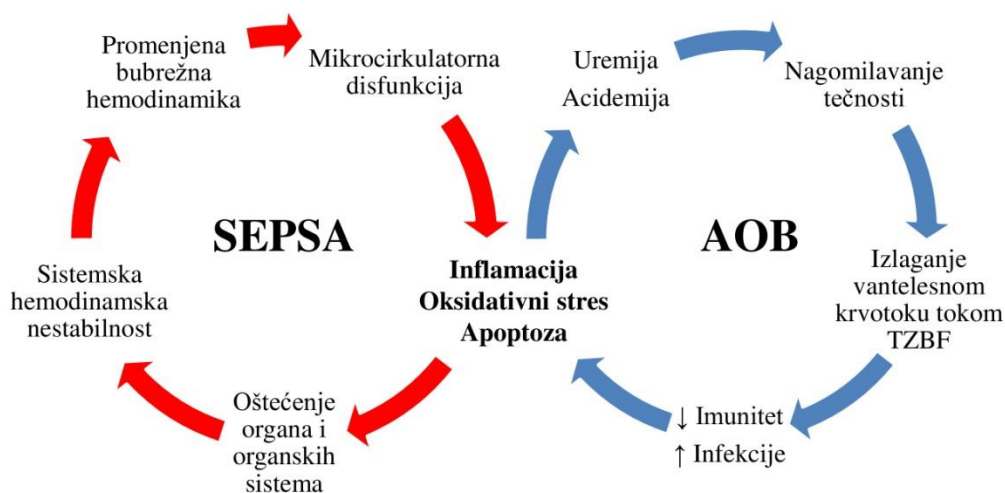
promenana u sepsi nije uzrok S-AOB. Štaviše, mnoge ključne patohistološke karakteristike S-AOB se mogu izazvati izlažući ćelijske kulture humanih tubulocita plazmi septičnih bolesnika (41) što ukazuje da se S-AOB ne može objasniti samo na osnovu bilo makro- ili mikrohemodinamskih promena izazvanih sepsom.

Bez obzira na težinu sepse i AOB, tri ključne patofiziološke promene su uvek udružene u S-AOB: inflamacija, poremećaj bubrežne mikrocirkulacije i bioenergetski adaptivni odgovor na oštećenje ćelija (42-44). Patogeni i aktivirane imune ćelije u sepsi generišu medijatore koji upravljaju inflamatornim odgovorom. Ovi medijatori inflamacije dospevaju preko glomerula i peritubularnih kapilara do tubulocita i uzrokuju njihovo oštećenje. S obzirom da bubrezi dobijaju 20% minutnog volumena srca i da se svakog minuta u njima filtrira oko 120 - 150 ml plazme, očekivalo bi se da su svi nefroni podjednako izloženi dejstvu ovih medijatora te da će oštećenje tubulocita biti homogeno. Međutim, kao što je već pomenuto, oštećenja tubulocita imaju nehomogenu, "zakrpastu" distribuciju. Pretpostavlja se da uzrok tome leži u nehomogenim mikrovaskularnim promenama koje nastaju u sepsi a koje podrazumevaju smanjenje broja kapilara sa kontinuiranim protokom uz istovremeno povećanje broja kapilara bez protoka ili sa intermitentnim protokom (45). U ovim regijama sa smanjenim protokom će se vremenom razviti hipoksija uz istovremeno produženje izloženosti medijatorima zapaljenja. Hipoksija sama po sebi kao i medijatori zapaljenja dalje dovode do oksidativnog stresa koji se morfološki ogleda u apikalnoj vakuolizaciji tubulocita. Oksidativni stres dalje inicira bioenergetski adaptivni odgovor tubulocita koji karakterišu reprioritizacija energetske potrošnje, usporavanje metabolizma i zaustavljanje ćelijske deobe. Ovaj adaptivni odgovor ima za cilj da omogući preživljavanje individualnih tubulocita po ceni smanjenja bubrežne funkcije da bi, po prestanku insulta koji je uzrokovao AOB, došlo do što ranijeg oporavka bubrega (42).

Opisani mehanizmi objašnjavaju način na koji sepsa uzrokuje oštećenje tubula u S-AOB ali ne povezuju rano oštećenje tubula sa smanjenjem JGF. Suprotno, mikrovaskularna disfunkcija, ekstraglomerularno šantovanje i smanjenje broja funkcionalnih kapilara mogu da objasne smanjenje JGF u S-AOB ali ne objašnjavaju kako nastaje opisano oštećenje tubula. Povezanost između oštećenja tubula i smanjenja JGF se možda može objasniti

tubuloglomerularnom povratnom spegom. Oštećenje tubula u S-AOB remeti reapsorpciju Na preko Na/K/2Cl kotransportera u proksimalnim tubulima što povećava količinu NaCl koja dolazi do maculae densae i pokreće tubuloglomerularnu povratnu spegu. Njeno aktiviranje smanjuje hidrostatski pritisak u glomerulima i posledično dovodi do smanjenja JGF (42).

Patofiziološke interakcije sepse i AOB prikazane su na grafikonu 6.



### Grafikon 6. Patofiziološke interakcije sepse i AOB.

AOB - Akutno oštećenje bubrega

(Romanovsky A, Morgan C, Bagshaw SM. Pathophysiology and management of septic acute kidney injury. *Pediatr Nephrol.* 2014; 29:1–12).

### **1.3 Akutno oštećenje bubrega kod hirurških bolesnika**

AOB se smatra teškom komplikacijom u perioperativnom periodu jer značajno doprinosi intrahospitalnom morbiditetu i mortalitetu hirurških bolesnika (46). Učestalost AOB varira u zavisnosti od tipa hirurgije. U abdominalnoj hirurgiji do 23% bolesnika razvije AOB (47), a nastanak AOB u perioperativnom periodu rezultira osmostrukim porastom mortaliteta ovih bolesnika (48). Kod kardiohirurških procedura sa kardipulmonalnim bajpasom AOB se javlja i kod do 39% bolesnika (49). Jedinstvena karakteristika kardiohirurške populacije je poznat početak i trajanje delovanja insulta koji izaziva AOB. Zato je ova populacija najzahvalnija za izvođenje prospektivnih studija o AOB. Šta više, prve kliničke studije o novim biomarkerima bubrežnog oštećenja kao i najveći broj ovih studija je izveden upravo na populaciji kardiohirurških bolesnika.

U populaciji nekardiohirurških bolesnika, prethodna istraživanja su identifikovala starije životno doba, sepsu, hitnu i abdominalnu hirurgiju, dijabetes, kardiovaskularne bolesti, hroničnu bolest bubrega, American Society of Anesthesiologists (ASA) i Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II) skorove kao neke od najznačajnijih faktora rizika za razvoj AOB u perioperativnom periodu (47, 48, 50, 51). Evropsko udruženje anesteziologa predlaže korišćenje Katerpalovog indeksa za procenu rizika za nastanak AOB u postoperativnom periodu kod bolesnika koji se podvrgavaju nekardiohirurškim intervencijama (48, 52).

U našoj studiji smo se fokusirali na septične bolesnike koji su podvrgnuti velikoj abdominalnoj hirurškoj intervenciji jer se ova populacija smatra visoko rizičnom za nastanak S-AOB. Iznenadujuće je da do sada nije objavljena ni jedna studija koja bi prikazala incidenciju S-AOB u populaciji septičnih bolesnika koji su podvrgnuti velikoj abdominalnoj hirurškoj intervenciji.

## 1.4 Rano predviđanje akutnog oštećenja bubrega

Jedna od osnovnih karakteristika serumskog kreatinina i diureze je da su oni, pre svega, biomarkeri bubrežne funkcije a ne biomarkeri bubrežnog oštećenja. To znači da daju vrlo malo informacija o morfološkim promenama u bubrežnom parenhimu.

Pored serumске uree, oni predstavljaju daleko najčešće i najduže korišćene biomarkere bubrežne funkcije. Međutim, njihova upotreba kao dijagnostičkih kriterijuma za AOB je skopčana sa izvesnim ograničenjima. Pored bubrežne funkcije, na koncentraciju kreatinina u serumu utiču i brojni drugi faktori: hemodilucija, hemokoncentracija, mišićna masa (zavisna od pola, godina, konstitucije, nutritivnog statusa), laboratorijske metode korišćene za njegovo merenje (prisustvo hromogena, interlaboratorijska varijabilnost) i sl. (9). Međutim, dve karakteristike serumskog kreatinina predstavljaju najveća ograničenja u interpretaciji njegovih vrednosti. Prvo, porast serumskog kreatinina može da kasni za oštećenjem bubrežne funkcije od nekoliko sati do nekoliko dana. Drugo, vrlo često je nepoznata njegova bazična vrednost koja je referentna za postavljanje dijagnoze AOB (1, 9). S druge strane, diureza ili, preciznije, satna diureza kao biomarker bubrežne funkcije ima određene prednosti u odnosu na serumski kreatinin. Za razliku od serumskog kreatinina, diureza je gotovo trenutni pokazatelj oštećenja bubrežne funkcije. Najvažnija ograničenja u korišćenju diureze kao biomarkera bubrežne funkcije su primena lekova koja utiču na obilnost diureze (diuretici, ACE inhibitori, terapija tečnostima) kao i interpretacija njenih vrednosti u slučaju dehidracije (1). Na žalost, sva navedena ograničenja su skoro uvek prisutna u populaciji bolesnika koji su u najvećem riziku za nastanak AOB.

Rano dijagnostikovanje AOB je od velikog značaja za ishod lečenja (1). S obzirom da se dijagnoza AOB postavlja na osnovu vrednosti serumskog kreatinina i diureze, ukoliko je biomarker u stanju da pre njih ukaže na AOB, on, praktično, može da predvidi nastanak AOB. Animalni modeli AOB, ali i studije na kardiohirurškim bolesnicima sa kardiopulmonalnim bajpasom u kojima je poznat početak delovanja insulta koje je izazvao

AOB, su pokazali da novi biomarkeri bubrežnog oštećenja i funkcije mogu da budu povišeni znatno pre porasta serumskog kreatinina. Šta više, veliki broj studija je pokazao da novi biomarkeri bubrežnog oštećenja i funkcije mogu da budu prediktori i dijagnoze i ishoda AOB (53).

U narednom tekstu biće predstavljeni novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa koji bi mogli da predvide nastanak S-AOB kod hirurških bolesnika sa sepsom.

#### **1.4.1 Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja**

U poslednjih dvadesetak godina identifikovan je veliki broj različitih molekula koji ukazuju ili na oštećenje bubrežnog tkiva ili predstavljanju odraz smanjenja bubrežne funkcije. Po tome, dele se u dve velike grupe, nove biomarkere bubrežnog oštećenja i nove biomarkere bubrežne funkcije (54). Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja i funkcije su ili konstitutivni proteini koji se oslobađaju iz oštećenog tkiva bubrega ili molekuli čija je sinteza uhodno regulisana kao odgovor na oštećenje bubrega ili molekuli ekstrarenalnog porekla koji se filtriraju, reapsorbuju ili sekretuju u bubrezima. Po hemijskom sastavu su najčešće proteini ali i molekuli inkapsulirani u egzozomima ili mikro RNK. Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja i funkcije mogu, vrlo specifično, da ukažu na uzrok, težinu i mesto oštećenja bubrega (53). Međutim, s obzirom da, pored AOB, postoje i druge determinante njihovih koncentracija u krvi ili urinu, kako što su sepsa ili HBB, preporuka je da se njihove vrednosti tumače u kliničkom kontekstu. Prednost treba dati kombinaciji biomarkera naspram pojedinačnih biomarkera jer omogućava lakšu i precizniju determinaciju mesta i mehanizma nastanka AOB (55).

Među najpoznatije nove biomarkere bubrežnog oštećenja spadaju neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), kidney injury molecule-1 (KIM-1), interleukin 18 (IL-18) i

liver-type fatty acid binding protein (L-FABP) dok se broj novih biomarkera skoro svakodnevno uvećava.

#### **1.4.1.1 Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL)**

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) je najpoznatiji i najviše ispitivani novi biomarker bubrežnog oštećenja. Njegova primarna biološka uloga u sekvestraciji gvožđa unutar ćelija objašnjava njegovo bakteriostatsko, antioksidativno i renoprotektivno svojstvo (56). Postoji u tri različite molekularne forme, kao monomer (25 kDa), homodimer (45 kDa) i kovalentno vezan za gelatinazu tj. matiks metaloproteinazu 9 (MMP-9) (135 kDa). Međutim, komercijalni eseji za merenje koncentracije NGAL nisu u stanju da razlikuju ove tri forme pa će njima merena koncentracija NGAL uvek predstavljati zbir koncentracija sve tri molekularne forme (56). Može se određivati u serumu u urinu. Urinarni NGAL je poreklom prevashodno iz epitela distalnog tubula a samo delimično, zahvaljujući smanjenoj resorpciji od strane oštećenog proksimalnog tubula, iz sistemske cirkulacije i dominantno je u formi monomera. Vrednosti urinarnog NGAL je moguće interpretirati podjednako uspešno i kao nekorigovane i kao korigovane tj. normalizovane na vrednosti urinarnog kreatinina ili osmolarnosti urina (57). S druge strane, serumski NGAL potiče i iz oštećenih bubrega i iz extrarenalnih organa, pre svega iz neutrofila ali i iz traheje, pluća i kolona i dominantno je u formi homodimera (58). Za razliku od serumskog kreatinina i diureze koji su pre svega biomarkeri bubrežne funkcije, NGAL je prevashodno marker bubrežnog oštećenja i to oštećenja distalnog tubula (57). Međutim, s obzirom da sepsa i inflamacija uopšte mogu, nezavisno od AOB, da uzrokuju porast vrednosti NGAL (59, 60), NGAL se može smatrati i biomarkerom zapaljenja (56).

Sposobnost NGAL da dijagnostikuje i predvidi nastanak AOB kod adultnih a naročito pedijatrijskih kardiohirurških bolesnika je više puta nedvosmisleno potvrđena (56-58, 61). Međutim, studije na populaciji kritično obolelih su dale konfliktne rezultate o



dijagnostičkoj i prognostičkoj vrednosti NGAL kao biomarkera AOB (56-58, 61-64). Objašnjenje se može naći u istovremenom postojanju više mogućih uzroka povišenih vrednosti NGAL, pre svega sepse i drugih inflamatornih stanja, kao i u nemogućnosti komercijalnih eseja da razlikuju različite molekularne forme NGAL. U prilog tome govori i studija na populaciji kritično obolelih bez sepse u kojoj se NGAL pokazao kao dobar prediktor AOB (65). U studiji na kritično obolelim pacijentima sa sepsom NGAL je bio dobar i dijagnostički i prognostički biomarker S-AOB (66). Suprotno, u elektivnoj abdominalnoj hirurgiji i velikim nekardiohirurškim interevencijama, NGAL nije mogao da dijagnostikuje ili predvidi nastanak AOB ali su njegove vrednosti bile povišene kod bolesnika koji su u postoperativnom toku dobili infekciju i umrlih (67, 68).

#### **1.4.1.2 Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1)**

Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1), poznat i kao T cell immunoglobulin and mucin domain containing protein-1 (TIM-1) je jedan od najpoznatijih novih biomarkera bubrežnog oštećenja. Njegova ekspresija u zdravim bubrezima je zanemarljiva. Međutim, u slučaju ishemijskog ili nefrotoksičnog oštećenja bubrega dolazi do njegove ushodne regulacije i ekspresije na apikalnoj membrani proksimalnih tubulocita (69). Metaloproteinaza cepa deo ekstracelularnog domena KIM-1 koji se zatim izlučuje urinom (70) iz kog se i određuje. KIM-1 je, u stvari, receptor koji omogućava fagocitozu apoptotičnih ćelija i ima značajno mesto u regeneraciji oštećenog tubulskog epitela (71). KIM-1 je eksprimiran i u imunim ćelijama gde učestvuje u diferencijaciji Th ćelija kao i u aktiviranju B limfocita i dendritičnih ćelija (71). Postoji u dve molekularne forme sa identičnim ekstracelularnim a različitim intracelularnim domenima: KIM-1a koji se sintetiše u jetri i KIM-1b koji se sintetiše u bubrezima (70). Urinarni KIM-1 predstavlja biomarker bubrežnog oštećenja i to prevashodno oštećenja proksimalnog tubula.

Urinarni KIM-1 je prvi biomarker nefrotoksičnog AOB odobren od strane američke Agencije za hranu i lekove (FDA). Studija na životinjskim modelima AOB koja je koristila patohistološki nalaz kao “zlatni standard” pokazala je da je KIM-1 senzitivniji biomarker AOB od serumskog kreatinina (72). Za sada jedina meta analiza je pokazala da je KIM-1 dobar dijagnostički biomarker AOB sa boljim performansama u populaciji kardiohirurških bolesnika u odnosu na populaciju kritično obolelih (73). Međutim, u nekoliko studija na kritično obolelim, urinarni KIM-1 se pokazao kao loš dijagnostički biomarker AOB (63, 65, 74) da bi, suprotno tome, u kohorti septičnih bolesnika imao dobre performanse (75). KIM-1 je i dobar prognostički biomarker AOB kod kardiohirurških bolesnika (76). Koliko je nama poznato, studije o KIM-1 kao biomarkeru AOB u drugim populacijama hirurških bolesnika za sada nisu objavljene.

#### **1.4.2 Biomarkeri inflamacije**

C-reaktivni protein (CRP) je reaktant akutne faze koji se sintetiše prevashodno u hepatocitima. CRP je nespecifični biomarker inflamacije te na osnovu njegovih vrednosti nije moguće odrediti uzrok i mesto inflamacije koja može biti i neinfektivnog porekla (77). Prokalcitonin (PCT) je prohormon kalcitonina. Međutim, regulacija njegove sinteze i izlučivanja u infekciji je različita od regulacije sinteze i izlučivanja zrele forme ovog hormona. Za razliku od CRP, PCT je biomarker infekcije a ne samo inflamacije te neće biti povišen ukoliko je inflamacija neinfektivnog porekla (78). Sa izuzetkom leukocita, CRP i PCT su najviše ispitivani biomarkeri inflamacije i jedini su, za sada, ušli u međunarodni vodič za lečenje sepsa. Po ovom vodiču, vrednosti i CRP i PCT povišene za više od dve standardne devijacije iznad normalnih vrednosti su dijagnostički kriterijumi za sepsu (11). CRP i PCT se sve više koriste i u svrhu praćenja efekata antibiotske terapije u sepsi (79). Retke animalne i kliničke studije su pokazale asocijaciju između CRP i AOB (80, 81) ali ne S-AOB *per se*. S druge strane, PCT se pokazao kao dobar prediktor S-AOB (82) i AOB u akutnom pankreatitisu (83).

#### **1.4.2.1 Matriks metaloproteinaza-9 (MMP-9) i tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1 (TIMP-1)**

Matriks metaloproteinaza-9 (MMP-9) je cink zavisna metaloproteinaza koju oslobađaju aktivirane inflamatorne ćelije. Pored remodelovanja ekstracelularnog matriksa, MMP-9 reguliše i aktivnost brojnih citokina, hemokina, receptora, faktora rasta i molekula ćelijske adhezije koji su esencijalni za proces inflamacije (84, 85). Aktivnost MMP-9 je strogo regulisana na više nivoa uključujući i inhibiciju regulatornim proteinima kao što je tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1 (TIMP-1), sa kojim formira kompleks (84). Hirurškom traumom izazvana inflamacija (86, 87) i sepsa (88-93) uzrokuju promenu koncentracije MMP-9 i TIMP-1 u krvi bolesnika. S druge strane, studije na životinjskim modelima AOB su demonstrirale povećanu ekspresiju MMP-9 i TIMP-1 u tkivu bubrega (94, 95). Međutim, samo jedna klinička studija je evaluirala MMP-9 kao dijagnostički biomarker AOB ali ne S-AOB *per se* (96). Do sada nije objavljena ni jedna klinička studija o vrednostima MMP-9 i TIMP-1 u S-AOB.

#### **1.4.3 Biomarkeri oksidativnog stresa**

U zdravom organizmu postoji ravnoteža između produkcije kiseoničnih i azotnih slobodnih radikala tzv. prooksidanata i antioksidativne zaštite. Ukoliko se ova ravnoteža naruši, kao što je slučaj u brojnim hroničnim i akutnim bolestima, dolazi do stanja oksidativnog stresa koji se ogleda u povećanoj produkciji prooksidanata i smanjenoj antioksidativnoj zaštiti. Oksidativni stres se smatra značajnim promoterom i medijatorom sistemskog inflamatornog odgovora u sepsi (97-99). U AOB, sistemska i intrarenalna produkcija slobodnih radikala dovodi do oštećenja bubrežnog parenhima, povećane inflamacije, mikrovaskularne disfunkcije sa posledičnom hipoksijom i dodatnom produkcijom slobodnih radikala (42, 43, 100).

Trenutno dostupni biomarkeri oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite se ne mogu smatrati adekvatnim za *in vivo* upotrebu zbog svoje nestabilnosti i male specifičnosti (101, 102). U ovoj studiji koristili smo relativno nove biomarkere oksidativnog stresa: totalni oksidativni status (TOS), totalni antioksidativni status (TAS), indeks oksidativnog stresa (OSI) koji detektuje simultane promene TAS i TOS usled promena u ravnoteži između prooksidanasa i antioksidativne zaštite kao i prooksidativni-antioksidativni balans (PAB). Naša ranija studija na adultnoj populaciji (103) kao i studija o neonatalnoj sepsi (104) su pokazale promenjene vrednosti TAS, TOS i OSI u sepsi. Koliko je nama poznato, ovi parametri za sada nisu ispitivani u AOB bilo koje etiologije.

Paraoksonaza-1 (PON-1) je kalcijum zavisna esteraza i peroksidaza sintetisana u jetri (105). Njena osnovna biološka uloga je uklanjanje medijatora oksidativnog stresa u toku čega se inaktivira a poseduje i značajno antiinflamatorno dejstvo (106). Smanjena aktivnost PON-1 je demonstrirana u velikom broju akutnih i hroničnih bolesti (107). Više studija (99, 104, 108, 109), uključujući i raniju našu (103), je pokazalo da je aktivnost PON-1 u sepsi smanjena te da je ta snižena aktivnost PON-1 udružena sa povećanim mortalitetom. S druge strane, manje hirurške intervencije nisu značajno promenile vrednosti PON-1 ali i TOS, TAS u prvih 12 h posle operacije (110, 111). Da sada nisu objavljene studije koje se bave serijskim merenjem PON-1 kod septičnih bolesnika podvrgnutih velikoj abdominalnoj hirurškoj intervenciji sa S-AOB.

## 2 CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi istraživanja su:

1. određivanje vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kod obolelih od sepse i kontrolnih grupa;
2. ispitivanje razlike u vrednostima novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa između obolelih od sepse i kontrolnih grupa kao i između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB;
3. ispitivanje povezanosti između vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa i standardnih biomarkera bubrežne funkcije;
4. ispitivanje novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kao dijagnostičkih, prediktivnih i prognostičkih biomarkera sepse i S-AOB.

### 3 MATERIJALI I METODE

Ovo istraživanje je prospektivna, opservaciona kohortna studija. Njegovo izvođenje je odobreno od strane Etičkog komiteta Kliničko bolničkog centra Bežanijska kosa i Kliničkog centra Srbije. Svi bolesnici ili njihovi zakonski zastupnici su detaljno informisani o prirodi i zahtevima ovog istraživanja i potpisali su obrazac informisanog pristanka za učešće u njemu.

#### 3.1 Bolesnici

U ovoj studiji je učestvovalo 153 uzastopnih odraslih bolesnika primljenih u hiruršku JIL i Kliniku za hirurgiju Kliničko bolničkog centra Bežanijska kosa tokom 2012. i 2013. god.

Bolesnici su podeljeni u tri grupe:

1. Grupa obolelih od sepse koju su činila 53 operisana bolesnika sa sepsom. Kriterijumi za uključivanje u ovu grupu su bili: starost bolesnika veća od 18 godina, prijem u hiruršku JIL zbog lečenja sepse abdominalnog porekla i bar jedna velika abdominalna hirurška intevencija u toku aktuelne hospitalizacije.

Septični bolesnici su, dalje, podeljeni u dve podgrupe:

- *Septični bolesnici sa S-AOB*, ukoliko je u toku boravka u JIL postavljena dijagnoza S-AOB;
- *Septični bolesnici bez S-AOB*, ukoliko u toku boravka u JIL dijagnoza S-AOB nije postavljena.

2. Kontrolna grupa operisanih koju je činilo 50 operisanih bolesnika bez sepse. Kriterijumi za uključivanje u ovu grupu su bili: starost bolesnika veća od 18 godina, ASA 2, prijem u hiruršku JIL rutinski nakon velike abdominalne hirurške intervencije i uredan postoperativni oporavak.
3. Kontrolna grupa neoperisanih koju je činilo 50 neoperisanih bolesnika bez sepse. Kriterijumi za uključivanje u ovu grupu su bili: starost bolesnika veća od 18 godina, ASA 2, prijem na Kliniku za hirurgiju zbog izvođenja velike abdominalne hirurške intervencije i da u vreme uzorkovanja nisu bili operisani niti su imali znake inflamacije ili infekcije.

Velika abdominalna hirurška intervencija je definisana kao hirurška procedura u kojoj je otvoren peritoneum ili su odstranjeni abdominalni organi ili je promenjena normalna anatomija abdomena.

Kriterijumi za isključivanje iz studije su bili: starost bolesnika ispod 18 godina, sepsa ekstraabdominalnog porekla, sepsa gljivičnog, virusnog ili parazitnog porekla, hemoterapija ili radioterapija u poslednjih 30 dana, imunosupresivna terapija, trauma, opekotine, hronična insuficijencija bilo kog organa ili organskog sistema, kardiogeni ili hemoragijski šok pre ili u toku lečenja sepse i učestvovanje u drugom kliničkom istraživanju tokom aktuelne hospitalizacije. Svi bolesnici su dobili rutinski tretman i negu.

## **3.2 Metode**

### **3.2.1 Klinička procena bolesnika**

Demografski i klinički podaci o bolesnicima, kao i podaci o ishodima sepsa (preživljavanje, primena TZBF, mehaničke ventilacije ili vazopresora/inotropa), prikupljeni su uvidom u medicinsku dokumentaciju. Sepsa je dijagnostikovana na osnovu ACCP/SCCM kriterijuma (31). AOB je dijagnostikovano po KDIGO kriterijumima (1). Procena komorbiditeta je vršena pomoću ASA fizičkog statusa (112). Kod obolelih od sepsa, u obzir su uzeti samo komorbiditeti prisutni pre sepsa a sve promene u fizičkom statusu bolesnika koje su uzrokovane sepsom su zanemarene. U obe kontrolne grupe, ASA fizički status je rutinski određen pre hirurške intervencije. Skorovi težine bolesti, APACHE II (113) i Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) (114) su računati svakog dana u vreme uzimanja uzoraka.

### **3.2.2 Uzorci krvi i urina**

Uzorci krvi i urina septičnih bolesnika su prikupljeni tokom prvog sata od prijema u JIL (0 h) i 24, 48, 72 i 96 sati kasnije. Uzorci bolesnika kontrolne grupe operisanih su uzimani jednom tokom rutinskog boravka u JIL nakon hirurške intervencije a od bolesnika kontrolne grupe neoperisanih jednom, ujutru, nakon noćnog gladovanja a pre uzimanja hrane i pića. Uzorci od 10 ml krvi su prikupljeni u standardnim epruvetama sa aktivatorom koagulacije. Uzorci od 5 ml urina su prikupljeni standardnom tehnikom iz urinarnog katetera. Alikvoti centrifugiranog seruma i urina iz kojih će se naknadno određivati novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa su zamrznuti u roku od



20 minuta i čuvani na - 80°C do dalje analize. Ostali laboratorijski parametri su određivani na dan prikupljanja uzorka.

### **3.2.3 Biomarkeri bubrežne funkcije i oštećenja**

Standardni biomarkeri bubrežne funkcije, serumski urea i kreatinin su mereni rutinskim laboratorijskim metodama (IL 650, Instrumentation Laboratory, Milan, Italy). Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) formula je korišćena za računanje JGF (115).

Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, serumski i urinarni NGAL i urinarni KIM-1 su određivani Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) tehnikom (ABBOTT Diagnostics, IL, USA i R&D Systems Inc, MN, USA, respektivno).

### **3.2.4 Biomarkeri inflamacije**

Broj leukocita u krvi je određivan na hematološkim analizatorima (ABX Horiba, Pentra DX 120, Montpellier, France i Beckman Coulter, AcT diff, Germany). Imunoturbidimetrijski esej (BioMerieux, Lion, France, IL 650, Milan, Italy) je upotrebljen za merenje koncentracija CRP. Serumski PCT je određivan Enzyme-linked Fluorescent Assay (ELFA) metodom (bioMerieux, Lion, France) po kojoj koncentracija PCT veća od 2 µg/l predstavlja visok rizika od teške sepse ili septičnog šoka.

Koncentracije MMP-9, TIMP-1 i MMP-9:TIMP-1 kompleksa su merene ELISA tehnikom (R&D Systems Inc, MN, USA). Formula  $MMP-9/TIMP-1 \text{ odnos} = \frac{MMP-9 \text{ (ng/ml)}}{TIMP-1 \text{ (ng/ml)}}$  je korišćena za računanje MMP-9/TIMP-1 odnosa.

### **3.2.5 Biomarkeri oksidativnog stresa**

Aktivnost PON-1 u serumu je merena kao brzina hidrolize paraoksona (116). TAS i TOS su određivani novim kolorimetrijskom metodom po Erelu (117, 118). Formula TOS  $[\mu\text{mol/l}] / \text{TAS} [\mu\text{mol/l}] * 100$  je korišćena za računanje OSI (119). Metod za merenje PAB je baziran na upotrebi 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina i njegovog katjona kao redoks indikatora u dve simultane reakcije (120). Koncentracija MDA je merena metodom zasnovanom na reakciji tiobarbiturne kiseline (121).

### **3.2.6 Ostali laboratorijski parametri**

Biomarkeri oštećenja jetre (ukupni i direktni bilirubin, aktivnost aspartat-aminotranferaze (AST) i alanin-aminotranferaze (ALT), elektroliti, glikemija, ukupni proteini i high density lipoprotein (HDL) su određivani rutinskim laboratorijskim metodama (IL 650, Instrumentation Laboratory, Milan, Italy). Koncentracija hemoglobina i broj trombocita su mereni na hematološkim analizatorima (ABX Horiba, Pentra DX 120, Montpellier, France i Beckman Coulter, AcT diff, Germany). Koncentracija laktata i pH u arterijskoj krvi su određivani na analizatoru gasova u krvi (GEM Premier 3000, Instrumentation Laboratory, Milan, Italy).

### 3.3 Statistička analiza

Statistička analiza je izvedena u programu SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Normalnost raspodele podataka je procenjena Kolmogorov-Smirnov testom. Kategoričke variable su prikazane kao frekvencije a kontinuirane kao medijana i interval vrednosti između 25. i 75. percentila. Procena značajnosti razlike između dve grupe bolesnika vršena je Man-Vitni U ili Hi-kvadrat testom. Unutargrupna varijacija podataka procenjena je Fridmanovim i Vilkoksonovim testom. Kendal tau-b test je korišćen za procenu značajnosti korelacija između ispitivanih varijabli. Dijagnostička, prediktivna i prognostička vrednost ispitivanih parametara evaluirana je računanjem Area Under Receiver Operating Characteristic Curves (AUC-ROC) korišćenjem bazičnih ili srednjih vrednosti ispitivanih biomarkera kao nezavisne varijable. U svrhu evaluacije ispitivanih biomarkera kao prognostičkih biomarkera preživljavanja sepse, urađena je Kaplan-Majerova analiza dvadesetosmodnevnog preživljavanja bolesnika stratifikovanih po kvartilima vrednosti ispitivanih biomarkera sa Log rank testom za procenu značajnosti razlike u preživljavanju tako dobijenih stratuma bolesnika.  $P < 0,05$  se smatra statistički značajnim.

## **4 REZULTATI**

### **4.1 Razlike u vrednostima novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa između obolelih od sepse i kontrolnih grupa**

#### **4.1.1 Demografske i kliničke karakteristike obolelih od sepse i kontrolnih grupa**

Tabela 3 prikazuje demografske i kliničke karakteristike obolelih od sepse i bolesnika kontrolnih grupa. Posmatrane grupe bolesnika se nisu razlikovale po godinama, polu i komorbiditetima prikazanim kao ASA skor. Oboleli od sepse i bolesnici kontrolne grupe operisanih se nisu razlikovali po tipu hiruške intervencije. Očekivano, oboleli od sepse su imali više vrednosti skorova težine bolesti u poređenju sa bolesnicima obe kontrolne grupe, kao i bolesnici kontrolne grupe operisanih u poređenju sa kontrolnom grupom neoperisanih.

**Tabela 3. Demografske i kliničke karakteristike obolelih od sepse i bolesnika kontrolnih grupa.**

	Kontrolna grupa neoperisanih (N = 50)	Kontrolna grupa operisanih (N = 50)	Sepsa (N = 53)
Starost (godine)	60,00 [54,75 - 72,00]	65,00 [57,75 - 74,00]	70,00 [60,00 - 75,50]
Pol (muški / ženski)	23 / 27	22 / 28	28 / 25
Hirurgija gornjeg GIT /kolorektalna hirurgija	-	9 / 41	18 / 35
ASA (1 / 2 / 3 / 4 / 5)	0 / 50 / 0 / 0 / 0	0 / 50 / 0 / 0 / 0	2 / 47 / 4 / 0 / 0
SIRS / Teška sepsa / Septični šok	-	-	13 / 22 / 18
APACHE II	4,00 [2,00 - 5,25]	7,00 [5,00 - 7,50] <sup>a</sup>	21,50 [16,00 - 28,00] <sup>b,c</sup>
SOFA	0 [0 - 0]	0 [0 - 0]	7 [4 - 10] <sup>b,c</sup>
AOB u toku celog lečenja (da / ne)	0 / 50	0 / 50	33 / 20
Preživeli / umrli	50 / 0	50 / 0	25 / 28

Podaci su prikazani kao frekvencije ili medijana i interval vrednosti između 25. i 75. percentila.

<sup>a</sup> statistički značajna razlika između kontrolne grupe operisanih i kontrolne grupe neoperisanih,

<sup>b</sup> statistički značajna razlika između obolelih od sepse i kontrolne grupe neoperisanih,

<sup>c</sup> statistički značajna razlika između obolelih od sepse i kontrolne grupe operisanih;

Man-Vitni U test;  $p < 0,05$  se smatra statistički značajnim.

GIT - Gastrointestinalni trakt; ASA - American Society of Anesthesiologists fizički status; SIRS - Sindrom sistemskog inflamatornog odgovora; APACHE II - Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II skor; SOFA - Sequential Organ Failure Assessment skor, AOB - Akutno oštećenje bubrega.

#### **4.1.2 Vrednosti osnovnih laboratorijskih parametara kod obolelih od sepse pri prijemu u JIL i obe kontrolne grupe**

Septični bolesnici su pri prijemu u JIL imali niže vrednosti hemoglobina, proteina i HDL a više vrednosti glikemije od bolesnika obe kontrolne grupe. Oboleli od sepse i bolesnici kontrolne grupe operisanih su imali više vrednosti biomarkera oštećenja jetre u odnosu na bolesnike kontrolne grupe neoperisanih. Vrednosti elektrolita, pH i laktata su bile slične kod sve tri grupe bolesnika (Tabela 4).

**Tabela 4. Osnovni laboratorijski parametri kod obolelih od sepse pri prijemu u JIL i obe kontrolne grupe.**

	Kontrolna grupa neoperisanih (N = 50)	Kontrolna grupa operisanih (N = 50)	Sepsa (N = 53)
Hemoglobin (g/l)	135,5 [130,7 - 147,5]	117,0 [99,5 - 131,0] <sup>a</sup>	105,0 [89,0 - 125,5] <sup>b</sup>
Trombociti (x 10 <sup>9</sup> /l)	254 [199 - 291]	198 [177 - 265] <sup>a</sup>	223 [142 - 316]
S-Glukoza (mmol/l)	5,6 [5,0 - 6,1]	6,4 [5,9 - 8,3] <sup>a</sup>	8,2 [5,8 - 11,1] <sup>b,c</sup>
S-Proteini (g/l)	66,93 [61,79 - 73,04]	56,54 [45,79 - 62,15] <sup>a</sup>	35,09 [28,49 - 45,98] <sup>b,c</sup>
HDL (mmol/l)	1,43 [1,06 - 1,65]	0,82 [0,56 - 1,11] <sup>a</sup>	0,58 [0,39 - 0,89] <sup>b,c</sup>
S - K <sup>+</sup> (mmol/l)	4,3 [4,0 - 4,6]	4,4 [4,1 - 4,7]	4,5 [4,1 - 4,7]
S - Na <sup>+</sup> (mmol/l)	141 [140 - 142]	140 [138 - 142]	140 [137 - 145]
S - Ca <sup>++</sup> (mmol/l)	2,10 [2,00 - 2,15]	2,06 [1,28 - 2,80]	2,04 [1,89 - 2,18]
S - Cl <sup>-</sup> (mmol/l)	101 [99 - 103]	104 [101 - 106]	106 [101 - 110]
AST (IU/l)	19 [16 - 25]	29 [19 - 111] <sup>a</sup>	47 [28 - 118] <sup>b</sup>
ALT (IU/l)	21 [14 - 34]	31 [19 - 99]	35 [18 - 78] <sup>b</sup>
Ukupni bilirubin (µmol/l)	9,10 [5,90 - 18,85]	17,30 [10,10 - 36,20] <sup>a</sup>	16,75 [11,82 - 46,15] <sup>b</sup>
Direktni bilirubin (µmol/l)	3,30 [2,05 - 8,55]	8,85 [5,97 - 20,05] <sup>a</sup>	6,75 [5,40 - 26,42] <sup>b</sup>
pH	-	7,34 [7,28 - 7,41]	7,35 [7,28 - 7,41]
Laktat (mmol/l)	-	-	1,30 [1,00 - 3,90]

Podaci su prikazani kao medijana i interval vrednosti između 25. i 75. percentila.

<sup>a</sup> statistički značajna razlika između kontrolne grupe operisanih i kontrolne grupe neoperisanih,

<sup>b</sup> statistički značajna razlika između obolelih od sepse i kontrolne grupe neoperisanih,

<sup>c</sup> statistički značajna razlika između obolelih od sepse i kontrolne grupe operisanih;

Man-Vitni U test; p < 0,05 se smatra statistički značajnim.

S - Serumski; HDL - High Density Lipoprotein; AST - Aspartat-aminotranferaza; ALT - Alanin-aminotranferaza.

#### **4.1.3 Vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kod obolelih od sepse pri prijemu u JIL i obe kontrolne grupe**

U tabeli 5 je prikazano poređenje vrednosti standardnih biomarkera bubrežne funkcije i novih biomarkera bubrežnog oštećenja kod obolelih od sepse na prijemu u JIL i kontrolnih grupa. Vrednosti serumskog kreatinina i uree su bile povišene a JGF snižene kod obolelih od sepse u poređenju sa obe kontrolne grupe. Nije bilo razlike u vrednostima ovih standardnih biomarkera bubrežne funkcije između kontrolnih grupa operisanih i neoperisanih. Oboleli od sepse su imali više vrednosti i serumskog i urinarnog NGAL u odnosu na bolesnike obe kontrolne grupe. Interesantno je da su vrednosti NGAL bile više kod operisanih kontrola u poređenju sa neoperisanim kontrolama. Vrednosti KIM-1 su bile više kod obolelih od sepse i operisanih kontrola u odnosu na neoperisane kontrole. Međutim, nije uočena statistički značajna razlika u vrednostima KIM-1 između obolelih od sepse i operisanih kontrola.



**Tabela 5. Biomarkeri bubrežne funkcije i oštećenja kod obolelih od sepse pri prijemu u JIL i obe kontrolne grupe.**

	Kontrolna grupa neoperisanih (N = 50)	Kontrolna grupa operisanih (N = 50)	Sepsa (N = 53)
S-Urea (mmol/l)	4,8 [3,7 - 5,7]	4,9 [3,6 - 6,7]	12,9 [8,2 - 19,7] <sup>b, c</sup>
S-Kreatinin ( $\mu$ mol/l)	79,0 [65,0 - 85,0]	74,0 [56,7 - 92,0]	133,3 [93,4 - 203,1] <sup>b, c</sup>
JGF (ml/ min/1.73m <sup>2</sup> )	86,2 [77,1 - 100,8]	90,5 [67,5 - 115,7]	41,2 [28,8 - 67,1] <sup>b, c</sup>
S-NGAL (ng/ml)	87,3 [82,2 - 95,3]	100,3 [91,2 - 111,9] <sup>a</sup>	169,0 [105,5 - 200,9] <sup>b, c</sup>
U-NGAL (ng/ml)	14,6 [7,8 - 68,9]	42,9 [27,2 - 57,6] <sup>a</sup>	107,1 [46,7 - 204,5] <sup>b, c</sup>
U-KIM-1 (pg/ml)	740,5 [233,5 - 919,25]	800,0 [730,0 - 1977,0] <sup>a</sup>	790,00 [712,00 - 1309,70] <sup>b</sup>

Podaci su prikazani kao medijana i interval vrednosti između 25. i 75. percentila.

<sup>a</sup> statistički značajna razlika između kontrolne grupe operisanih i kontrolne grupe neoperisanih,

<sup>b</sup> statistički značajna razlika između obolelih od sepse i kontrolne grupe neoperisanih,

<sup>c</sup> statistički značajna razlika između obolelih od sepse i kontrolne grupe operisanih;

Man-Vitni U test;  $p < 0,05$  se smatra statistički značajnim.

S - serumski; U - urinarni; JGF - Jačina glomerulske filtracije; NGAL - Neutrophile Gelatinase-Associated Lipocalin; KIM-1 - Kidney Injury Molecule-1.

Očekivano, oboleli od sepse su imali više vrednosti leukocita i CRP u poređenju sa bolesnicima obe kontrolne grupe kao i više vrednosti PCT od vrednosti sugestivnih za sepsu. Vrednosti MMP-9 su bile značajno niže kod obolelih od sepse i operisanih kontrola u poređenju sa neoperisanim kontrolama. Septični bolesnici su imali i više vrednosti TIMP-1 a niže MMP-9/TIMP-1 odnosa u poređenju sa obe kontrolne grupe. Vrednosti MMP-9:TIMP-1 kompleksa se nisu razlikovale između ove tri grupe bolesnika (Tabela 6).

**Tabela 6. Biomarkeri inflamacije kod obolelih od sepse pri prijemu u JIL i obe kontrolne grupe.**

	Kontrolna grupa neoperisanih (N = 50)	Kontrolna grupa operisanih (N = 50)	Sepsa (N = 53)
Leukociti (x10 <sup>9</sup> /l)	7,00 [5,50 - 8,20]	9,10 [6,45 - 12,12] <sup>a</sup>	13,80 [9,00 - 18,55] <sup>b, c</sup>
CRP (mg/l)	-	97,5 [14,8 - 157,2]	197,7 [148,2 - 256,0] <sup>c</sup>
PCT (µg/l)	-	-	12,96 [3,17 - 30,47]
MMP-9 (ng/ml)	895,6 [665,5 - 1158,0]	663,3 [537,2 - 726,1] <sup>a</sup>	572,9 [391,5 - 997,9] <sup>b</sup>
TIMP-1 (ng/ml)	219,9 [170,5 - 292,3]	263,0 [153,2 - 428,0]	558,7 [469,9 - 875,8] <sup>b, c</sup>
MMP-9:TIMP-1 kompeks (pg/ml)	28,26 [26,23 - 30,2]	29,33 [26,51 - 31,83]	31,78 [20,52-37,16]
MMP-9/TIMP-1 odnos	3,88 [3,26 - 5,93]	2,47 [1,59 - 3,61] <sup>a</sup>	0,94 [0,50 - 2,27] <sup>b, c</sup>

Podaci su prikazani kao medijana i interval vrednosti između 25. i 75. percentila.

<sup>a</sup> statistički značajna razlika između kontrolne grupe operisanih i kontrolne grupe neoperisanih,

<sup>b</sup> statistički značajna razlika između obolelih od sepse i kontrolne grupe neoperisanih,

<sup>c</sup> statistički značajna razlika između obolelih od sepse i kontrolne grupe operisanih;

Man-Vitni U test; p < 0,05 se smatra statistički značajnim.

CRP - C-reaktivni protein; PCT - Prokalcitonin; MMP-9 - Matriks Metaloproteinaza-9; TIMP-1 - Tktivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1.

Snižene vrednosti PON-1 i TAS, biomarkera antioksidativne zaštite, kao i povišene vrednosti PAB ukazuju na stanje povišenog oksidativnog stresa kod obolelih od sepse u odnosu na kontrolne grupe. Neočekivano, vrednosti TOS i OSI su bile niže kod obolelih od sepse u odnosu na obe kontrolne grupe, kao i kod operisanih kontrola u poređenju sa neoperisanim kontrolama (Tabela 7).

**Tabela 7. Biomarkeri oksidativnog stresa kod obolelih od sepse pri prijemu u JIL i obe kontrolne grupe.**

	Kontrolna grupa neoperisanih (N = 50)	Kontrolna grupa operisanih (N = 50)	Sepsa (N = 53)
PON-1 (U/l)	363,0 [244,0 - 920,2]	277,0 [188,0 - 491,0] <sup>a</sup>	97,5 [56,5 - 164,2] <sup>b,c</sup>
TAS (μmol/l)	1100,9 [992,0 - 1190,7]	1013,2 [864,5 - 1191,8]	834,3 [641,7 - 1056,7] <sup>b,c</sup>
TOS (μmol/l)	21,63 [14,20 - 28,72]	12,60 [7,80 - 31,26] <sup>a</sup>	6,35 [4,40 - 13,00] <sup>b,c</sup>
OSI	1,95 [1,18 - 2,48]	1,20 [0,71 - 2,62] <sup>a</sup>	0,89 [0,42 - 1,59] <sup>b,c</sup>
PAB (HKU)	12,89 [6,84 - 26,62]	4,92 [3,23 - 13,64] <sup>a</sup>	12,60 [5,67 - 23,16] <sup>c</sup>
MDA (μmol/l)	-	-	1,33 [0,80 - 1,64]

Podaci su prikazani kao medijana i interval vrednosti između 25. i 75. percentila.

<sup>a</sup> statistički značajna razlika između kontrolne grupe operisanih i kontrolne grupe neoperisanih,

<sup>b</sup> statistički značajna razlika između obolelih od sepse i kontrolne grupe neoperisanih,

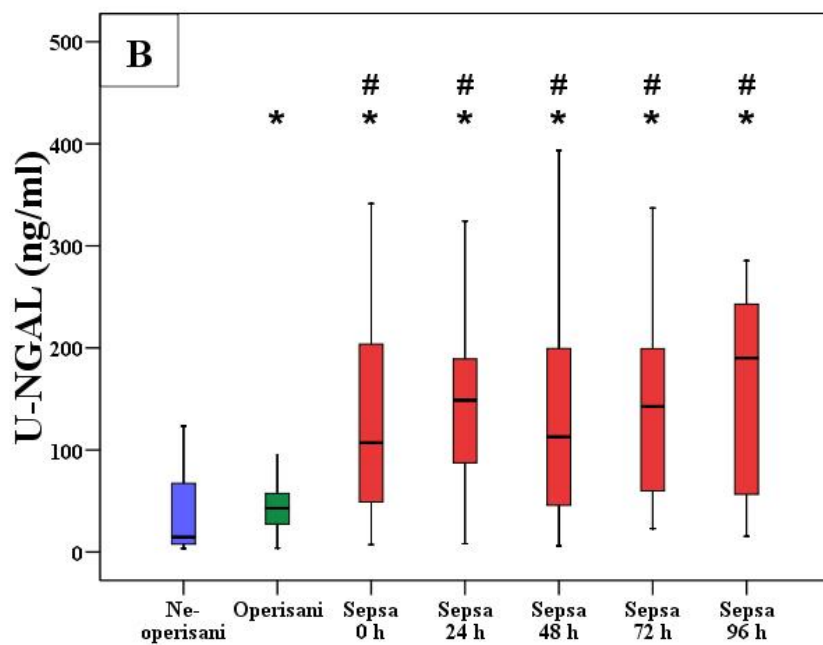
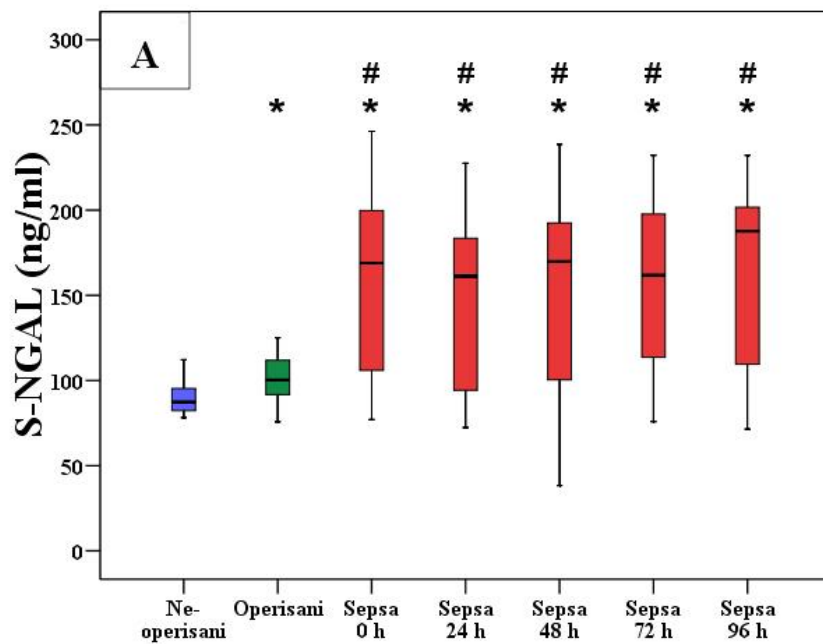
<sup>c</sup> statistički značajna razlika između obolelih od sepse i kontrolne grupe operisanih;

Man-Vitni U test; p < 0,05 se smatra statistički značajnim.

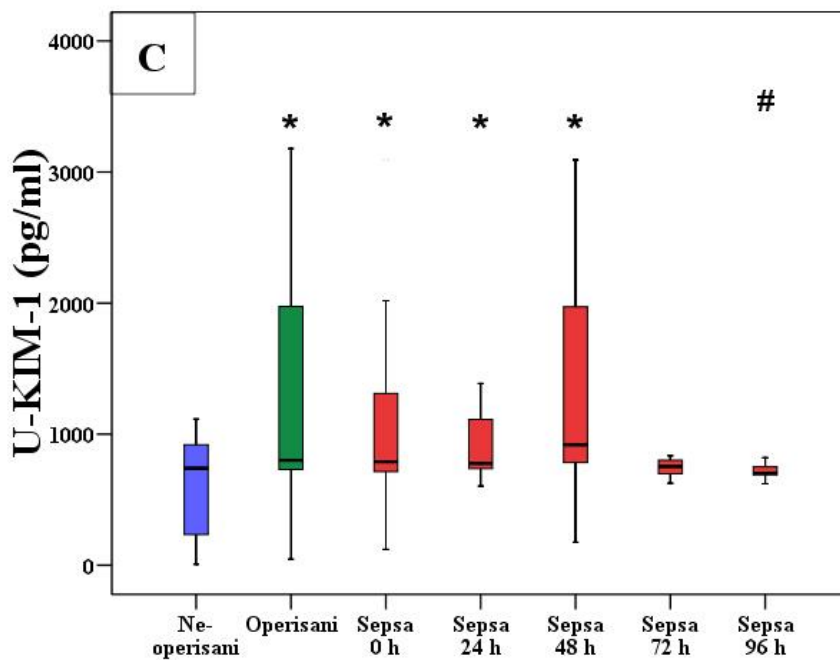
PON-1 - Paraoksonaza-1; TAS - Totalni antioksidativni status; TOS - Totalni antioksidativni status; OSI - Indeks oksidativnog stresa; PAB - Prooksidativni-antioksidativni balans; MDA - Malondialdehid.

#### **4.1.4 Dinamika vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kod obolelih od sepe**

Oboleli od sepesu imali više vrednosti i serumskog (Grafikon 7A) i urinarnog (Grafikon 7B) NGAL u odnosu na obe kontrolne grupe tokom celog opservacionog perioda. Vrednosti serumskog i urinarnog NGAL kod obolelih od sepe se nisu statistički značajno menjale tokom prvih 96 sati od prijema u JIL ( $p > 0,05$  za oba biomarkera). Vrednosti KIM-1 su bile značajno više kod obolelih od sepe u odnosu na kontrolnu grupu neoperisanih ali se nisu značajno razlikovale od vrednosti u kontrolnoj grupi operisanih, osim 96 sati nakon prijema u JIL (Grafikon 7C). Vrednosti KIM-1 se nisu značajno menjale tokom prvih 48 sati nakon prijema u JIL da bi počele da opadaju 72 ( $p = 0,028$  u poređenju sa 48 h) i 96 sati ( $p = 0,041$ , u poređenju sa 48 h) nakon prijema u JIL.



(Nastavak grafikona 7 je na sledećoj strani)



**Grafikon 7. Dinamika vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja kod obolelih od sepsu u poređenju sa kontrolnim grupama.**

Grafikon prikazuje vrednosti (A) S-NGAL, (B) U-NGAL i (C) U-KIM-1. Podaci su prikazani kao minimum, maksimum, mediana i opseg između 25. i 75. kvartila. Crveno - oboleli od sepsu; zeleno - kontrolna grupa operisanih; plavo - kontrolna grupa neoperisanih.

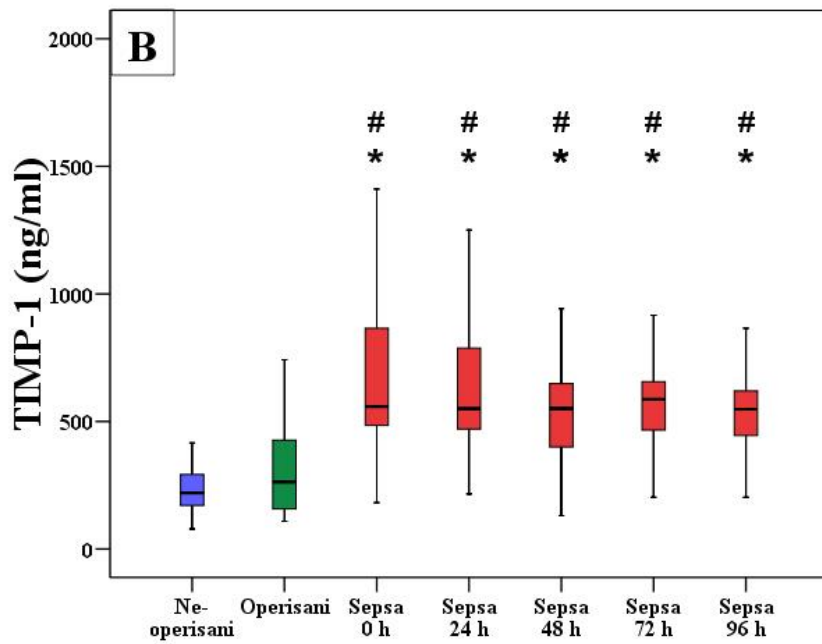
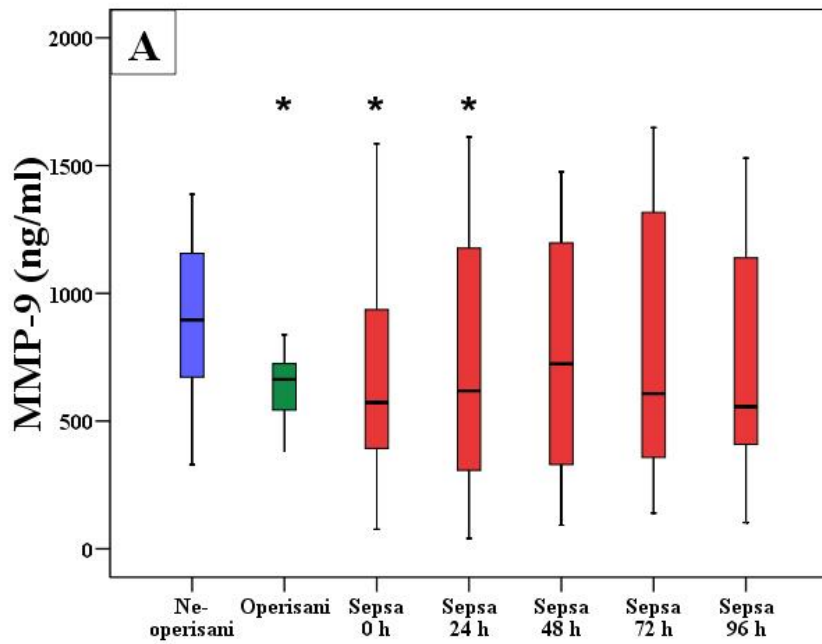
“\*” statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom neoperisanih;

“#” statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom operisanih;

Man-Vitni U test;  $p < 0.05$  se smatra statistički značajnim.

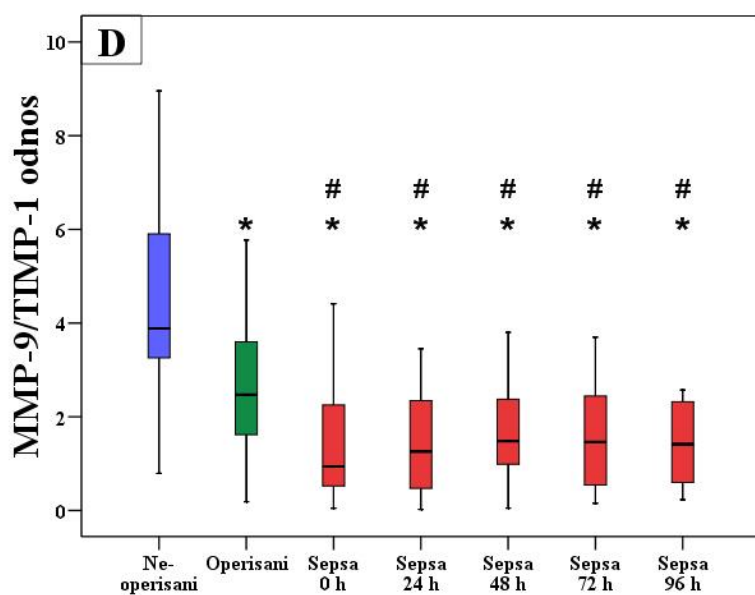
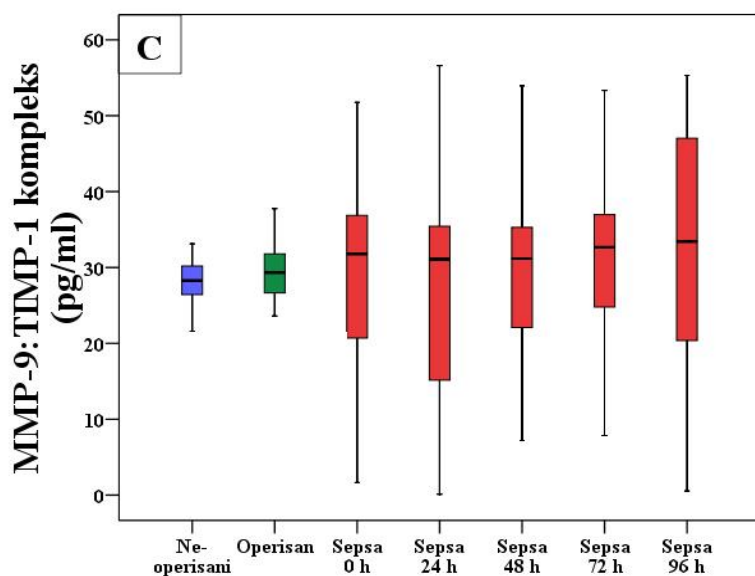
S - serumski; U - urinarni; NGAL - Neutrophile Gelatinase-Associated Lipocalin; KIM-1 - Kidney Injury Molecule-1.

Grafikon 8 prikazuje dinamiku MMP-9, TIMP-1, MMP-9:TIMP-1 kompleksa i MMP-9/TIMP-1 odnosa kod obolelih od sepse u poređenju sa kontrolnim grupama. Vrednosti svih prikazanih biomarkera se nisu statistički značajno menjale tokom opservacionog perioda ( $p > 0,05$  za sve prikazane biomarkere). Oboleli od sepse su imali niže vrednosti MMP-9 pri prijemu u JIL i 24 h kasnije od neoperisanih kontrola ali slične vrednosti kao operisane kontrole (Grafikon 8A). Oboleli od sepse su imali i više vrednosti TIMP-1 (Grafikon 8B) i niže vrednosti MMP-9/TIMP-1 odnosa (Grafikon 8D) u odnosu na obe kontrolne grupe u svim trenucima posmatranja. Operisane kontrole su imale niže vrednosti MMP-9 i MMP-1/TIMP-1 odnosa u poređenju sa neoperisanim kontrolama. Vrednosti MMP-9:TIMP-1 kompleksa se nisu statistički značajno razlikovale između ove tri grupe bolesnika (Grafikon 8C).



(Nastavak grafikona 8 je na sledećoj strani.)





**Grafikon 8. Dinamika vrednosti novih biomarkera inflamacije kod obolelih od sepse u poređenju sa kontrolnim grupama.**

Grafikon prikazuje vrednosti (A) MMP-9, (B) TIMP-1, (C) MMP-9:TIMP-1 kompleksa i (D) MMP-9/TIMP-1 odnosa. Podaci su prikazani kao minimum, maksimum, mediana i opseg između 25. i 75. kvartila. Crveno - oboleli od sepse; zeleno - kontrolna grupa operisanih; plavo - kontrolna grupa neoperisanih.

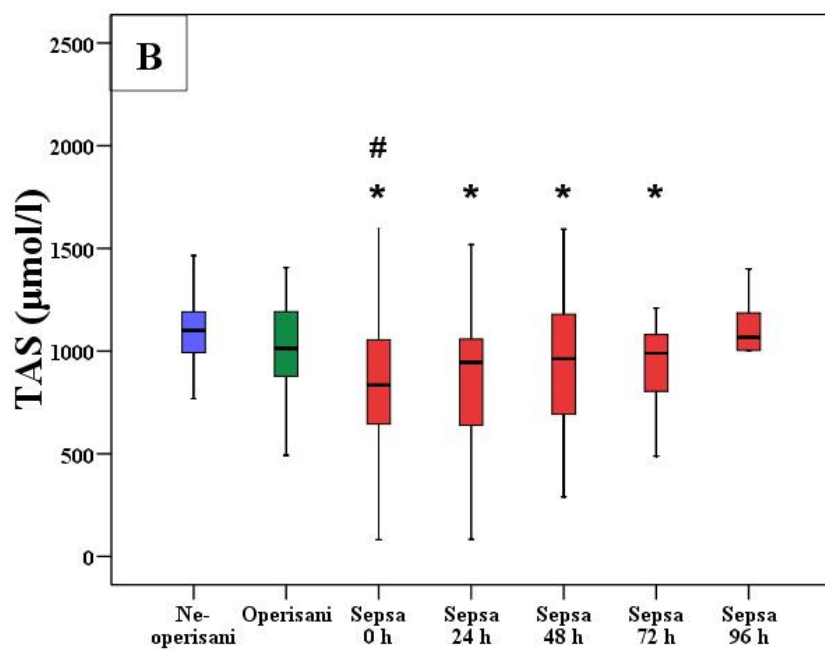
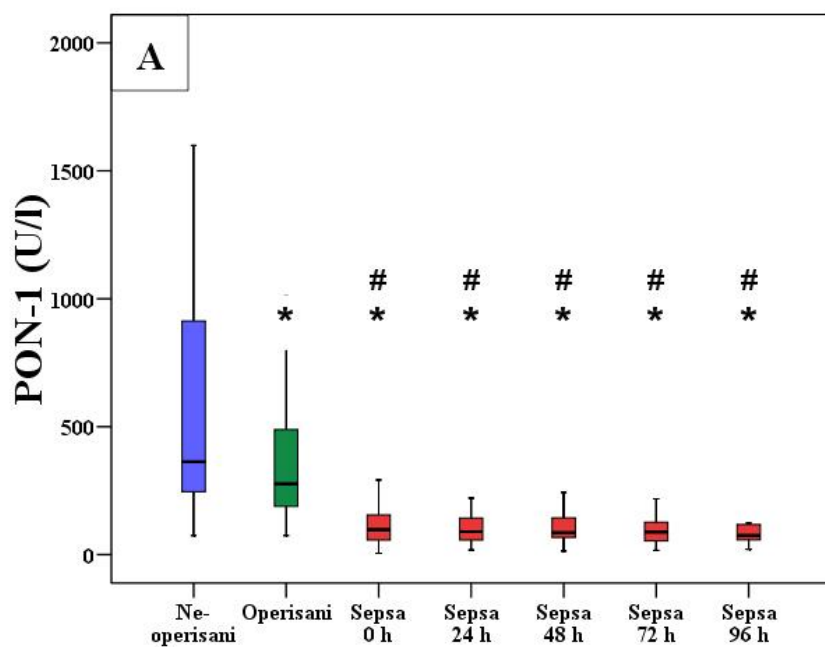
“\*” statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom neoperisanih;

“#” statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom operisanih;

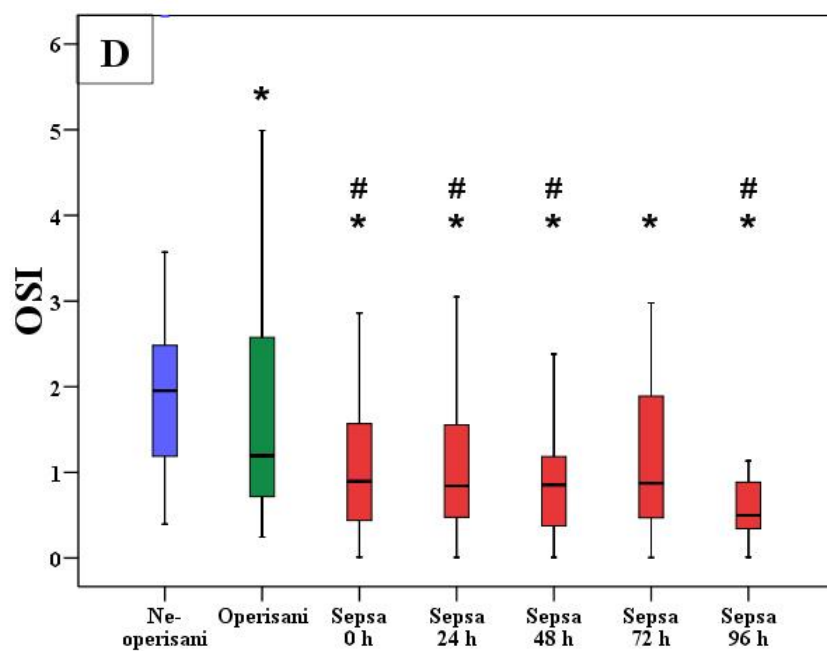
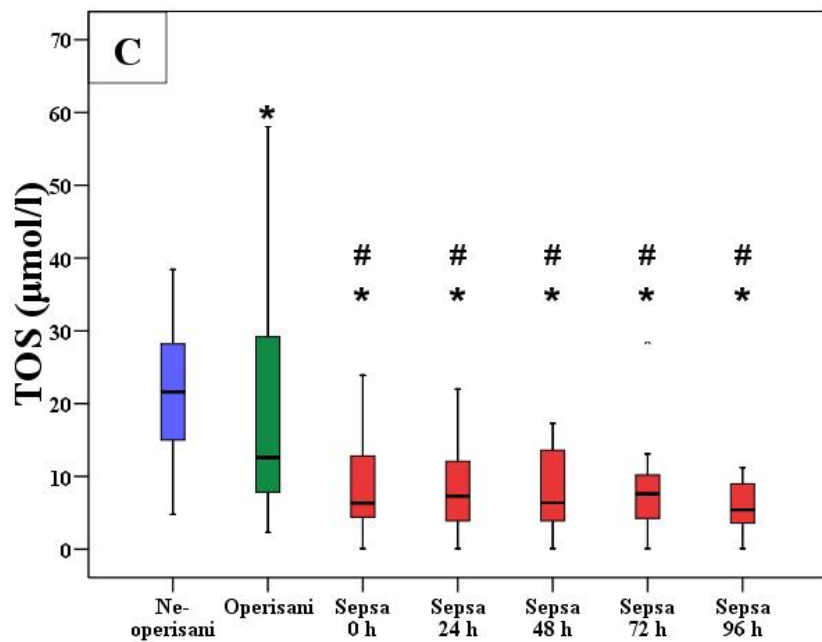
Man-Vitni U test;  $p < 0.05$  se smatra statistički značajnim.

MMP-9 - Matriks Metaloproteinaza-9; TIMP-1 - Tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1.

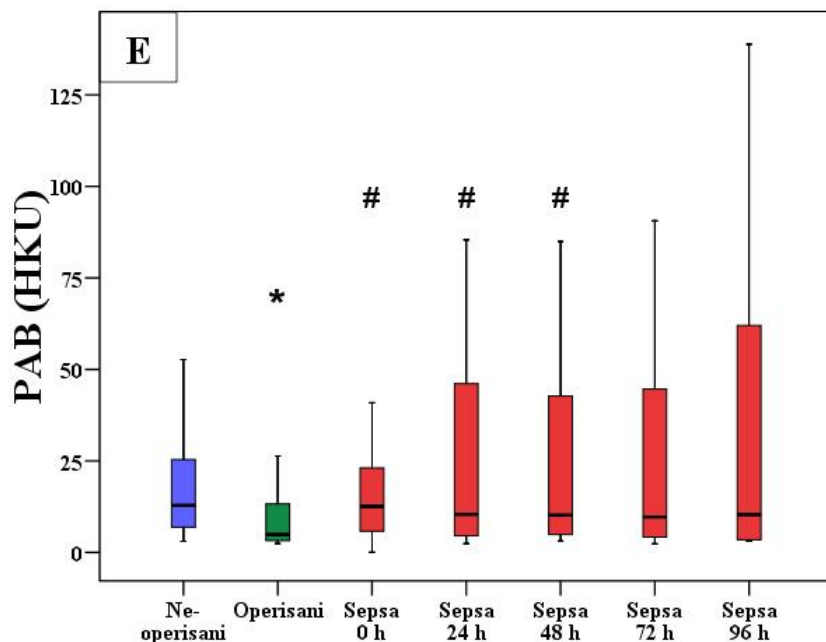
Grafikon 9 prikazuje dinamiku novih biomarkera oksidativnog stresa kod obolelih od sepse u poređenju sa obe kontrolne grupe. Vrednosti novih biomarkera oksidativnog stresa se nisu statistički značajno menjale tokom prvih 96 sati od prijema u JIL ( $p > 0,05$  za sve ispitivane biomarkere). Oboleli od sepse su imali niže vrednosti PON-1 (Grafikon 9A), TOS (Grafikon 9C) i OSI (Grafikon 9D) tokom prvih 96 sati od prijema u JIL u odnosu na obe kontrolne grupe. Septični bolesnici su imali i niže vrednosti TAS u poređenju sa kontrolnom grupom neoperisanih a u poređenju sa kontrolnom grupom operisanih samo pri prijemu u JIL (Grafikon 9B). Oboleli od sepse su imali više vrednosti PAB u poređenju sa operisanim kontrolama tokom prvih 48 sati od prijema u JIL (Grafikon 9E).



(Nastavak grafikona 9 se nalazi na sledećoj strani.)



(Nastavak grafikona 9 se nalazi na sledećoj strani.)



**Grafikon 9. Dinamika vrednosti biomarkera oksidativnog stresa kod obolelih od sepe u poredenju sa kontrolnim grupama.**

Grafikon prikazuje vrednosti (A) PON-1, (B) TAS, (C) TOS, (D) OSI i (E) PAB. Podaci su prikazani kao minimum, maksimum, mediana i opseg između 25. i 75. kvartila. Crveno - oboleli od sepe; zeleno - kontrolna grupa operisanih; plavo - kontrolna grupa neoperisanih.

“\*” statistički značajna razlika u poredenju sa kontrolnom grupom neoperisanih;

“#” statistički značajna razlika u poredenju sa kontrolnom grupom operisanih;

Man-Vitni U test;  $p < 0.05$  se smatra statistički značajnim.

PON-1 - Paraoksonaza-1; TAS - Totalni antioksidativni status; TOS - Totalni antioksidativni status; OSI - Indeks oksidativnog stresa; PAB - Prooksidativni-antioksidativni balans.

## **4.2 Razlike u vrednostima novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB**

### **4.2.1 Demografske i kliničke karakteristike septičnih bolesnika sa i bez S-AOB**

Osnovne demografske i kliničke karakteristike septičnih bolesnika sa i bez S-AOB suprikazane u tabeli 8. Dijagnoza AOB je postavljena kod 37 od 53 obolelih od sepsa (69,8%) i ni kod jednog bolesnika iz kontrolnih grupa. Između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB i neoperisanih kontrola nije bilo razlike u starosti, polu, komorbiditetima izraženim kao ASA status i tipu hirurške intervencije. Očekivano, septični bolesnici sa S-AOB su imali više vrednosti skorova težine bolesti u odnosu na septične bolesnike bez S-AOB i operisane kontrole. Slično, septični bolesnici bez S-AOB su imali više vrednosti skorova težine bolesti u poređenju sa operisanim kontrolama.

**Tabela 8. Demografske i kliničke karakteristike septičnih bolesnika sa i bez S-AOB u sepsi i kontrolne grupe neoperisanih.**

	Kontrolna grupa operisanih (N = 50)	Sepsa bez S-AOB (N = 16)	Sepsa sa S-AOB (N = 37)
Starost (godine)	65,0 [57,75 - 74,0]	70,00 [57,5 - 77,25]	70,00 [61,5 - 75,0]
Pol (muški / ženski)	22 / 28	9 / 7	19 / 18
ASA 1 / 2 / 3 / 4 / 5	0 / 50 / 0 / 0 / 0	2 / 12 / 2 / 0 / 0	0 / 35 / 2 / 0 / 0
APACHE II	7,0 [5,0 - 7,5]	16,0 [13,5 - 18,0] <sup>a</sup>	25,0 [18,0 - 30,75] <sup>b,c</sup>
SOFA	0 [0 - 0]	4,0 [11,0 - 5,75] <sup>a</sup>	7,0 [5,5 - 11,0] <sup>b,c</sup>
Hirurgija gornjeg GIT / kolorektalna hirurgija	9 / 41	7 / 9	13 / 24

Podaci su prikazani kao frekvencije ili medijana i interval vrednosti između 25. i 75. percentila.

<sup>a</sup> statistički značajna razlika između septičnih bolesnika bez S-AOB i kontrolne grupe operisanih,

<sup>b</sup> statistički značajna razlika između septičnih bolesnika sa S-AOB i kontrolne grupe operisanih,

<sup>c</sup> statistički značajna razlika između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB;

Man-Vitni U test;  $p < 0,05$  se smatra statistički značajnim.

S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi; ASA - American Society of Anesthesiologists fizički status; SIRS - Sindrom sistemskog inflamatornog odgovora; APACHE II - Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II skor; SOFA - Sequential Organ Failure Assessment skor; GIT - Gastrointestinalni trakt.

#### **4.2.2 Razlike u vrednostimanovih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kod septičnih bolesnika sa i bez S-AOB**

U tabeli 9 su prikazane vrednosti biomarkera bubrežne funkcije i oštećenja kod septičnih bolesnika sa i bez S-AOB pri prijemu u JIL i kontrolne grupe operisanih. Očekivano, septični bolesnici sa S-AOB su imali više vrednosti serumske uree i kreatinina i, posledično, niže vrednosti JGF od septičnih bolesnika bez S-AOB i kontrolne grupe operisanih. Septični bolesnici sa S-AOB su takođe imali i statistički značajno više vrednosti sva tri nova biomarkera bubežnog oštećenja, serumskog i urinarnog NGAL kao i urinarnog KIM-1, u poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB i operisanim kontrolama. Interesantno, vrednosti i serumskog i urinarnog NGAL, ali ne i KIM-1 su bile statistički značajno više kod septičnih bolesnika bez S-AOB nego u kontrolnoj grupi operisanih.



**Tabela 9. Biomarkeri bubrežne funkcije i oštećenja kod septičnih bolesnika sa i bez S-AOB pri prijemu u JIL i kontrolne grupe operisanih.**

	Kontrolna grupa operisanih (N = 50)	Sepsa bez S-AOB (N = 16)	Sepsa sa S-AOB (N = 37)
S-Urea (mmol/l)	4,9 [3,6 - 6,7]	7,2 [5,4 - 11,0] <sup>a</sup>	17,6 [10,5 - 22,5] <sup>b, c</sup>
S-Kreatinin (μmol/l)	74,0 [56,7 - 92,0]	74,4 [56,0 - 90,1]	168,1 [124,7 - 233,9] <sup>b, c</sup>
JGF (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	90,5 [67,5 - 115,8]	90,5 [49,6 - 116,7]	32,8 [21,2 - 53,5] <sup>b, c</sup>
S-NGAL (ng/ml)	100,3 [91,2 - 111,9]	109,5 [85,4 - 173,4] <sup>a</sup>	184,3 [112,7 - 209,6] <sup>b, c</sup>
U- NGAL (ng/ml)	42,9 [27,2 - 57,6]	54,0 [27,7 - 169,6] <sup>a</sup>	150,7 [86,7 - 207,3] <sup>b, c</sup>
U-KIM-1 (pg/ml)	800,0 [730,0 - 1977,0]	706,8 [667,0 - 763,8]	829,5 [734,7 - 2018,0] <sup>b, c</sup>

Podaci su prikazani kao medijana i interval vrednosti između 25. i 75. percentila.

<sup>a</sup> statistički značajna razlika između septičnih bolesnika bez S-AOB i kontrolne grupe operisanih,

<sup>b</sup> statistički značajna razlika između septičnih bolesnika sa S-AOB i kontrolne grupe operisanih,

<sup>c</sup> statistički značajna razlika između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB;

Man-Vitni U test; p < 0,05 se smatra statistički značajnim.

S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi; S - serumski; U - urinarni; JGF - Jačina glomerulske filtracije; NGAL - Neutrophile Gelatinase-Associated Lipocalin; KIM-1 - Kidney Injury Molecule-1.

U tabeli 10 su prikazane vrednosti biomarkera inflamacije kod septičnih bolesnika sa i bez S-AOB pri prijemu u JIL i kontrolne grupe operisanih. U poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB, septični bolesnici sa S-AOB su pri prijemu u JIL imali statistički značajno niži broj leukocita i više vrednosti CRP i PCT. Septični bolesnici bez S-AOB su imali viši broj leukocita kao i vrednosti CRP od bolesnika kontrolne grupe operisanih. Vrednosti TIMP-1 su bile statistički značajno više kod septičnih bolesnika sa S-AOB nego kod septičnih bolesnika bez S-AOB i kontrolne grupe operisanih kao i kod septičnih bolesnika bez S-AOB u poređenju sa kontrolnom grupom operisanih. Septični bolesnici sa S-AOB su imali značajno niže vrednosti MMP-9/TIMP-1 odnosa od i septičnih bolesnika bez S-AOB i kontrolne grupe operisanih. Slične vrednosti MMP-9 i MMP-9:TIMP-1 kompleksa su nađene kod sve tri grupe bolesnika.

**Tabela 10. Biomarkeri inflamacije kod septičnih bolesnika sa i bez S-AOB pri prijemu u JIL i kontrolne grupe operisanih.**

	Kontrolna grupa operisanih (N = 50)	Sepsa bez S-AOB (N = 16)	Sepsa sa S-AOB (N = 37)
Leukociti (x10 <sup>9</sup> /l)	9,10 [6,45 - 12,12]	15,95 [7,55 - 21,77] <sup>a</sup>	13,4 [9,0 - 18,3] <sup>b</sup>
CRP (mg/l)	97,5 [14,8 - 157,2]	196,0 [143,0 - 230,0] <sup>a</sup>	200,0 [150,0 - 291,0] <sup>b</sup>
PCT (µg/l)	-	5,43 [0,24 - 11,64]	13,82 [7,45 - 37,47] <sup>c</sup>
MMP-9 (ng/ml)	663,3 [537,2 - 726,1]	686,3 [409,7 - 1358,6]	533,0 [370,7 - 884,9]
TIMP-1 (ng/ml)	263,0 [153,2 - 428,1]	513,2 [253,2 - 594,1] <sup>a</sup>	577,2 [505,8 - 1040,9] <sup>b, c</sup>
MMP-9:TIMP-1 kompleks (pg/ml)	29,33 [26,51 - 31,83]	34,55 [26,15 - 38,08]	28,92 [18,81 - 36,32]
MMP-9/TIMP-1 odnos	2,47 [1,59 - 3,61]	2,25 [1,15 - 2,76]	0,8 [0,5 - 0,2] <sup>b, c</sup>

Podaci su prikazani kao medijana i interval vrednosti između 25. i 75. percentila.

<sup>a</sup> statistički značajna razlika između septičnih bolesnika bez S-AOB i kontrolne grupe operisanih,

<sup>b</sup> statistički značajna razlika između septičnih bolesnika sa S-AOB i kontrolne grupe operisanih,

<sup>c</sup> statistički značajna razlika između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB;

Man-Vitni U test; p < 0,05 se smatra statistički značajnim.

S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi; CRP - C-reactivni protein; PCT - Prokalcitonin; MMP-9 - Matriks Metaloproteinaza-9; TIMP-1 - Tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1.

Kao što se iz tabele 11 može videti, septični bolesnici sa S-AOB su imali statistički značajno niže vrednosti PON-1 i TAS, biomarkera antioksidativne zaštite, u poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB i operisanim kontrolama. S obzirom da ovakav nalaz ukazuje na stanje povišenog oksidativnog stresa, neočekivano je što su kod njih nađene istovremeno i niže vrednosti TOS, OSI i PAB. Nije bilo razlike u vrednostima MDA između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB. Septični bolesnici bez S-AOB su u odnosu na bolesnike kontrolne grupe operisanih imali niže vrednosti PON-1, TAS i više vrednosti PAB.

**Tabela 11. Vrednosti biomarkera oksidativnog stresa kod septičnih bolesnika sa i bez S-AOB pri prijemu u JIL i kontrolne grupe operisanih.**

	Kontrolna grupa operisanih (N = 50)	Sepsa bez S-AOB (N = 16)	Sepsa sa S-AOB (N= 37)
PON-1 (U/l)	277,0 [188,0 - 491,0]	114,5 [70,0-282,0] <sup>a</sup>	93,0 [36,2 - 133,7] <sup>b, c</sup>
TAS (μmol/l)	1013,2 [864,5 - 1191,8]	845,7 [591,0 - 1002,0] <sup>a</sup>	822,8 [674,0 - 1068,0] <sup>b</sup>
TOS (μmol/l)	12,60 [7,80 - 31,26]	9,70 [5,80 - 16,40]	5,80 [3,60 - 10,30] <sup>b, c</sup>
OSI	1,20 [0,71 - 2,62]	1,38 [0,78 - 2,30]	0,62 [0,32 - 1,29] <sup>b, c</sup>
PAB (HKU)	4,92 [3,23 - 13,64]	19,49 [10,00 - 54,70] <sup>a</sup>	9,30 [5,10 - 17,40] <sup>b, c</sup>
MDA (μmol/l)	-	1,30 [0,93 - 1,54]	1,34 [0,76 - 2,09]

Podaci su prikazani kao medijana i interval vrednosti između 25. i 75. percentila.

<sup>a</sup> statistički značajna razlika između kontrolne grupe operisanih i kontrolne grupe neoperisanih,

<sup>b</sup> statistički značajna razlika između obolelih od sepse i kontrolne grupe neoperisanih,

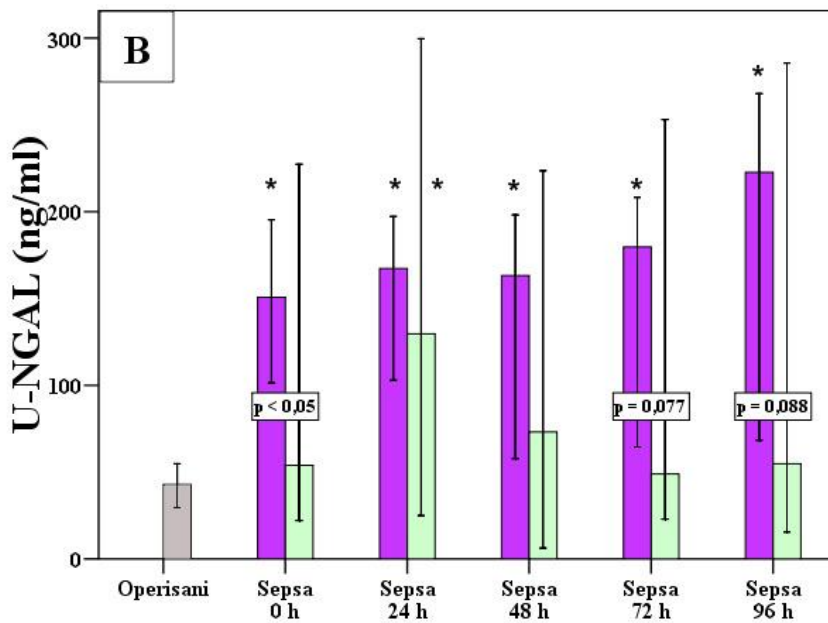
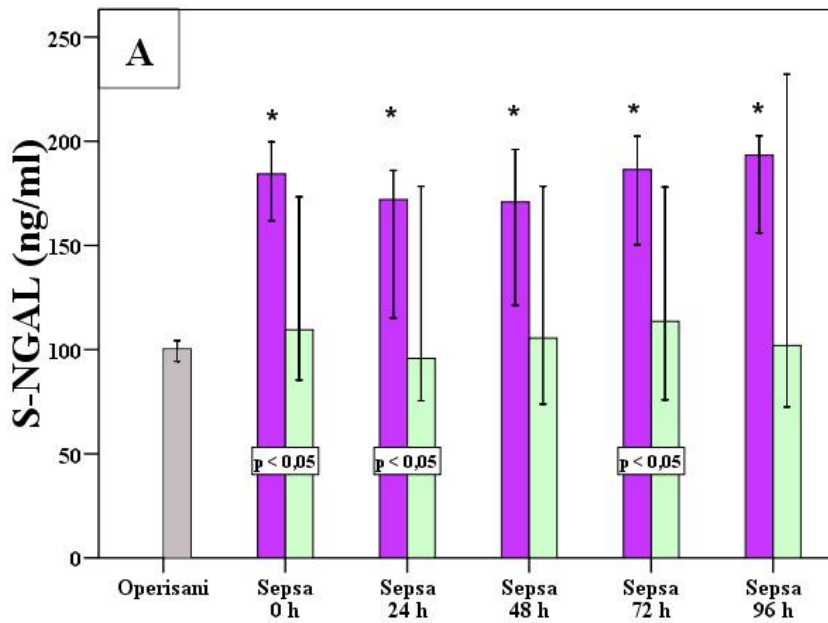
<sup>c</sup> statistički značajna razlika između obolelih od sepse i kontrolne grupe operisanih;

Man-Vitni U test;  $p < 0,05$  se smatra statistički značajnim.

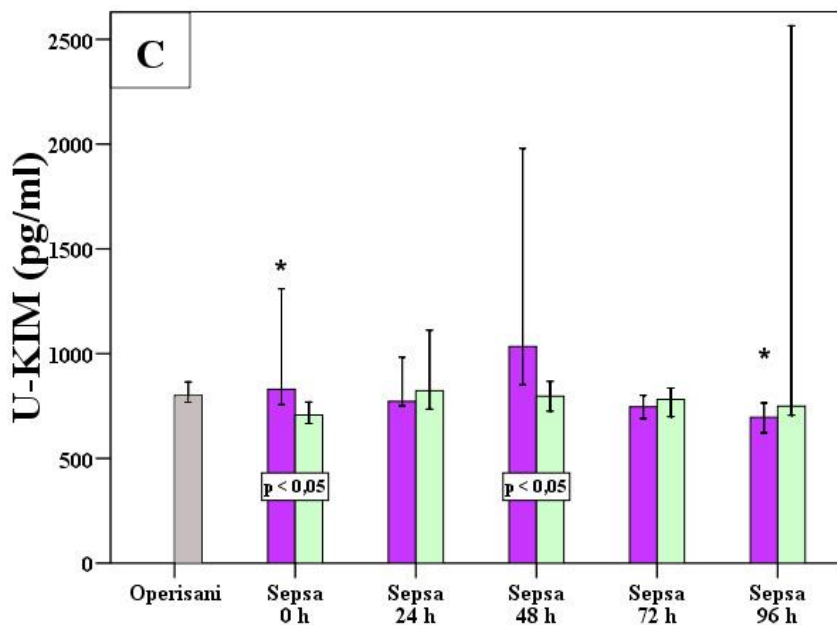
S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi; PON-1 - Paraoksonaza-1; TAS - Totalni antioksidativni status; TOS - Totalni antioksidativni status; OSI - Indeks oksidativnog stresa; PAB - Prooksidativni-antioksidativni balans; MDA - Malondialdehid.

### **4.2.3 Dinamika novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kod septičnih bolesnika sa i bez S-AOB**

Septični bolesnici sa S-AOB su tokom prvih 96 sati od prijema u JIL imali statistički značajno više vrednosti serumskog (Grafikon 10A) i urinarnog (Grafikon 10B) NGAL kao i KIM-1 (Grafikon 10C) u poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB i kontrolnom grupom operisanih. Nije bilo statistički značajne razlike u vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja između septičnih bolesnika bez S-AOB i neoperisanih kontrola (Grafikon 10).



(Natavak grafikona 10 se nalazi na sledećoj strani.)



**Grafikon 10. Dinamika novih biomarkera bubrežnog oštećenja kod septičnih bolesnika sa i bez S-AOB u poređenju sa kontrolnom grupom operisanih.**

Grafikon prikazuje vrednosti (A) S-NGAL, (B) U-NGAL i (C) U-KIM-1. Podaci su prikazani kao medijana i 95% interval poverenja. Ljubičasto - septični bolesnici sa S-AOB, zeleno - septični bolesnici bez S-AOB, sivo - kontrolna grupa operisanih.

p vrednosti u pravougaoniku - statistički značajna razlika između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB;

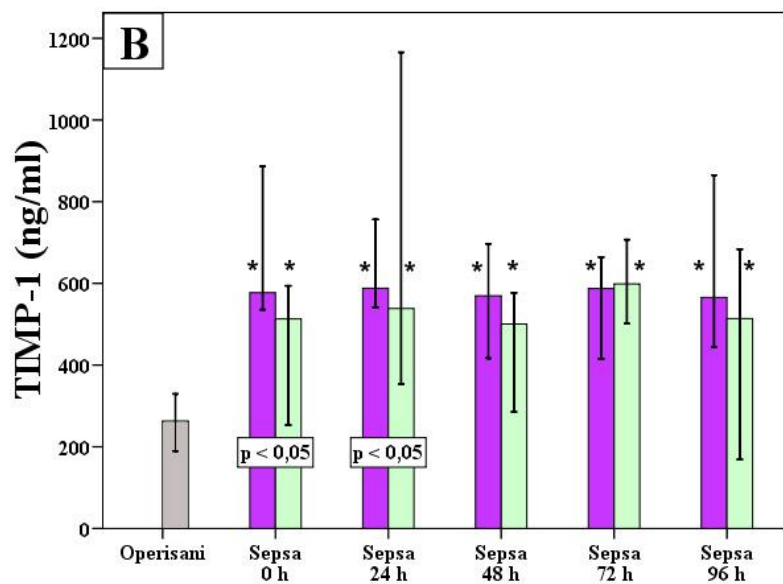
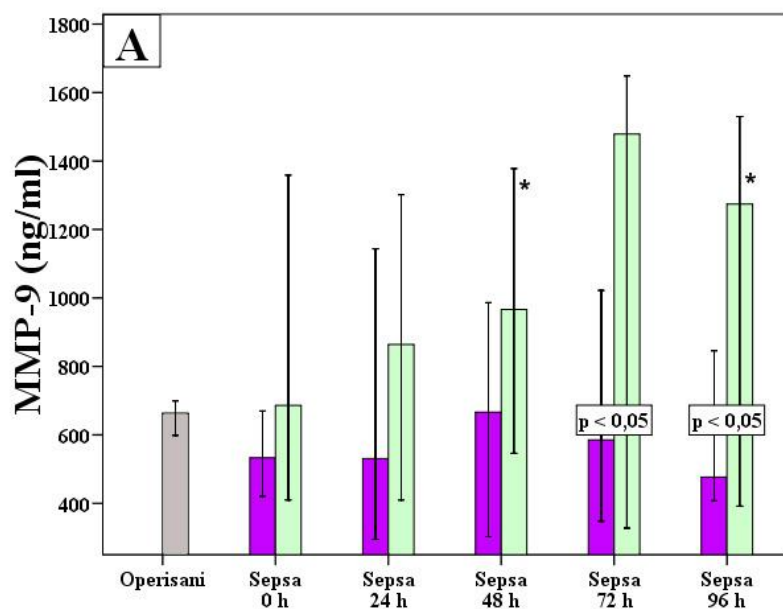
“\*” statistički značajna razlika između septičnih bolesnika sa ili bez S-AOB i kontrolne grupe operisanih;

Man-Vitni U test;  $p < 0,05$  se smatra statistički značajnim.

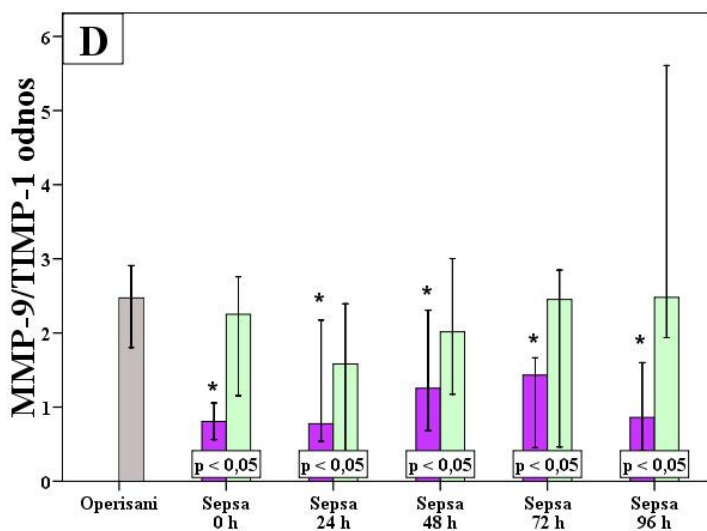
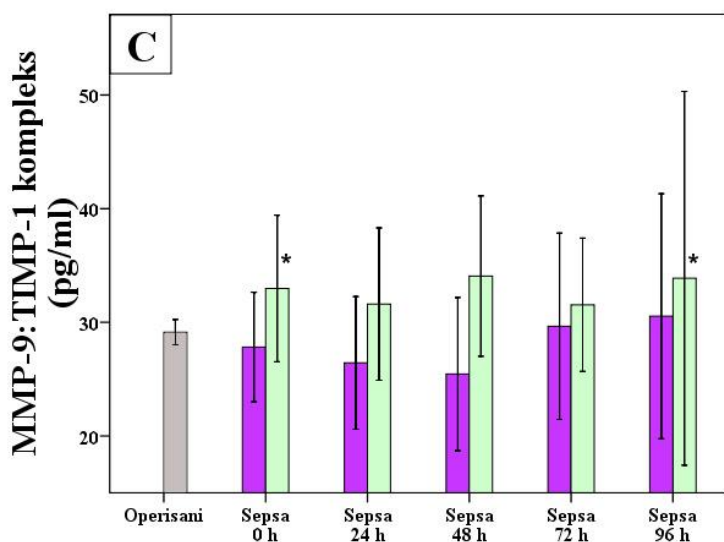
S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi; S - serumski; U - urinarni; NGAL - Neutrophile Gelatinase-Associated Lipocalin; KIM-1 - Kidney Injury Molecule-1.



Grafikon 11 predstavlja dinamiku MMP-9, TIMP-1, MMP-9:TIMP-1 kompleksa i MMP-9/TIMP-1 odnosa kod septičnih bolesnika sa i bez S-AOB u poređenju sa kontrolnom grupom operisanih. Septični bolesnici sa S-AOB su imali niže vrednosti MMP-9 od septičnih bolesnika bez S-AOB 72 i 96 sati nakon prijema u JIL. Međutim, vrednosti MMP-9 su bile značajno više kod septičnih bolesnika bez S-AOB 48 i 96 sati nakon prijema u JIL nego kod operisanih kontrola (Grafikon 11A). Kao što se može videti na grafikonu 11B, septični bolesnici sa S-AOB su imali više vrednosti TIMP-1 u poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB pri prijemu u JIL i 24 sati kasnije. I septični bolesnici sa i bez S-AOB su tokom celog opservacionog perioda imali statistički značajno više vrednosti TIMP-1 od bolesnika kontrolne grupe operisanih. Septični bolesnici sa i bez S-AOB su imali slične vrednosti MMP-9:TIMP-1 kompleksa ali su vrednosti ovog biomarkera bile više kod septičnih bolesnika bez S-AOB u poređenju sa operisanim kontrolama (Grafikon 11C). Tokom celog opservacionog perioda vrednosti MMP-9/TIMP-1 odnosa su bile statistički značajno niže kod septičnih bolesnika sa S-AOB nego kod septičnih bolesnika bez S-AOB i operisanih kontrola (Grafikon 11D).



(Nastavak grafikona 11 se nalazi na sledećoj strani.)



**Grafikon 11. Dinamika vrednosti novih biomarkera inflamacije kod septičnih bolesnika sa i bez S-AOB u poređenju sa kontrolnom grupom operisanih.**

Grafikon prikazuje vrednosti (A) MMP-9, (B) TIMP-1, (C) MMP-9:TIMP-1 kompleksa i (D) MMP-9/TIMP-1 odnosa. Podaci su prikazani kao medijana i 95% interval poverenja. Ljubičasto - septični bolesnici sa S-AOB, zeleno - septični bolesnici bez S-AOB, sivo - kontrolna grupa operisanih.

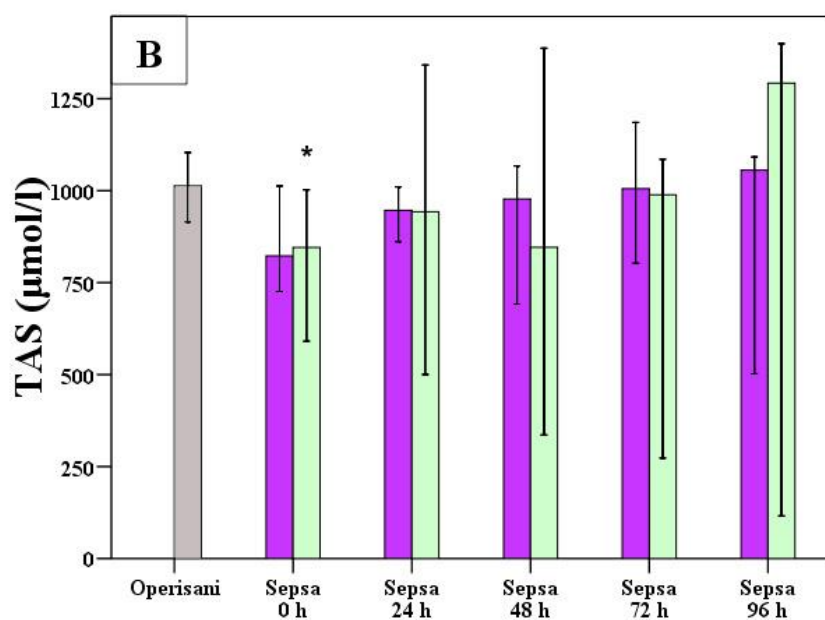
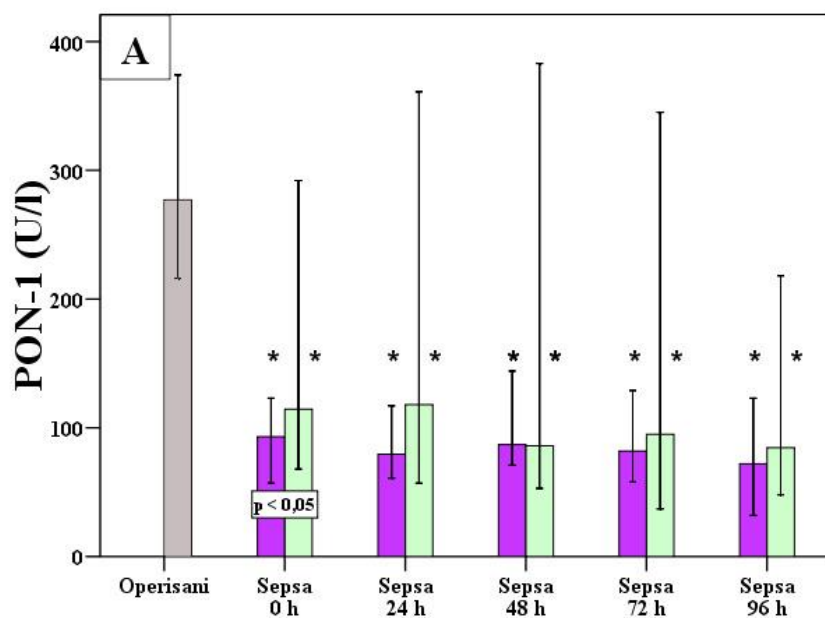
p vrednosti u pravougaoniku - statistički značajna razlika između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB;

“\*” statistički značajna razlika između septičnih bolesnika sa ili bez S-AOB i kontrolne grupe operisanih;

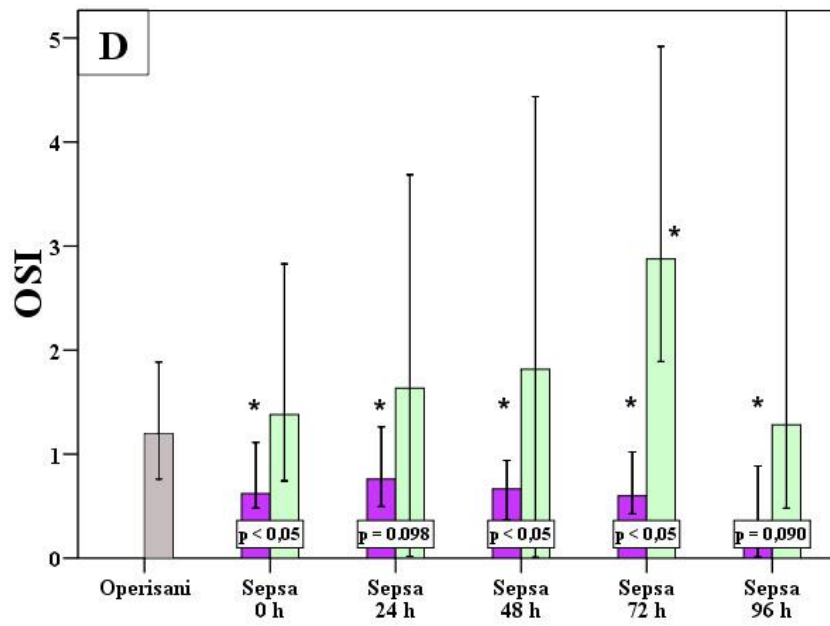
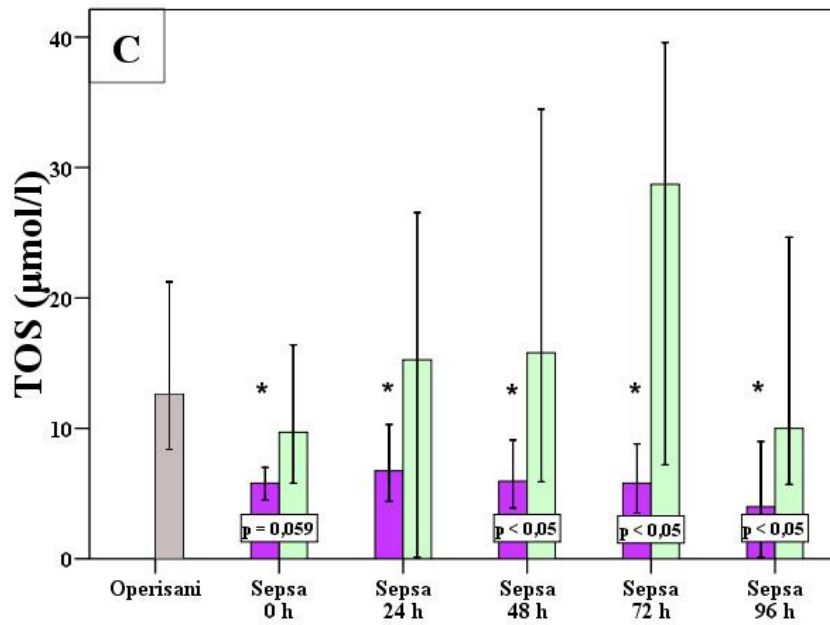
Man-Vitni U test; p < 0,05 se smatra statistički značajnim.

S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi; MMP-9 - Matriks metaloproteinaza-9; TIMP-1 - Tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1.

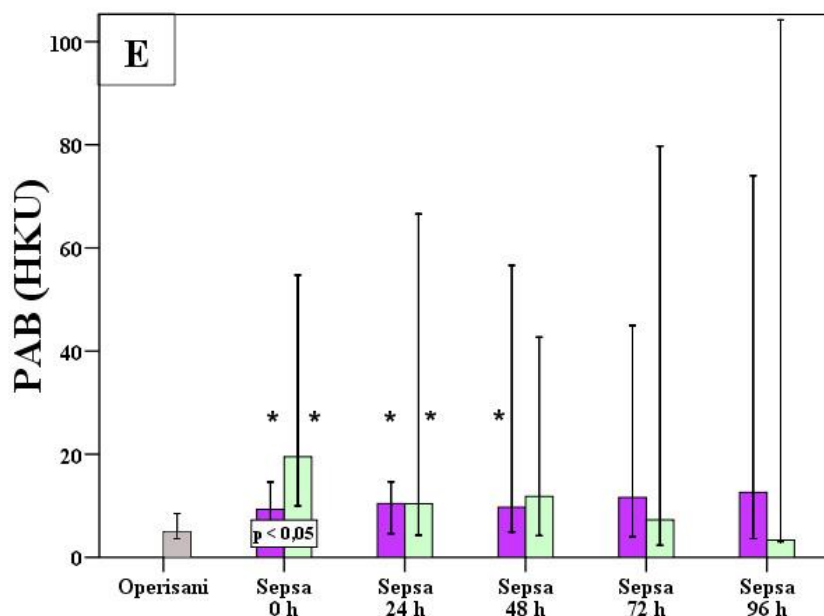
Septični bolesnici sa S-AOB su u poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB imali niže vrednosti TOS i OSI tokom celog opservacionog perioda (Grafikon 12C i 12D, respektivno), kao i niže vrednosti PON-1 i PAB pri prijemu u JIL (Grafikon 12A i 12E, respektivno). Međutim, ove dve grupe bolesnika se nisu razlikovale po vrednostima TAS (Grafikon 12B). U poređenju sa operisanim kontrolama, septični bolesnici sa S-AOB su imali niže vrednosti PON-1 (Grafikon 12A), TOS (Grafikon 12C) i OSI (Grafikon 12D), a više vrednosti PAB (Grafikon 12E). Septični bolesnici bez S-AOB su imali niže vrednosti PON-1 u poređenju sa operisanim kontrolama (Grafikon 12A).



(Nastavak grafikona 12 se nalazi na sledećoj strani.)



(Nastavak grafikona 12 se nalazi na sledećoj strani.)



**Grafikon 12. Dinamika vrednosti biomarkera oksidativnog stresa kod septičnih bolesnika sa i bez S-AOB u poređenju sa kontrolnom grupom operisanih.**

Grafikon prikazuje vrednosti (A) PON-1, (B) TAS, (C) TOS, (D) OSI i (E) PAB. Podaci su prikazani kao medijana i 95% interval poverenja. Ljubičasto - septični bolesnici sa S-AOB, zeleno - septični bolesnici bez S-AOB, sivo - kontrolna grupa operisanih.

p vrednosti u pravougaoniku - statistički značajna razlika između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB;

“\*” statistički značajna razlika između septičnih bolesnika sa ili bez S-AOB i kontrolne grupe operisanih;

Man-Vitni U test;  $p < 0,05$  se smatra statistički značajnim.

S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi; PON-1 - Paraoksonaza-1; TAS - Totalni antioksidativni status; TOS - Totalni antioksidativni status; OSI - Indeks oksidativnog stresa; PAB - Prooksidativni-antioksidativni balans.

### **4.3 Povezanost između novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa i standardnih biomarkera bubrežne funkcije**

Na tabeli 12 su prikazani rezultati analize korelacije između standardnih biomarkera bubrežne funkcije i novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa. Očekivano, vrednosti serumske uree i kreatinina su korelirale pozitivno a JGF negativno sa skorovima težine bolesti, novim biomarkerima bubrežnog oštećenja, brojem leukocita i vrednostima PCT. Nađena je statistički značajna negativna korelacija između vrednosti serumske uree i kreatinina sa vrednostima MMP-9 i MMP-9/TIMP-1 odnosa. Posledično, korelacija ovih biomarkera sa JGF je imala suprotan smer. Vrednosti serumske uree i kreatinina su korelirale negativno a JGF pozitivno sa vrednostima PON-1, TOS i OSI. Nije bilo statistički značajne korelacije između vrednosti standardnih biomarkera bubrežne funkcije i vrednosti CRP, MMP-9:TIMP-1 kompleksa, TAS, PAB i MDA.



**Tabela 12. Koeficijenti korelacije između standardnih biomarkera bubrežne funkcije i novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa.**

	S-Urea	S-Kreatinin	JGF
<b>Skorovi težine bolesti</b>			
APACHE II	0,490 **	0,365 **	- 0,402 **
SOFA	0,483 **	0,390 **	- 0,358 **
<b>Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja</b>			
S-NGAL	0,248 **	0,219 **	- 0,215 **
U-NGAL	0,332 **	0,275 **	- 0,283 **
U-KIM-1	0,114	0,124 *	- 0,078
<b>Biomarkeri inflamacije</b>			
Leukociti	0,168 **	0,181 **	- 0,176 **
CRP	0,226	0,120	- 0,075
PCT	0,389 **	0,289 *	- 0,352 **
MMP-9	- 0,162 **	- 0,132 *	0,135 *
TIMP-1	0,375 **	0,323 **	- 0,281 **
MMP-9:TIMP-1 kompleks	0,005	0,005	- 0,005
MMP-9/TIMP-1 odnos	- 0,370 **	- 0,301 **	0,280 **
<b>Biomarkeri oksidativnog stresa</b>			
PON-1	- 0,352 **	- 0,301 **	0,287 **
TAS	-0,039	- 0,017	0,030
TOS	- 0,305 **	- 0,223 **	0,172 **
OSI	- 0,257 **	- 0,208 **	0,139 *
PAB	0,046	- 0,010	0,009
MDA	- 0,076	- 0,006	0,119

Podaci predstavljaju Kendal tau-b koeficijente korelacije.

“\*\*” Korelacija je statistički značajna na  $p < 0,01$ ;

“\*” Korelacija je statistički značajna na  $p < 0,05$ .

Kendal tau-b analiza korelacije.

S - serumski; U - urinarni; JGF - Jačina glomerulske filtracije; APACHE II - Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II skor; SOFA - Sequential Organ Failure Assessment skor, NGAL - Neutrophile Gelatinase-Associated Lipocalin; KIM-1 - Kidney Injury Molecule-1; CRP - C-reaktivni protein; PCT - Prokalcitonin; MMP-9 - Matriks metaloproteinaza-9; TIMP-1 - Tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1; PON-1 - Paraoksonaza-1; TAS - Totalni antioksidativni status; TOS - Totalni antioksidativni status; OSI - Indeks oksidativnog stresa; PAB - Prooksidativni-antioksidativni balans; MDA - Malondialdehid.

Očekivano, nađena je statistički značajna pozitivna korelacija između vrednosti NGAL u urinu i serumu (Kendal tau-b = 0,189,  $p < 0,01$ ). Vrednosti urinarnog KIM-1 su pozitivno korelirale sa vrednostima urinarnog (Kendal tau-b = 0,290,  $p < 0,01$ ) ali ne i serumskog NGAL. Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja su korelirali pozitivno sa skorovima težine bolesti, brojem leukocita, CRP, TIMP-1 i MMP-9:TIMP-1 kompleksom a negativno sa MMP-9 i MMP-9/TIMP-1 odnosom kao i biomarkerima oksidativnog stresa (Tabela 11). Vrednosti NGAL i KIM-1 su korelirale negativno sa vrednostima HDL, ukupnih proteina, hemoglobina i laktata a pozitivno sa biomarkerima oštećenja jetre (za sve navedeno  $p < 0,05$ ).

**Tabela 13. Koeficijenti korelacije između novih biomarkera bubrežnog oštećenja i biomarkera inflamacije i oksidativnog stresa.**

	S-NGAL	S-NGAL	U-KIM-1
<b>Skorovi težine bolesti</b>			
APACHE II	0,319 **	0,432 **	0,181 **
SOFA	0,246 **	0,374 **	0,147 *
<b>Biomarkeri inflamacije</b>			
Leukociti	0,112	0,136 *	0,084
CRP	0,034	0,320 *	0,163
PCT	- 0,092	0,281	0,114
MMP-9	- 0,104	- 0,199 *	- 0,026
TIMP-1	0,319 **	0,366 **	0,183 **
MMP-9:TIMP-1 kompleks	0,314 **	0,007	0,038
MMP-9/TIMP-1 odnos	- 0,302 **	- 0,401 **	- 0,158 **
<b>Biomarkeri oksidativnog stresa</b>			
PON-1	- 0,202 **	- 0,362 **	- 0,122 *
TAS	- 0,144 *	- 0,114 *	0,024
TOS	- 0,249 **	- 0,212 **	- 0,088
OSI	- 0,184 **	- 0,152 **	- 0,082
PAB	- 0,060	0,012	- 0,049
MDA	0,194	0,063	- 0,079

Podaci predstavljaju Kendal tau-b koeficijente korelacije.

“\*\*” Korelacija je statistički značajna na  $p < 0,01$ ;

“\*” Korelacija je statistički značajna na  $p < 0,05$ .

Kendal tau-b analiza korelacije.

S - serumski; U - urinarni; NGAL - Neutrophile Gelatinase-Associated Lipocalin; KIM-1 - Kidney Injury Molecule-1; APACHE II - Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II skor; SOFA - Sequential Organ Failure Assessment skor; CRP - C-reaktivni protein; PCT - Prokalcitonin; MMP-9 - Matriks metaloproteinaza-9; TIMP-1 - Tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1; PON-1 - Paraoksonaza-1; TAS - Totalni antioksidativni status; TOS - Totalni antioksidativni status; OSI - Indeks oksidativnog stresa; PAB - Prooksidativni-antioksidativni balans; MDA - Malondialdehid.

Nije nađena statistički značajna korelacija između vrednosti MMP-9 i TIMP-1 ali su vrednosti oba biomarkera pozitivno korelirale sa vrednostima MMP-9:TIMP-1 kompleksa (Kendal tau- $b_{\text{MMP-9}} = 0,363$ ,  $p < 0,01$  i Kendal tau- $b_{\text{TIMP-1}} = 0,181$ ,  $p < 0,01$ ; respektivno). Kao što se iz tabele 14 može videti, MMP-9 i MMP-9/TIMP-1 odnos su, suprotno od TIMP-1, negativno korelirali sa skorovima težine bolesti a pozitivno sa biomarkerima oksidativnog stresa. MMP-9, TIMP-1 i MMP-9, MMP-9:TIMP-1 kompleks su korelirali pozitivno a MMP-9/TIMP-1 odnos negativno sa brojem leukocita. MMP-9 i MMP-9/TIMP-1 odnos su, suprotno od TIMP-1, korelirali pozitivno sa vrednostima HDL, ukupnih proteina i hemoglobina a negativno sa vrednostima glikemije i biomarkerima oštećenja jetre (za sve navedeno  $p < 0,05$ ).

**Tabela 14. Koeficijenti korelacije između novih biomarkera inflamacije i oksidativnog stresa.**

	MMP-9	TIMP-1	MMP-9:TIMP-1 kompleks	MMP-9/TIMP-1 odnos
<b>Skorovi težine bolesti</b>				
APACHE II	- 0,186 **	0,491 **	- 0,072	- 0,474 **
SOFA	- 0,195 **	0,494 **	- 0,011	- 0,452 **
<b>Biomarkeri inflamacije</b>				
Leukociti	0,124 *	0,235 **	0,200 **	- 0,124 *
CRP	- 0,118	0,191	0,065	- 0,209
PCT	- 0,132	- 0,053	- 0,228	- 0,020
<b>Biomarkeri oksidativnog stresa</b>				
PON-1	0,218 **	- 0,371 *	0,004	0,401 **
TAS	0,157 **	- 0,112*	0,084	0,154 **
TOS	0,188 **	- 0,241 **	0,037	0,278 **
OSI	0,163 **	- 0,183 **	0,047	0,231 **
PAB	0,095	0,023	- 0,015	0,047
MDA	- 0,086	0,000	- 0,023	- 0,071

Podaci predstavljaju Kendal tau-b koeficijente korelacije.

“\*\*” Korelacija je statistički značajna na  $p < 0,01$ ;

“\*” Korelacija je statistički značajna na  $p < 0,05$ .

Kendal tau-b analiza korelacije.

APACHE II - Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II skor; SOFA - Sequential Organ Failure Assessment skor, CRP - C-reaktivni protein; PCT - Prokalcitonin; MMP-9 - Matriks metaloproteinaza-9; TIMP-1 - Tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1; PON-1 - Paraoksonaza-1; TAS - Totalni antioksidativni status; TOS - Totalni antioksidativni status; OSI - Indeks oksidativnog stresa; PAB - Prooksidativni-antioksidativni balans; MDA - Malondialdehid.

Vrednosti PON-1 su pozitivno korelirale sa vrednostima TAS i TOS i, posledično, vrednostima OSI (Kendal tau- $b_{TAS}$  = 0,208,  $p < 0,01$ ; Kendal tau- $b_{TOS}$  = 0,272,  $p < 0,01$ ; Kendal tau- $b_{OSI}$  = 0,166,  $p < 0,01$ ). Iznenadujuće, našli smo pozitivnu korelaciju između TAS i TOS (Kendal tau- $b$  = 0,147,  $p < 0,01$ ). PON-1, TOS i OSI su statistički značajno negativno korelirali sa APACHE II (Kendal tau- $b_{PON-1}$  = - 0,398,  $p < 0,01$ ; Kendal tau- $b_{TOS}$  = - 0,296,  $p < 0,01$ ; Kendal tau- $b_{OSI}$  = - 0,222,  $p < 0,01$ ) i SOFA (Kendal tau- $b_{PON-1}$  = - 0,395,  $p < 0,01$ ; Kendal tau- $b_{TOS}$  = - 0,270,  $p < 0,01$ ; Kendal tau- $b_{OSI}$  = - 0,206,  $p < 0,01$ ) skorovima. Vrednosti biomarkera oksidativnog stresa nisu korelirale sa vrednostima CRP i PCT ali je broj leukocita korelirao negativno sa vrednostima PON-1 (Kendal tau- $b$  = - 0,197,  $p < 0,01$ ) i TOS (Kendal tau- $b_{TOS}$  = - 0,140,  $p < 0,05$ ). Očekivano, statistički značajna korelacija je nađena i između vrednosti HDL i PON-1 (Kendal tau- $b$  = 0,331  $p < 0,01$ ) ali i TAS, TOS, OSI i PAB (Kendal tau- $b_{TAS}$  = 0,160,  $p < 0,01$ ; Kendal tau- $b_{TOS}$  = 0,237,  $p < 0,01$ ; Kendal tau- $b_{OSI}$  = 0,190,  $p < 0,01$  i Kendal tau- $b_{PAB}$  = 0,119,  $p < 0,05$ ). Biomarkeri oksidativnog stresa su pozitivno korelirali i sa vrednostima ukupnih proteina i hemoglobina a negativno sa vrednostima glikemije (za sve navedeno  $p < 0,05$ ). Vrednosti TAS, TOS i OSI nisu statistički značajno korelirale sa vrednostima bilirubina. S druge strane, aktivnost PON-1 je negativno korelirala sa biomarkerima oštećenja jetre (Kendal tau- $b_{AST}$  = - 0,346,  $p < 0,01$ ; Kendal tau- $b_{ALT}$  = - 0,151,  $p < 0,05$ ; Kendal tau- $b_{uk.bilirubin}$  = 0,161,  $p < 0,05$ , Kendal tau- $b_{dir.bilirubin}$  = 0,154,  $p = 0,083$ ).

#### **4.4 Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kao dijagnostički biomarkeri sepsa**

Tabele 15 i 16 prikazuju rezultate AUC-ROC analize novih biomarkera bubrežnog oštećenja kao dijagnostičkih biomarkera sepsa. Kada su u grupu obolelih od sepsa uključeni svi septični bolesnici, bez obzira na to da li imaju S-AKI ili ne, serumski i urinarni NGAL, za razliku od KIM-1 su dobri dijagnostički biomarkeri sepsa. Sva tri nova biomarkera bubrežnog oštećenja su mogla da diskriminišu i bolesnike iz kontrolnih grupa neoperisanih i operisanih (Tabela 15). Međutim, kada se iz analize isključe septični bolesnici sa S-AOB, značaj NGAL i KIM-1 kao dijagnostičkih biomarkera sepsa je vidno umanjen (Tabela 16).

**Tabela 15. Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja kao dijagnostički biomarkeri sepse.**

AUC-ROC (95% C.I.)			
	S-NGAL	U-NGAL	U-KIM-1
<b>Kontrolna grupa neoperisanih vs. kontrolna grupa operisanih</b>			
0 h	0,705 (0,596 - 0,815) *	0,646 (0,533 - 0,759) *	0,666 (0,554 - 0,779) *
<b>Kontrolna grupa neoperisanih vs. oboleli od sepse</b>			
0 h	0,800 (0,699 - 0,900) *	0,843 (0,764 - 0,921) *	0,644 (0,529 - 0,760) *
24 h	0,768 (0,656 - 0,880) *	0,894 (0,824 - 0,963) *	0,660 (0,543 - 0,778) *
48 h	0,778 (0,653 - 0,902) *	0,807 (0,705 - 0,909) *	0,742 (0,633 - 0,851) *
72 h	0,839 (0,720 - 0,958) *	0,873 (0,792 - 0,954) *	0,544 (0,415 - 0,693)
96 h	0,793 (0,641 - 0,945) *	0,863 (0,754 - 0,973) *	0,519 (0,369 - 0,670)
<b>Kontrolna grupa operisanih vs. oboleli od sepse</b>			
0 h	0,729 (0,622 - 0,837) *	0,777 (0,675 - 0,878) *	0,541 (0,427 - 0,655)
24 h	0,653 (0,527 - 0,778) *	0,843 (0,745 - 0,942) *	0,523 (0,402 - 0,644)
48 h	0,702 (0,570 - 0,834) *	0,756 (0,632 - 0,880) *	0,574 (0,450 - 0,699)
72 h	0,782 (0,650 - 0,913) *	0,841 (0,734 - 0,947) *	0,627 (0,497 - 0,756)
96 h	0,734 (0,569 - 0,899) *	0,819 (0,661 - 0,977) *	0,739 (0,597 - 0,881) *

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.).

\*\*\* $p < 0.05$ .

AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; S - serumski; U - urinarni; NGAL - Neutrophile Gelatinase-Associated Lipocalin; KIM-1 - Kidney Injury Molecule-1.



**Tabela 16. Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja kao dijagnostički biomarkeri sepse kada su iz analize izuzeti septični bolesnici sa S-AOB.**

AUC-ROC (95% C.I.)			
	S-NGAL	U-NGAL	U-KIM-1
Kontrolna grupa neoperisanih vs. oboleli od sepse bez S-AOB			
0 h	0,716 (0,538 - 0,894) *	0,729 (0,582 - 0,875) *	0,530 (0,376 - 0,683)
24 h	0,636 (0,430 - 0,843)	0,862 (0,744 - 0,980) *	0,645 (0,492 - 0,798)
48 h	0,691 (0,440 - 0,942)	0,696 (0,486 - 0,906)	0,586 (0,424 - 0,747)
72 h	0,703 (0,420 - 0,985)	0,767 (0,605 - 0,929) *	0,532 (0,382 - 0,681)
96 h	0,665 (0,388 - 0,942)	0,720 (0,549 - 0,981)	0,659 (0,365 - 0,953)
Kontrolna grupa operisanih vs. oboleli od sepse bez S-AOB			
0 h	0,622 (0,437 - 0,806)	0,612 (0,420 - 0,805)	0,741 (0,609 - 0,874) *
24 h	0,587 (0,378 - 0,797)	0,795 (0,610 - 0,979) *	0,511 (0,340 - 0,683)
48 h	0,572 (0,323 - 0,821)	0,611 (0,353 - 0,870)	0,550 (0,385 - 0,715)
72 h	0,611 (0,316 - 0,907)	0,613 (0,349 - 0,877)	0,620 (0,431 - 0,810)
96 h	0,521 (0,227 - 0,815)	0,600 (0,330 - 0,870)	0,511 (0,183 - 0,919)

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.).

“\*“ p < 0.05.

AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; S - serumski; U - urinarni; NGAL - Neutrophile Gelatinase-Associated Lipocalin; KIM-1 - Kidney Injury Molecule-1; S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi.

TIMP-1 i MMP-9/TIMP-1 odnos su, za razliku od MMP-9 i MMP-9:TIMP-1 kompleksa, bili odlični dijagnostički biomarkeri sepse u populaciji hirurških bolesnika ukoliko se ne uzima u obzir da li su septični bolesnici imali S-AOB. MMP-9 kao i MMP-9/TIMP-1 odnos su mogli da diskriminišu bolesnike iz kontrolnih grupa operisanih i neoperisanih (Tabela 17). Odlične performanse TIMP-1 kao dijagnostičkog biomarkera sepse se zadržavaju čak iako se iz populacije septičnih bolesnika eliminišu oni koji su imali S-AOB, dok su performanse MMP-9/TIMP-1 odnosa značajno slabije. Iznenadjuće, MMP-9 i MMP-9:TIMP-1 kompleks su imali nešto bolju sposobnost da diskriminišu septične bolesnike bez S-AOB od bolesnika kontrolnih grupa (Tabela 18).

**Tabela 17. Novi biomarkeri inflamacije kao dijagnostički biomarkeri sepse.**

AUC-ROC (95% C.I.)				
	MMP-9	TIMP-1	MMP-9:TIMP-1 kompleks	MMP-9/TIMP-1 odnos
<b>Kontrolna grupa neoperisanih vs. kontrolna grupa operisanih</b>				
0 h	0,798 (0,702 - 0,895)*	0,584 (0,465 - 0,704)	0,606 (0,492 - 0,721)	0,761 (0,664 - 0,858) *
<b>Kontrolna grupa neoperisanih vs. oboleli od sepse</b>				
0 h	0,675 (0,561 - 0,789)*	0,940 (0,889 - 0,991) *	0,588 (0,463 - 0,714)	0,924 (0,873 - 0,975) *
24 h	0,640 (0,511 - 0,769)*	0,972 (0,941 - 1,004) *	0,546 (0,403 - 0,689)	0,929 (0,878 - 0,980) *
48 h	0,593 (0,450 - 0,736)	0,929 (0,862 - 0,997) *	0,601 (0,448 - 0,753)	0,914 (0,853 - 0,975) *
72 h	0,591 (0,417 - 0,765)	0,951 (0,892 - 1,006) *	0,612 (0,434 - 0,789)	0,901 (0,821 - 0,980) *
96 h	0,646 (0,457 - 0,826)	0,925 (0,825 - 1,026) *	0,606 (0,399 - 0,814)	0,911 (0,825 - 0,997) *
<b>Kontrolna grupa operisanih vs. oboleli od sepse</b>				
0 h	0,541 (0,418 - 0,664)	0,854 (0,778 - 0,930) *	0,545 (0,418 - 0,672)	0,788 (0,697-0,879) *
24 h	0,513 (0,372 - 0,653)	0,870 (0,797 - 0,943) *	0,502 (0,361 - 0,643)	0,753 (0,650 - 0,855) *
48 h	0,570 (0,415 - 0,724)	0,820 (0,728 - 0,913) *	0,539 (0,388 - 0,691)	0,718 (0,605 - 0,832) *
72 h	0,523 (0,342 - 0,703)	0,857 (0,768 - 0,913) *	0,571 (0,393 - 0,749)	0,724 (0,593 - 0,854) *
96 h	0,514 (0,307 - 0,721)	0,845 (0,738 - 0,952) *	0,564 (0,351 - 0,778)	0,750 (0,612 - 0,888) *

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.). “\*\*\*”  $p < 0.05$ . AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; MMP-9 - Matriks metaloproteinaza-9; TIMP-1 - Tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1.

**Tabela 18. Novi biomarkeri inflamacije kao dijagnostički biomarkeri sepse kada su iz analize izuzeti septični bolesnici sa S-AOB**

	AUC-ROC (95% C.I.)			
	MMP-9	TIMP-1	MMP-9:TIMP-1 kompleks	MMP-9/TIMP-1 odnos
<b>Kontrolna grupa neoperisanih vs. oboleli od sepse bez S-AOB</b>				
0 h	0,526 (0,352 - 0,771)	0,853 (0,723 - 0,983) *	0,722 (0,524 - 0,921)*	0,859 (0,755 - 0,962) *
24 h	0,551 (0,331 - 0,771)	0,984 (0,958 - 1,011) *	0,670 (0,448 - 0,892)	0,921 (0, 852 - 0,999)*
48 h	0,540 (0,299 - 0,780)	0,935 (0,851 - 1,019) *	0,777 (0,545 - 1,009)*	0,894 (0,809 - 0,978) *
72 h	0,688 (0,334 - 1,043)	0,000 (1,000 - 1,000) *	0,717 (0,411 - 1,023)	0,891 (0,798 - 0,984) *
96 h	0,743 (0,464 - 1,022)	0,775 (0,512 - 1,039) *	0,822 (0,527 - 1,118)*	0,764 (0,569 - 0,960) *
<b>Kontrolna grupa operisanih vs. oboleli od sepse bez S-AOB</b>				
0 h	0,585 (0,374 - 0,796)	0,756 (0,616 - 0,896) *	0,679 (0,475 - 0,884)*	0,622 (0,643 - 0,782)
24 h	0,680 (0,426 - 0,934)	0,852 (0,755 - 0,949) *	0,579 (0,352 - 0,803)	0,691 (0,442 - 0,840)
48 h	0,729 (0,474 - 0,985)*	0,801 (0,673 - 0,929) *	0,693 (0,443 - 0,943)	0,611 (0,430 - 0,792)
72 h	0,722 (0,401 - 1,044)	0,920 (0,846 - 0,994) *	0,649 (0,339 - 0,959)	0,628 (0,413 - 0,844)
96 h	0,847 (0,573 - 1,121)*	0,719 (0,590 - 0,948) *	0,788 (0,499 - 1,077)*	0,569 (0,380 - 0,759)

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.). “\*” p < 0.05. AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; MMP-9 - Matriks metaloproteinaza-9; TIMP-1 - Tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1; S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi.

Iz tabele 19 se može videti da PON-1 odlično a TAS, TOS i OSI dobro diskriminišu septične bolesnike od kontrolne grupe neoperisanih. Ukoliko se septični bolesnici uporede sa kontrolnom grupom operisanih, TAS prestaje da bude dobar dijagnostički biomarker sepse. Međutim, situacija se značajno menja kada se testira sposobnost biomarkera oksidativnog stresa da diskriminišu septične bolesnike bez S-AOB od bolesnika kontrolnih grupa. Kao što možemo videti u tabeli 20, jedino je PON-1 dobar dijagnostički biomarker sepse. Svi ispitivani biomarkeri oksidativnog stresa osim TAS su mogli da diskriminišu bolesnike kontrolne grupe operisanih i neoperisanih.

**Tabela 19. Novi biomarkeri oksidativnog stresa kao dijagnostički biomarkeri sepse.**

AUC-ROC (95% C.I.)					
	PON-1	TAS	TOS	OSI	PAB
<b>Kontrolna grupa neoperisanih vs. kontrolna grupa operisanih</b>					
0 h	0,650 (0,538 - 0,762) *	0,604 (0,486 - 0,722)	0,623 (0,505 - 0,742) *	0,620 (0,500 - 0,739) *	0,748 (0,649 - 0,846) *
<b>Kontrolna grupa neoperisanih vs. oboleli od sepse</b>					
0 h	0,902 (0,842 - 0,962) *	0,741 (0,636 - 0,845) *	0,853 (0,784 - 0,932) *	0,754 (0,655 - 0,854) *	0,543 (0,426 - 0,660)
24 h	0,911 (0,850 - 0,973) *	0,690 (0,570 - 0,811) *	0,845 (0,763 - 0,926) *	0,744 (0,631 - 0,856) *	0,552 (0,423 - 0,688)
48 h	0,902 (0,834 - 0,970) *	0,648 (0,510 - 0,786) *	0,851 (0,761 - 0,941) *	0,780 (0,662 - 0,898) *	0,556 (0,414 - 0,698)
72 h	0,910 (0,834 - 0,985) *	0,666 (0,517 - 0,816) *	0,819 (0,697 - 0,941) *	0,709 (0,554 - 0,864) *	0,580 (0,417 - 0,743)
96 h	0,944 (0,879 - 1,009) *	0,579 (0,395 - 0,763)	0,902 (0,804 - 1,001) *	0,853 (0,701 - 1,005) *	0,558 (0,353 - 0,762)
<b>Kontrolna grupa operisanih vs. oboleli od sepse</b>					
0 h	0,856 (0,780 - 0,931) *	0,649 (0,537 - 0,761) *	0,728 (0,628 - 0,829) *	0,623 (0,511 - 0,735) *	0,684 (0,579 - 0,789) *
24 h	0,875 (0,799 - 0,952) *	0,576 (0,452 - 0,700)	0,713 (0,607 - 0,818) *	0,622 (0,502 - 0,741) *	0,674 (0,563 - 0,786) *
48 h	0,867 (0,782 - 0,952) *	0,550 (0,414 - 0,687)	0,706 (0,592 - 0,821) *	0,657 (0,532 - 0,782) *	0,588 (0,572 - 0,803) *
72 h	0,883 (0,789 - 0,978) *	0,547 (0,399 - 0,696)	0,702 (0,574 - 0,831) *	0,601 (0,451 - 0,750)	0,640 (0,500 - 0,779)
96 h	0,821 (0,829 - 1,014) *	0,539 (0,361 - 0,716)	0,787 (0,659 - 0,915) *	0,722 (0,599 - 0,886) *	0,633 (0,467 - 0,800)

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.). \*\*\* $p < 0.05$ . AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; PON-1 - Paraoksonaza-1; TAS - Totalni antioksidativni status; TOS - Totalni antioksidativni status; OSI - Indeks oksidativnog stresa; PAB - Prooksidativni-antioksidativni balans.

**Tabela 20. Novi biomarkeri oksidativnog stresa kao dijagnostički biomarkeri sepse kada su iz analize izuzeti septični bolesnici sa S-AOB.**

	AUC-ROC (95% C.I.)				
	PON-1	TAS	TOS	OSI	PAB
<b>Kontrolna grupa neoperisanih vs. oboleli od sepse bez S-AOB</b>					
0 h	0,850 (0,751 - 0,949) *	0,791 (0,631 - 0,950) *	0,822 (0,712 - 0,932) *	0,639 (0,458 - 0,820)	0,633 (0,443 - 0,823)
24 h	0,862 (0,734 - 0,989) *	0,680(0,455 - 0,908)	0,687 (0,500 - 0,873) *	0,531 (0,294 - 0,769)	0,508 (0,281 - 0,735)
48 h	0,862 (0,712 - 1,012) *	0,581 (0,271 - 0,890)	0,664 (0,444 - 0,884)	0,511 (0,243 - 0,779)	0,582 (0,352 - 0,812)
72 h	0,896 (0,742 - 1,050) *	0,800 (0,647 - 0,953) *	0,604 (0,311 - 0,989)	0,778 (0,599 - 0,957) *	0,552 (0,182 - 0,923)
96 h	0,935 (0,844 - 1,026) *	0,663 (0,274 - 1,052)	0,750 (0,496 - 1,004)	0,622 (0,234 - 1,010)	0,585 (0,165 - 1,004)
<b>Kontrolna grupa operisanih vs. oboleli od sepse bez S-AOB</b>					
0 h	0,756 (0,611 - 0,901) *	0,709 (0,542 - 0,875) *	0,642 (0,490 - 0,793)	0,511 (0,346 - 0,676)	0,776 (0,624 - 0,929) *
24 h	0,810 (0,640 - 0,981) *	0,587 (0,369 - 0,805)	0,580 (0,386 - 0,775)	0,514 (0,306 - 0,721)	0,706 (0,543 - 0,870) *
48 h	0,839 (0,653 - 1,026) *	0,531 (0,242 - 0,820)	0,515 (0,304 - 0,727)	0,587 (0,359 - 0,815)	0,672 (0,493 - 0,852)
72 h	0,864 (0,640 - 1,088) *	0,652 (0,443 - 0,861)	0,628(0,391 - 0,864)	0,774 (0,650 - 0,898) *	0,631 (0,302 - 0,960)
96 h	0,899 (0,742 - 1,056) *	0,663 (0,272 - 1,052)	0,590(0,367 - 0,814)	0,511(0,210 - 0,812)	0,534 (0,194 - 0,877)

Podaci su predstavljani kao AUC-ROC (95% C.I.). \*\*\*\* p < 0.05. AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; PON-1 - Paraoksonaza-1; TAS - Totalni antioksidativni status; TOS - Totalni antioksidativni status; OSI - Indeks oksidativnog stresa; PAB - Prooksidativni-antioksidativni balans; S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi.

## 4.5 Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kao dijagnostički biomarkeri S-AOB

U tabeli 21 su prikazane performanse novih biomarkera bubrežnog oštećenja kao dijagnostičkih biomarkera S-AOB kod septičnih bolesnika podvrgnutih velikoj abdominalnoj hirurškoj intervenciji. Očekivano, sva tri ispitivana biomarkera su se, pojedinačno i u kombinaciji, pokazala kao dobri dijagnostički biomarkeri S-AOB. Takođe, dijagnostička vrednost ispitivanih biomarkera bubrežnog oštećenja je bila veća ukoliko je kao zavisna varijabla korišćena dijagnoza S-AOB postavljena u toku celog boravka u JIL u odnosu na dijagnozu postavljenu pri prijemu u JIL.

**Tabela 21. Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja kao dijagnostički biomarkeri S-AOB kod obolelih od sepse.**

AUC-ROC (95% C.I.)			
Dijagnoza S-AOB:	Pri prijemu u JIL	Tokom celog boravka u JIL	
Vrednosti:	Pri prijemu (0 h)	Pri prijemu (0 h)	Srednja vrednost (0 - 96 h)
S-NGAL	0,728 (0,585 - 0,870) *	0,721 (0,569 - 0,837) *	0,724 (0,569 - 0,879) *
U-NGAL	0,609 (0,433 - 0,785)	0,688 (0,505 - 0,872) *	0,645 (0,464 - 0,826) *
U-KIM-1	0,750 (0,613 - 0,887) *	0,788 (0,649 - 0,926) *	0,713 (0,558 - 0,867) *
S-NGAL + U-NGAL + U-KIM-1	0,814 (0,686 - 0,943) *	0,824 (0,687 - 0,960) *	0,740 (0,592 - 0,889) *

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.).

\*\*\* $p < 0.05$ .

AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi; S - serumski; U - urinarni; NGAL - Neutrophile Gelatinase-Associated Lipocalin; KIM-1 - Kidney Injury Molecule-1.



Kao što se iz tabele 22 može videti, TIMP-1 i MMP-9/TIMP-1 odnos su bili dobri dijagnostički biomarkeri S-AOB. Suprotno, MMP-9 kao ni MMP-9:TIMP-1 kompleks nisu mogli da diskriminišu septične bolesnike sa i bez S-AOB. Samo je istovremena upotreba MMP-9:TIMP-1 kompleksa i MMP-9/TIMP-1 odnosa omogućavala da se postavi dijagnoza S-AOB pri prijemu u JIL.

**Tabela 22. Novi biomarkeri inflamacije kao dijagnostički biomarkeri S-AOB kod obolelih od sepse.**

AUC-ROC (95% C.I.)			
Dijagnoza S-AOB:	Pri prijemu u JIL	Tokom celog boravka u JIL	
Vrednosti:	Pri prijemu (0 h)	Pri prijemu (0 h)	Srednja vrednost (0 - 96 h)
MMP-9	0,569 (0,398 - 0,740)	0,641 (0,478 - 0,811)	0,642 (0,474 - 0,810)
TIMP-1	0,651 (0,497 - 0,804)	0,703 (0,547 - 0,858) *	0,688 (0,522 - 0,854) *
MMP-9:TIMP-1 kompleks	0,537 (0,375 - 0,699)	0,669 (0,467 - 0,790)	0,655 (0,502 - 0,808)
MMP-9/TIMP-1 odnos	0,641 (0,473 - 0,808)	0,740 (0,580 - 0,901) *	0,691 (0,532 - 0,850) *
MMP-9:TIMP-1 kompleks + MMP-9/TIMP-1 odnos	0,677 (0,520 - 0,834) *	0,770 (0,620 - 0,916) *	0,714 (0,558 - 0,870) *

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.).

\*\*\* $p < 0.05$ .

AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi; MMP-9 - Matriks metaloproteinaza-9; TIMP-1 - Tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1.

Novi biomarkeri oksidativnog stresa, osim TAS, su se pokazali kao marginalno dobri diskriminatori između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB. Očekivano, kombinacija PON-1, OSI i PAB je bila značajno bolji dijagnostički biomarker S-AOB (Tabela 23).

**Tabela 23. Novi biomarkeri oksidativnog stresa kao dijagnostički biomarkeri S-AOB kod obolelih od sepse.**

Dijagnoza S-AOB:	AUC-ROC (95% C.I.)		
	Pri prijemu	Tokom celog boravka u JIN	
Vrednosti:	Pri prijemu (0 h)	Pri prijemu (0 h)	Srednja vrednost (0 - 96 h)
PON-1	0,504 (0,333 - 0,675)	0,669 (0,509 - 0,830) *	0,621 (0,458 - 0,785)
TAS	0,645 (0,486 - 0,804)	0,587 (0,412 - 0,762)	0,666 (0,495 - 0,837)
TOS	0,573 (0,409 - 0,738)	0,670 (0,507 - 0,832) *	0,732 (0,564 - 0,901) *
OSI	0,619 (0,459 - 0,779)	0,682 (0,520 - 0,844) *	0,720 (0,547 - 0,893) *
PAB	0,664 (0,507 - 0,821) *	0,690 (0,515 - 0,866) *	0,680 (0,514 - 0,846) *
PON-1 + OSI + PAB	0,603 (0,433 - 0,774)	0,729 (0,562 - 0,895) *	0,786 (0,652 - 0,920) *

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.).

\*\*\* $p < 0.05$ .

AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi; PON-1 - Paraoksonaza-1; TAS - Totalni antioksidativni status; TOS - Totalni antioksidativni status; OSI - Indeks oksidativnog stresa; PAB - Prooksidativni-antioksidativni balans.

## 4.6 Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kao prediktori nastanka S-AOB

Pri prijemu u JIL dijagnoza AOB je postavljena kod 32 (60,4%) septična bolesnika da bi se do kraja lečenja u JIL od preostalih 21 septičnih bolesnika bez S-AOB kod još petoro (9,4%) razvilo S-AOB.

Kao što se može videti iz tabele 24, ni jedan od ispitivanih novih biomarkera bubrežnog oštećenja nije bio statistički značajan nezavistan prediktor nastanka S-AOB kod obolelih od sepse. Međutim, vrednosti urinarnog NGAL ali ne i serumskog NGAL i urinarnog KIM-1 su mogle da predvide nastanak S-AOB kod svih bolesnika uključenih u studiju. Očekivano, kombinacije biomarkera su bile odlični prediktori nastanka S-AOB, daleko bolji od pojedinačnih biomarkera.

**Tabela 24. Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja kao prediktori nastanka S-AOB.**

	AUC-ROC (95% C.I.)	
	Samo oboleli od sepse (N = 21)	Oboleli od sepse + obe kontrolne grupe (N = 121)
S-NGAL	0,573 (0,176 - 0,970)	0,567 (0,179 - 0,955)
U-NGAL	0,768 (0,553 - 0,982)	0,956 (0,910 - 1,003) *
U-KIM-1	0,775 (0,564 - 0,986)	0,574 (0,369 - 0,779)
S-NGAL + U-NGAL + U- KIM-1	0,821 (0,622 - 1,021) *	0,970 (0,937 - 1,003) *

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.).

\*\*\* $p < 0.05$ .

AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi; S - serumski; U - urinarni; NGAL - Neutrophile Gelatinase-Associated Lipocalin; KIM-1 - Kidney Injury Molecule-1.

MMP-9:TIMP-1 kompleks je među ispitivanim novim biomarkerima inflamacije jedini statistički nezavistan prediktor nastanka S-AOB kod obolelih od sepse. Šta više, prediktivna vrednost MMP-9:TIMP-1 kompleksa je bila veća i od prediktivne vrednosti kombinacije svih ispitivanih novih biomarkera inflamacije. S druge strane, u populaciji svih bolesnika koji su obuhvaćeni ovom studijom, TIMP-1 je daleko najbolji prediktor nastanka S-AOB. U ovoj zbirnoj populaciji bolesnika jedino MMP-9 i dalje nije dobar nezavistan prediktor nastanka S-AOB (Tabela 25).

**Tabela 25. Novi biomarkeri inflamacije kao prediktori nastanka S-AOB.**

	AUC-ROC (95% C.I.)	
	Samo oboleli od sepse (N = 21)	Oboleli od sepse + obe kontrolne grupe (N = 121)
MMP-9	0,707 (0,388 - 1,025)	0,734 (0,405 - 1,063)
TIMP-1	0,720 (0,484 - 0,956)	0,927 (0,868 - 0,985) *
MMP-9:TIMP-1 kompleks	0,813 (0,587 - 1,040) *	0,769 (0,457 - 1,080) *
MMP-9/TIMP-1 odnos	0,773 (0,529 - 1,018)	0,895 (0,752 - 1,039) *
MMP-9:TIMP-1 kompleks + MMP-9/TIMP-1 odnos	0,800 (0,535 - 1,065) *	0,892 (0,727 - 1,057) *

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.).

“\*” p < 0.05.

AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi; MMP-9 - Matriks metaloproteinaza-9; TIMP-1 - Tkiivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1.

Kao što se iz tabele 26 može videti, PON-1 je jedini ispitivani biomarker oksidativnog stresa koji je statistički značajan nezavistan prediktor nastanka S-AOB kod septičnih bolesnika podvrgnutih velikoj abdominalnoj hiruškoj intervenciji. Međutim, ukoliko posmatramo zajedno obolele od sepse i ispitanike kontrolnih grupa, svi ispitivani biomarkeri osim PAB su bili dobri ili odlični prediktori nastanka S-AOB (Tabela 24).

**Tabela 26. Novi biomarkeri oksidativnog stresa kao prediktori nastanka S-AOB.**

	AUC-ROC (95% C.I.)	
	Samo oboleli od sepse (N = 21)	Oboleli od sepse + obe kontrolne grupe (N = 121)
PON-1	0,963 (0,879 - 1,046) *	0,994 (0,982 - 1,007) *
TAS	0,613 (0,324 - 0,902)	0,768 (0,503 - 1,033) *
TOS	0,793 (0,579 - 1,007)	0,881 (0,751 - 1,011) *
OSI	0,729 (0,494 - 0,963)	0,777 (0,626 - 0,928) *
PAB	0,693 (0,464 - 0,923)	0,545 (0,379 - 0,711)
PON-1 + OSI + PAB	0,954 (0,856 - 1,052) *	0,994 (0,982 - 1,007) *

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.).

\*\*\* $p < 0.05$ .

AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; S-AOB - Akutno oštećenje bubrega u sepsi; PON-1 - Paraoksonaza-1; TAS - Totalni antioksidativni status; TOS - Totalni antioksidativni status; OSI - Indeks oksidativnog stresa; PAB - Prooksidativni-antioksidativni balans.

## **4.7 Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kao prognostički biomarkeri sepse**

### **4.7.1 Predikcija primene tehnika zamene bubrežne funkcije, mehaničke ventilacije i vazopresora i/ili inotropa**

Od 53 bolesnika sa sepsom, kod 7 (13,2%) je primenjena TZBF, kod 41 (77,4%) mehanička ventilacija dok su vazopresori i/ili inotropi korišćeni kod 23 (43,4%) obolelih od sepse.

Kao što se može videti iz tabele 27, serumski NGAL za razliku od ostalih ispitivanih biomarkera bubrežnog oštećenja je bio nezavistan prediktor primene TZBF. Istovremena primena sva tri ispitivana biomarkera bubrežnog oštećenja je mogla da predvidi primenu TZBF. KIM-1 je bio nezavistan prediktor primene mehaničke ventilacije urinarni NGAL prediktor upotrebe vazopresora i/ili inotropa kod obolelih od sepse. Sasvim očekivano, kombinacije biomarkera su bile značajno bolji prediktori primene TZBF, mehaničke ventilacije i vazopresora i/ili inotropa od pojedinačnih biomarkera.

**Tabela 27. Novi biomarkeri bubrežnog oštećenja kao prediktori primene tehnika zamena bubrežne funkcije, mehaničke ventilacije i vazopresora/inotropia kod obolelih od sepse.**

	AUC-ROC (95% C.I.)		
	TZBF	Mehanička ventilacija	Vazopresori/inotropi
S-NGAL	0,762 (0,608 - 0,917) *	0,501 (0,325 - 0,677)	0,660 (0,502 - 0,818)
U-NGAL	0,687 (0,494 - 0,881)	0,590 (0,371 - 0,810)	0,806 (0,669 - 0,944) *
U-KIM-1	0,604 (0,320 - 0,887)	0,699 (0,529 - 0,868) *	0,608 (0,450 - 0,766)
S-NGAL + U-NGAL + U-KIM-1	0,884 (0,785 - 0,987) *	0,743 (0,572 - 0,914) *	0,832 (0,688 - 0,958) *

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.).

“\*“ p < 0.05.

AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; TZBF - Tehnike zamene bubrežne funkcije; S - serumski; U - urinarni; NGAL - Neutrophile Gelatinase-Associated Lipocalin; KIM-1 - Kidney Injury Molecule-1.

Ni jedan od ispitivanih novih biomarkera inflamacije nije bio nezavistan prediktor primene TZBF kod obolelih od sepse. Međutim, njihova istovremena primena je mogla da predvidi korišćenje i TZBF ali i mehaničke ventilacije i vazopresora i/ili inotropa. MMP-9:TIMP-1 kompleks je bio statistički značajan nezavistan prediktor primene mehaničke ventilacije i vazopresora i/ili inotropa kod septičnih bolesnika podvrgnutih velikoj abdominalnoj hiruškoj intervenciji (Tabela 28).

**Tabela 28. Novi biomarkeri inflamacije kao prediktori primene tehnika zamene bubrežne funkcije, mehaničke ventilacije i vazopresora/inotropa kod obolelih od sepse.**

	AUC-ROC (95% C.I.)		
	TZBF	Mehanička ventilacija	Vazopresori/inotropi
MMP-9	0,523 (0,324 - 0,722)	0,657 (0,500 - 0,815)	0,615 (0,453 - 0,777)
TIMP-1	0,566 (0,329 - 0,803)	0,589 (0,384 - 0,793)	0,650 (0,492 - 0,808)
MMP-9:TIMP-1 kompleks	0,646 (0,380 - 0,913)	0,797 (0,665 - 0,930) *	0,682 (0,527 - 0,836) *
MMP-9/TIMP-1 odnos	0,600 (0,429 - 0,771)	0,555 (0,350 - 0,760)	0,692 (0,543 - 0,841) *
MMP-9:TIMP-1 kompleks + MMP-9/TIMP-1 odnos	0,713 (0,530 - 0,929) *	0,797 (0,663 - 0,931) *	0,706 (0,555 - 0,857) *

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.).

“\*“ p < 0,05.

AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; TZBF - Tehnike zamene bubrežne funkcije; MMP-9 - Matriks metaloproteinaza-9; TIMP-1 - Tktivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1.



Kao što se može videti iz tabele 29, ispitivani biomarkeri oksidativnog stresa nisu bili dobri nezavisni prediktori primene TZBF i vazopresora i/ili inotropa. Istovremena primena PON-1, OSI i PAB je mogla da predvidi primenu TZBF i mehaničke ventilacije.

**Tabela 29. Novi biomarkeri oksidativnog stresa kao prediktori primena tehnika zamena bubrežne funkcije, mehaničke ventilacije i vazopresora/inotropa kod obolelih od sepse.**

	AUC-ROC (95% C.I.)		
	TZBF	Mehanička ventilacija	Vazopresori/inotropi
PON-1	0,663 (0,440 - 0,886)	0,613 (0,403 - 0,822)	0,621 (0,460 - 0,782)
TAS	0,545 (0,356 - 0,733)	0,710 (0,532 - 0,888) *	0,515 (0,352 - 0,677)
TOS	0,661 (0,490 - 0,833)	0,530 (0,328 - 0,732)	0,591 (0,429 - 0,753)
OSI	0,646 (0,575 - 0,835)	0,586 (0,328 - 0,844)	0,572 (0,409 - 0,736)
PAB	0,543 (0,320 - 0,767)	0,581 (0,337 - 0,826)	0,618 (0,460 - 0,775)
PON-1 + OSI + PAB	0,743 (0,570 - 0,916) *	0,768 (0,516 - 1,019) *	0,658 (0,501 - 0,816)

Podaci su predstavljeni kao AUC-ROC (95% C.I.).

“\*“ p < 0.05.

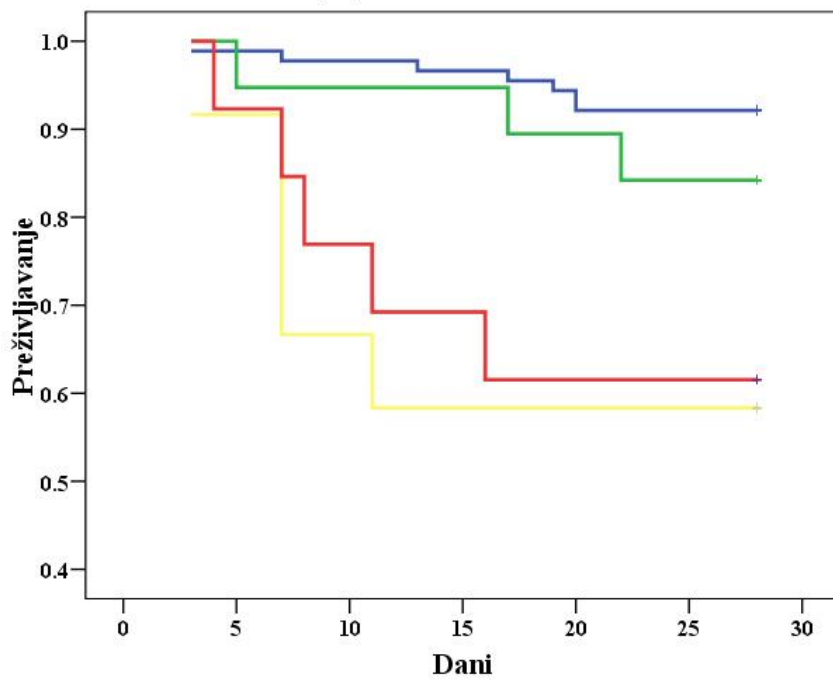
AUC-ROC - Area Under Receiver Operating Characteristic curve; TZBF - Tehnike zamene bubrežne funkcije; PON-1 - Paraoksonaza-1; TAS - Totalni antioksidativni status; TOS - Totalni antioksidativni status; OSI - Indeks oksidativnog stresa; PAB - Prooksidativni-antioksidativni balans.

#### **4.7.2 Predikcija preživljavanja sepsa**

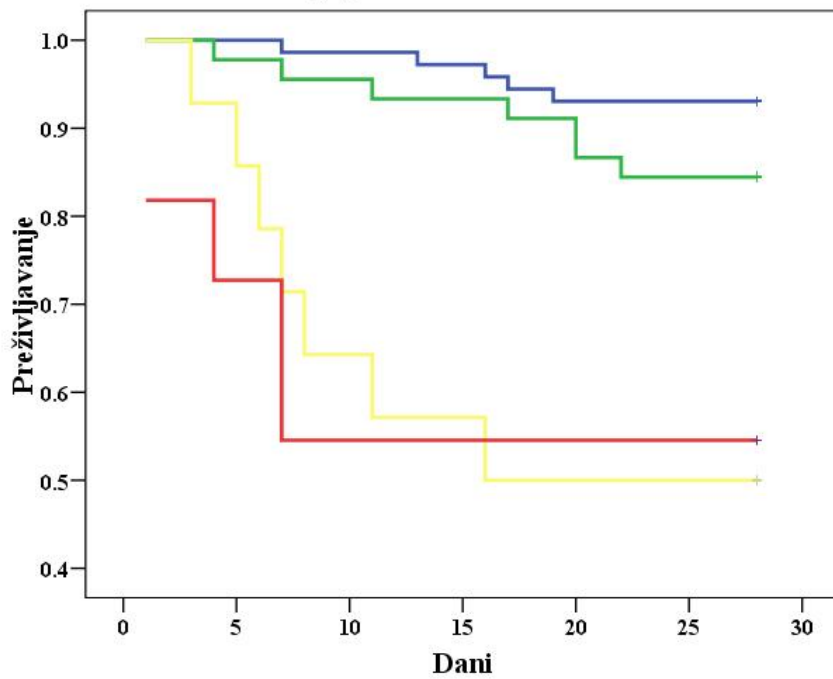
U našoj studiji, preživljavanje bolesnika je posmatrano u periodu od 28 dana. Sepsu je preživelo 25 obolelih od sepsa što znači da je ukupni mortalitet iznosio 52,8%.

Po Kaplan-Majerovoj analizi, više vrednosti serumskog i urinarnog NGAL kao i urinarnog KIM-1 su bile udružene sa kraćim dvadesetosmodnevnim preživljavanjem bolesnika (Grafikon 13).

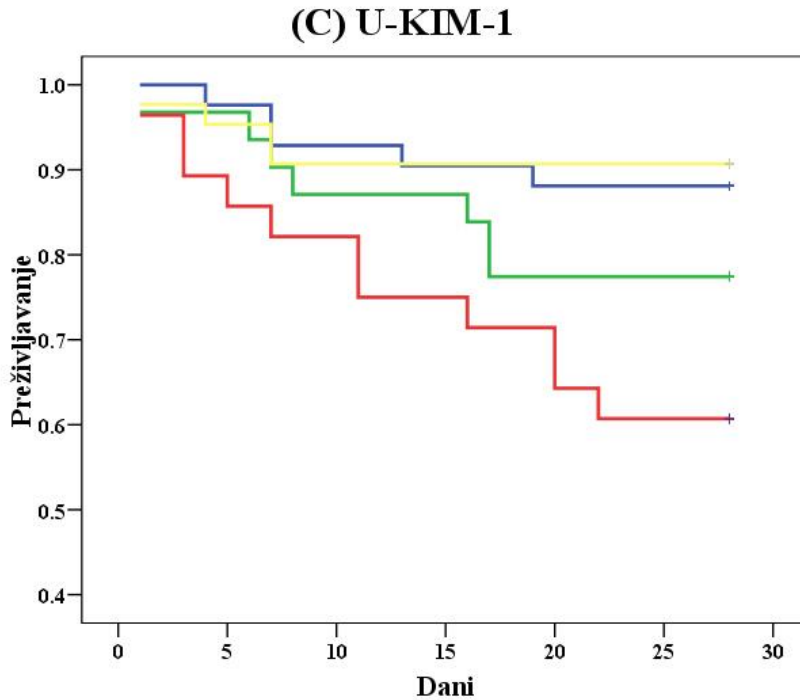
**(A) S-NGAL**



**(B) U-NGAL**



(Nastavak grafikona 13 se nalazi na sledećoj strani.)



**Grafikon 13. Preživljanje bolesnika stratifikovanih po kvartilima vrednosti biomarkera bubrežnog oštećenja tokom 28 dana.**

Grafikon prikazuje preživljanje bolesnika stratifikovanih po kvartilima vrednosti (A) S-NGAL, (B) U-NGAL i (C) U-KIM-1. Plava linija - prvi kvartil; zelena linija - drugi kvartil; žuta linija - treći kvartil; crvena linija - četvrti kvartil.

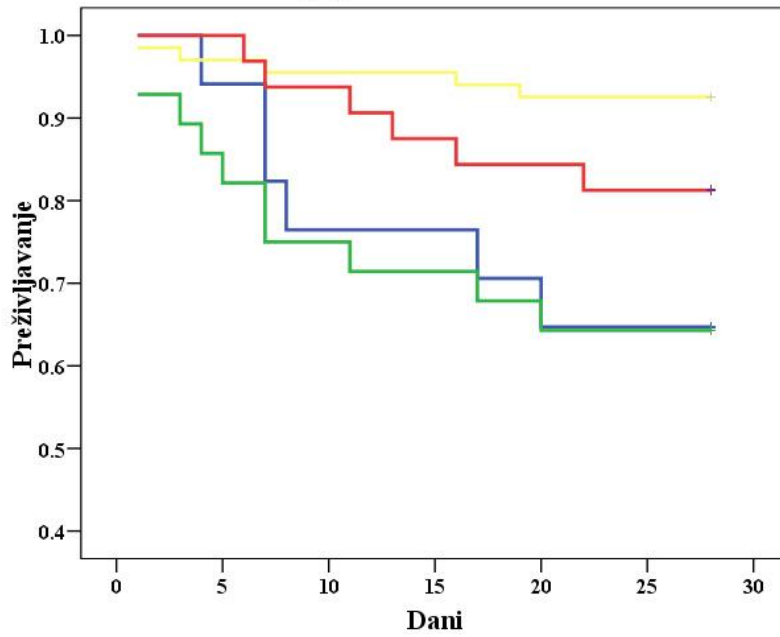
(A) Log Rank  $S_{\text{NGAL}} = 0,007$ ; (B) Log Rank  $U_{\text{NGAL}} < 0,001$ ; (C) Log Rank  $U_{\text{KIM-1}} < 0,001$ ;

Kaplan-Majer analiza preživljanja; Log Rank  $< 0,05$  se smatra statistički značajnim.

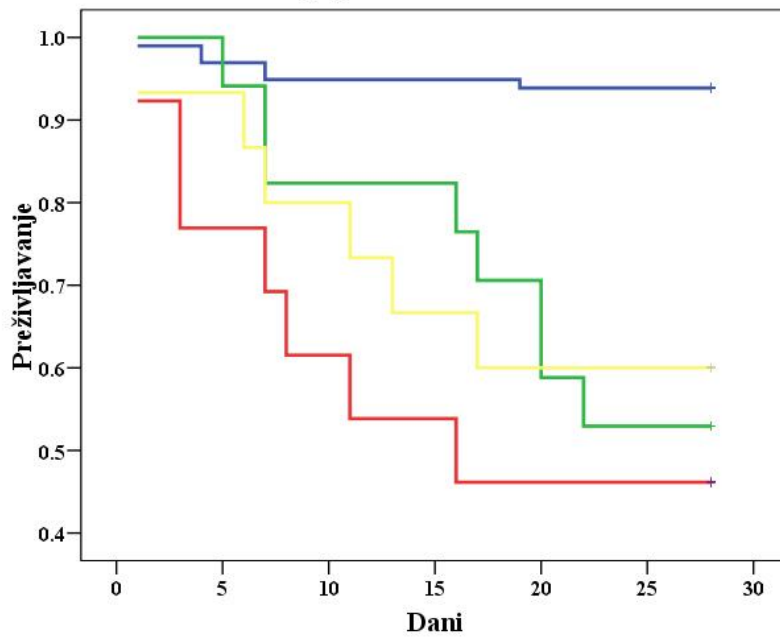
S - serumski; U - urinarni; NGAL - Neutrophile Gelatinase-Associated Lipocalin; KIM-1 - Kidney Injury Molecule-1.

Na grafikonu 14 se može videti da su niže vrednosti MMP-9 i MMP-9/TIMP-1 odnosa i, suprotno, više vrednosti TIMP-1 i MMP-9:TIMP-1 kompleksa povezane sa kraćim dvadesetosmodnevnim preživljavanjem.

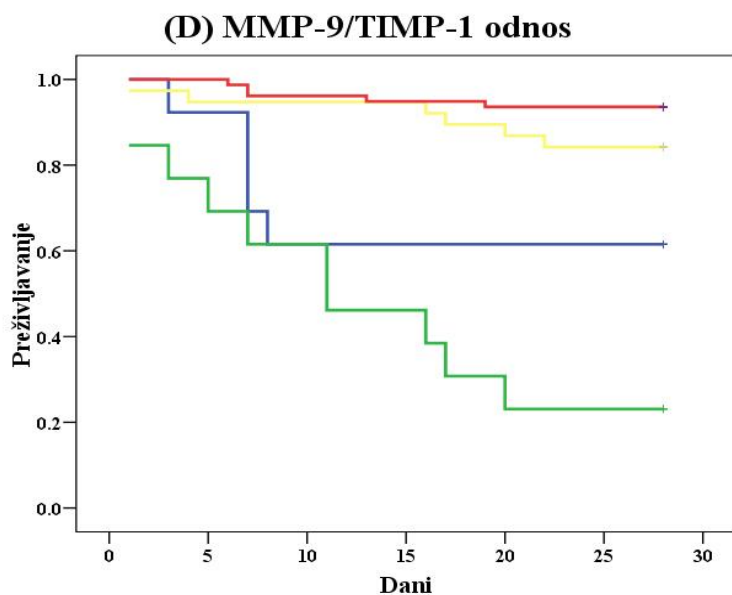
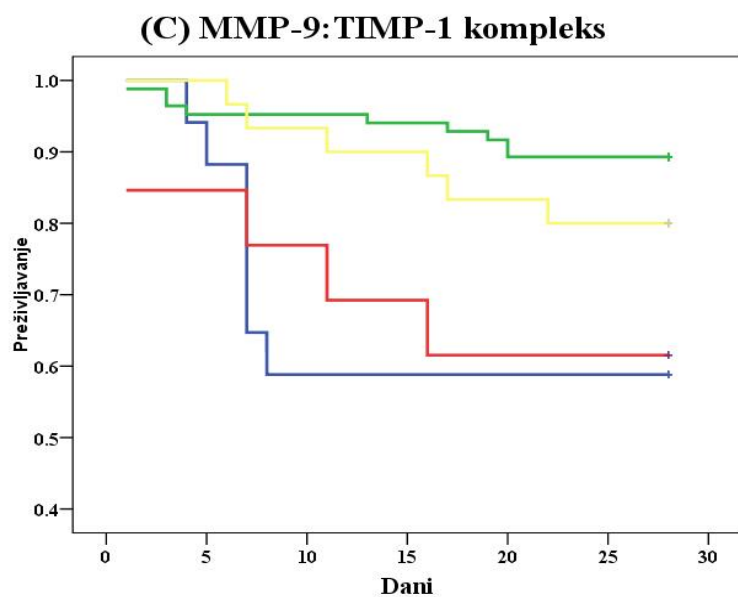
**(A) MMP-9**



**(B) TIMP-1**



(Nastavak grafikona 14 se nalazi na sledećoj strani.)



**Grafikon 14. Preživljanje bolesnika stratifikovanih po kvartilima vrednosti biomarkera inflamacije tokom 28 dana.**

Grafikon prikazuje preživljanje bolesnika stratifikovanih po kvartilima vrednosti (A) MMP-9, (B) TIMP-1, (C) MMP-9:TIMP-1 kompleks i (D) MMP-9/TIMP-1 odnos. Plava linija - prvi kvartil; zelena linija - drugi kvartil; žuta linija - treći kvartil; crvena linija - četvrti kvartil.

(A) Log Rank  $MMP-9 = 0,002$ ; (B) Log Rank  $TIMP-1 < 0,001$ ; (C) Log Rank  $MMP-9:TIMP-1 \text{ kompleks} = 0,002$ ; (D) Log Rank  $MMP-9/TIMP-1 \text{ odnos} < 0,001$ ;

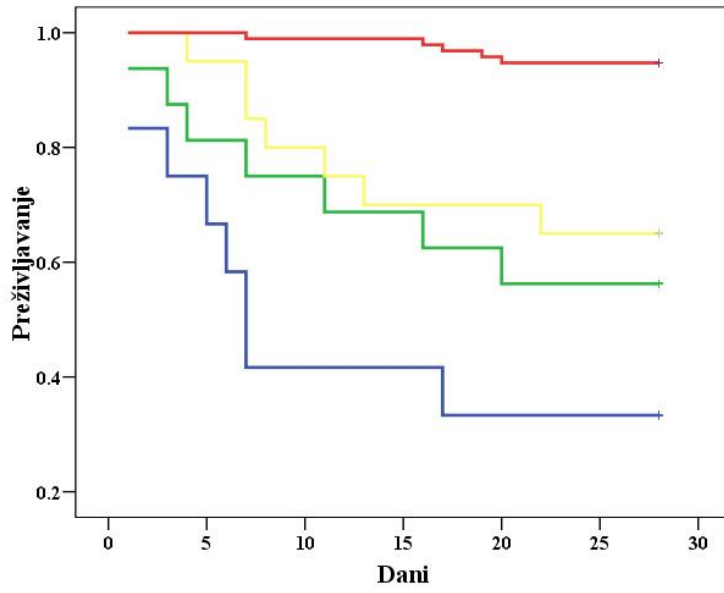
Kaplan-Majer analiza preživljanja; Log Rank  $< 0,05$  se smatra statistički značajnim.

MMP-9 - Matriks metaloproteinaza-9; TIMP-1 - Tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1.

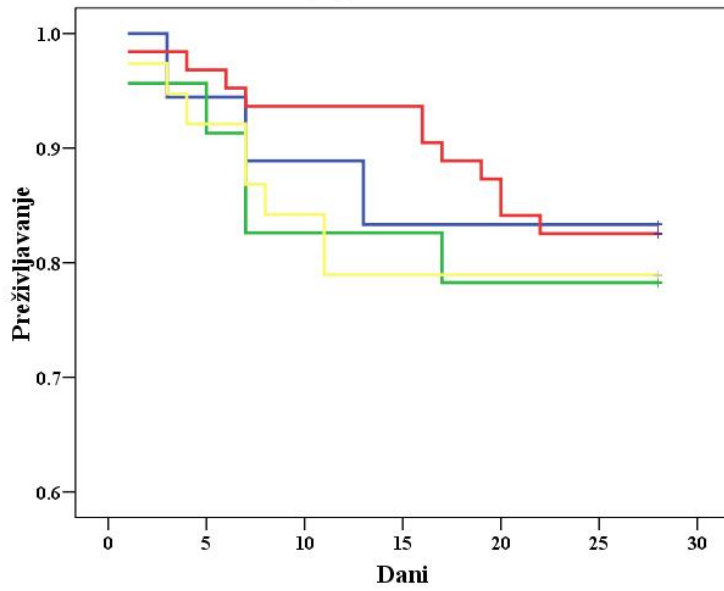
Kao što se može videti sa grafikona 15, niže vrednosti PON-1, TOS i OSI su bile udružene sa kraćim preživljavanjem bolesnika tokom 28 dana. Ostali biomarkeri oksidativnog stresa, TAS i PAB, nisu bili statistički značajni prediktori dvadesetosmodnevnog preživljavanja.



**(A) PON-1**

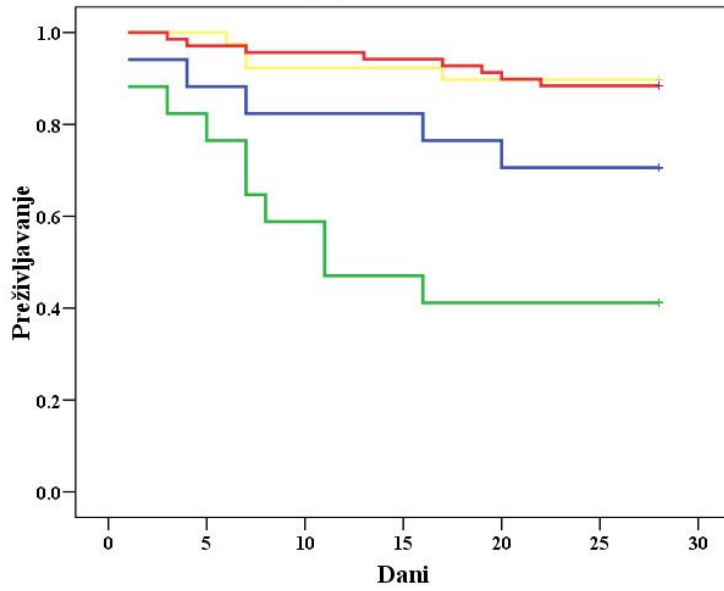


**(B) TAS**

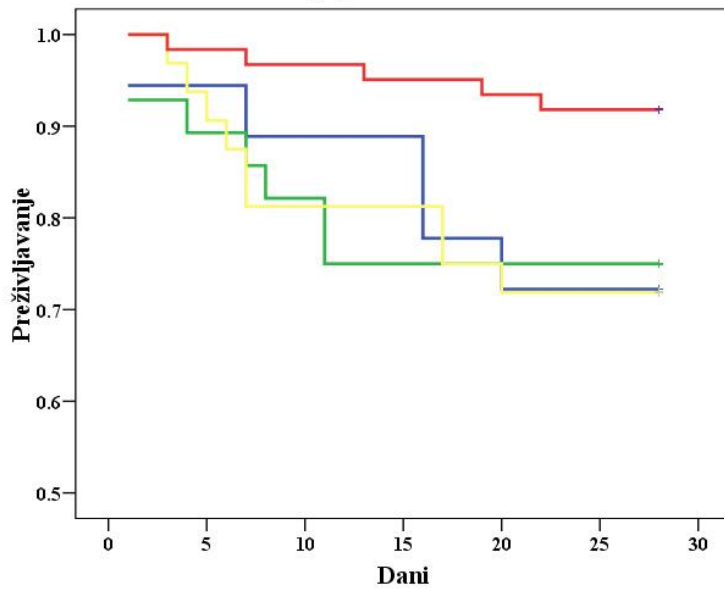


(Nastavak grafikona 15 se nalazi na sledećoj strani.)

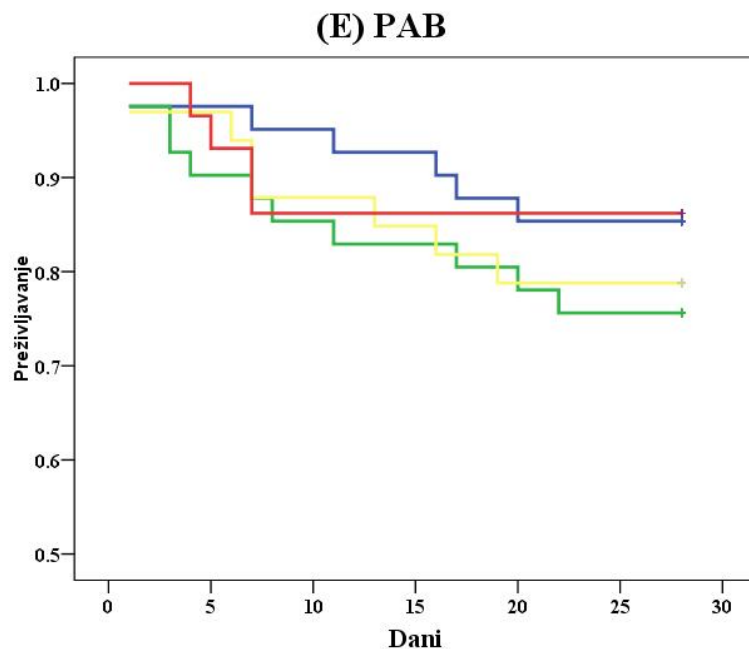
**(C) TOS**



**(D) OSI**



(Nastavak grafikona 15 se nalazi na sledećoj strani.)



**Grafikon 15. Preživljavanje bolesnika stratifikovanih po kvartilima vrednosti biomarkera oksidativnog stresa tokom 28 dana.**

Grafikon prikazuje preživljavanje bolesnika stratifikovanih po kvartilima vrednosti (A) PON-1, (B) TAS, (C) TOS, (D) OSI i (E) PAB. Plava linija - prvi kvartil; zelena linija - drugi kvartil; žuta linija - treći kvartil; crvena linija - četvrti kvartil.

(A) Log Rank  $_{PON-1} < 0,001$ ; (B) Log Rank  $_{TAS} = 0,918$ ; (C) Log Rank  $_{TOS} < 0,001$ ; (D) Log Rank  $_{OSI} = 0,045$ ; (E) Log Rank  $_{PAB} = 0,591$ ;

Kaplan-Majer analiza preživljavanja; Log Rank  $< 0,05$  se smatra statistički značajnim.

PON-1 - Paraoksonaza-1; TAS - Totalni antioksidativni status; TOS - Totalni antioksidativni status; OSI - Indeks oksidativnog stresa; PAB - Prooksidativni-antioksidativni balans.

## 5 DISKUSIJA

U našoj studiji oboleli od sepse su tokom celog opservacionog perioda imali više vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja u odnosu na bolesnike kontrolnih grupa (Grafikon 7). S obzirom da se AOB nije javilo ni kod jednog bolesnika iz kontrolnih grupa, moglo bi se zaključiti da je ova razlika uzrokovana postojanjem S-AOB samo u grupi obolelih od sepse (66). U prilog tome govori i korelacija ovih biomarkera sa vrednostima standardnih biomarkera bubrežne funkcije koja je prikazana u tabeli 12. Pored toga, vrednosti NGAL i KIM-1 kod septičnih bolesnika bez S-AOB se nisu značajno razlikovale od vrednosti u kontrolnoj grupi operisanih (Grafikon 9). S druge strane, vrednosti ovih novih biomarkera bubrežnog oštećenja su bile više kod operisanih nego kod neoperisanih kontrola iako se ni u jednoj od ovih grupa nije razvilo AOB. Objašnjenje se može naći u činjenici da sama inflamacija koja je uzrokovana hirurškom intervencijom, a ne isključivo AOB, dovodi do porasta vrednosti NGAL (60). U prilog tome govori statistički značajna korelacija između novih biomarkera bubrežnog oštećenja i biomarkera inflamacije prikazana u tabeli 13. Nije isključeno ni da hemodinamske promene koje se odvijaju u toku velikih abdominalnih hirurških intervencija kao i u ranom postoperativnom toku takođe mogu da dovedu do nastanka AOB koje se može detektovati samo novim biomarkerima bubrežnog oštećenja.

Oboleli od sepse su imali niže vrednosti MMP-9 u poređenju sa neoperisanim kontrolama pri prijemu u JIL i 24 sata kasnije ali slične vrednosti kao operisane kontrole (Grafikon 6A). Međutim, septični bolesnici bez S-AOB su imali više vrednosti MMP-9 u poređenju sa kontrolnom grupom operisanih (Grafikon 11A) a bolesnici kontrolne grupe operisanih su imali niže vrednosti MMP-9 od bolesnika kontrolne grupe neoperisanih (Tabela 6). Ovi rezultati ukazuju da su velike abdominalne hirurške intervencije značajno snizile vrednosti MMP-9 kao i da sepsa uzrokuje porast vrednosti MMP-9. Međutim, po publikovanoj literaturi, velike vaskularne (87), kardio i ortopedske hirurške intervencije (86) uzrokuju porast vrednosti MMP-9. Slične studije u velikoj abdominalnoj hirurgiji nisu

izvedene do danas. S druge strane, Belizon i sar. (122) su ukazali da brzo otpuštanje MMP-9 od strane mononukleara u ranom postoperativnom toku dovodi do inicijalnog porasta njegovih vrednosti u serumu praćenog padom. Životinjski modeli sepse jasno demonstriraju povišenu ekspresiju MMP-9 (95) dok se u kliničkim studijama mogu naći i više (88-90, 93) i niže (92) vrednosti MMP-9. Jazdan-Ašori i sar. (90), Vang i sar. (93) i Lauhio i sar. (88) su pronašli povišene vrednosti MMP-9 u sepsi ali samo pri prijemu u JIL ili hitnu službu. U stvari, Mul i sar. koji su prvi izveli serijska merenja MMP-9 u sepsi su takođe našli povišene vrednosti MMP-9 samo pri prijemu u JIL da bi iste vrlo brzo pale na vrednosti kao kod zdravih kontrola (89). Vrlo važna razlika između pomenutih studija i naše je što su u njima poređeni septični bolesnici sa zdravim osobama. S obzirom da su komorbiditeti česti u populaciji odraslih septičnih bolesnika, a sami uzrokuju porast MMP-9 (85) moguće je porast MMP-9 u sepsi bar delimično objasniti komorbiditetima. Uskladu sa tim, kao i rezultatima ovog istraživanja, skorašnja studija Martina i sar. (92), koja je poredila septične bolesnike sa drugim grupama kritično obolelih, je našla perzistentno niže vrednosti MMP-9 kod septičnih bolesnika. Dodatno, terapija tečnostima tokom velikih hirurških procedura može da snizi nivoe MMP-9 (123), a velike količine tečnosti se ordiniraju kako tokom inicijalnog lečenja sepse tako i tokom velikih abdominalnih hirurških procedura. Takođe, ELISA tehnika kojom se meri MMP-9 meri istovremeno i različite inaktivne forme MMP-9 (85), pa može dati lažno povišene vrednosti. Naši septični bolesnici su imali više vrednosti TIMP-1 a niže vrednosti MMP-9/TIMP-1 odnosa u poređenju sa obe kontrolne grupe tokom celog opservacionog perioda (Grafikon 6B i 6D) što je podržano rezultatima prethodnih istraživanja (88-91, 93). Vrednosti MMP-9:TIMP-1 kompleksa se nisu statistički značajno razlikovale između ove tri grupe bolesnika (Grafikon 6C) i do sada nisu ispitivane ni kod obolelih od sepse ni kod hirurških bolesnika. Naši rezultati ukazuju da je MMP-9/TIMP-1 odnos značajno niži kod obolelih od sepse nego u obe kontrolne grupe, kao i kod operisanih kontrola u poređenju sa neoperisanim kontrolama (Grafikon 6D). I u ranijim istraživanjima je nađeno da je MMP-9/TIMP-1 odnos snižen (89) i, posledično, TIMP-1/MMP-9 odnos povišen (91) kod obolelih od sepse. Vrednosti MMP-9/TIMP-1 odnosa se nisu značajno menjale tokom 96 sati u JIL što je podržano rezultatima studije Mul i sar. (89).

Snižene vrednosti PON-1 i TAS, biomarkera antioksidativne zaštite, kao i povišene vrednosti PAB ukazuju na stanje povišenog oksidativnog stresa kod obolelih od sepse u odnosu na kontrolne grupe (Grafikon 9). Imuni odgovor u sepsi povećava produkciju prooksidanata uz istovremeno smanjenje antioksidativne zaštite što dovodi do stanja povišenog oksidativnog stresa (124, 125). Iz tih razloga, a i zato što su u neonatalnoj sepsi nađene više vrednosti TAS, TOS i OSI (104), je bilo neočekivano što su vrednosti TOS i OSI bile niže kod obolelih od sepse u odnosu na obe kontrolne grupe, slično rezultatima naše ranije studije (103). Međutim, i drugi istraživači su objavili rezultate koji sugerišu da vrednosti TAS opadaju kod obolelih od sepse i da su, kao u našoj pethodnoj studiji, zavisne od vrednosti uree, bilirubina, uratne kiseline i proteina (126, 127). Kao i u ovim ranijim studijama, i u ovom istraživanju jenađena značajna korelacija između vrednosti TAS, TOS i OSI sa vrednostima uree, kreatinina i ukupnih proteina tj, antioksidanasa u krvi bolesnika. Ovu povezanost smo u prethodnoj studiji čak demonstrirali regresionom analizom (103). Ovakvi nalazi ukazuju da su vrednosti TAS, TOS i, posledično, OSI zavisni od opšteg stanja bolesnika koje je, između ostalog, definisano i bubrežnom i jetrinom funkcijom. Zato je očekivano što biomarkeri oksidativnog stresa koreliraju sa skorovima težine bolesti (127). Da sada nisu objavljene studije koje se bave serijskim merenjem PON-1 kod hirurških bolesnika sa sepsom. Smanjena aktivnost PON-1 je demonstrirana u velikom broju akutnih i hroničnih bolesti (107). Iz tih razloga je važno napomenuti da se u ovoj studiji po prvi put septični bolesnici porede sa bolesnicima kontrolnih grupa sa kojima su slični i po komorbiditetima i po tipu hirurške intervencije. Više studija (99, 104, 108, 109), uključujući i raniju našu (103), je pokazalo da je aktivnost PON-1 u sepsi smanjena ali su kohorte septičnih bolesnika bile vrlo heterogenog sastava i poređene su sa zdravim kontrolama. Uprkos tome, vrednosti PON-1 su niže u sepsi čak i kad se porede sa adekvatnim kontrolama što samo govori u prilog potencijalnom značaju ovog enzima u dijagnostici sepse. Vrednosti PON-1, TAS i PAB su se razlikovale i između kontrolnih grupa operisanih i neoperisanih što implicira da velike abdominalne hirurške intervencije dovode do povišenog oksidativnog stresa. Pretraga literature pokazuje da manje hirurške intervencije ne utiču značajno na vrednosti PON-1, TOS i TAS u prvih 12 sati posle

operacije (110, 111) ali studije na bolesnicima koji su imali veliku abdominalnu hiruršku intervenciju još uvek nisu objavljene.

U našoj studiji, septični bolesnici sa S-AOB su, u poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB, imali više vrednosti serumskog i urinarnog NGAL i KIM-1 tokom 96 sati od prijema u JIL (Grafikon 10). Dai i sar. su takođe pokazali da su vrednosti serumskog i urinarnog NGAL kod septičnih bolesnika sa S-AOB bile više nego kod septičnih bolesnika bez S-AOB tokom 72 sata od prijema u JIL (66) dok su se vrednosti KIM-1 razlikovale između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB tokom 48 sati od prijema u JIL (75). Vang i sar. su, takođe, demonstrirali više vrednosti NGAL kod septičnih bolesnika sa S-AOB u poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB pri hitnom prijemu u bolnicu (93). Slične rezultate serijskih merenja NGAL i KIM-1 nalazimo i u populaciji kritično obolelih bez sepse (65). Interesantno, u našoj studiji, septični bolesnici bez S-AOB su imali više vrednosti NGAL i KIM-1 u odnosu na kontrolnu grupu operisanih dok razlike u vrednostima standardnih biomarkera bubrežne funkcije nije bilo. Moguće objašnjenje može da ponudi ili uticaj inflamacije na vrednosti ovih biomarkera (59, 60) ili mogućnost nastanka vrlo suptilnih oštećenja bubrega tokom hemodinamskih promena u toku i nakon velikih abdominalnih hirurških intervencija. Vestern-blot analiza je u stanju da razlikuje različite molekularne forme NGAL i možda bi mogla da ponudi odgovor na pitanje u kojoj meri inflamacija izazvana hirurškom intervencijom utiče na porast vrednosti NGAL nezavisno od sepse i S-AOB.

Septični bolesnici sa S-AOB su imali niže vrednosti MMP-9 u odnosu na septične bolesnike bez S-AOB (Grafikon 11A) što je neočekivano iz dva razloga. Prvo, studije na životinjskim modelima S-AOB su demonstrirale povećanu ekspresiju MMP-9 u bubrežima (94, 95). Do sada, samo je jedna mala klinička studija ispitivala nivoe MMP-9 u AOB da bi otkrila povišene nivoe urinarnog MMP-9 kod pedijatrijskih bolesnika sa AOB ali ne S-AOB *per se* (96). Drugo, u skladu sa rezultatima ranijih istraživanja (66, 93), i mi smo pronašli povišene koncentracije NGAL u S-AOB. S obzirom da NGAL štiti MMP-9 od degradacije (128), negativna korelacija između NGAL i MMP-9 u našoj studiji je bila neočekivana (93). Moguće je da je uticaj drugih faktora na koncentraciju MMP-9, kao

inhibicija TIMP-1, bio veći od uticaja NGAL. Pored toga, NGAL u sepsi, za razliku od KIM-1 nije povišen samo zbog S-AOB već i zbog inflamacije (56) što potvrđuje i odsustvo značajne korelacije između MMP-9 i KIM-1 u našoj studiji (Tabela 13). Naši septični bolesnici sa S-AOB su imali i više vrednosti TIMP-1 u poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB (Grafikon 11B), što je u skladu sa nalazima Vanga i sar. (93). Prethodne eksperimentalne studije o sepsi su takođe demonstrirale povišenu ekspresiju TIMP-1 u tkivu bubrega (94, 95). Dosada nisu objavljene studije koje o MMP-9:TIMP-1 kompleksu kao ni MMP-9/TIMP-1 odnosu u S-AOB. Naši septični bolesnici sa S-AOB su, u poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB, tokom celog opservacionog perioda imali snižene vrednosti MMP-9/TIMP-1 odnosa ali slične vrednosti MMP-9:TIMP-1 kompleksa (Grafikon 11D i 11C, respektivno).

U ovoj studiji koristili smo relativno nove biomarkere oksidativnog stresa PON-1, TOS, TAS, OSI i PAB koji do sada nisu ispitivani u AOB bilo koje etiologije. Septični bolesnici sa S-AOB su u poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB imali niže vrednosti TOS i OSI ali slične vrednosti TAS tokom celog opservacionog perioda kao i niže vrednosti PON-1 i PAB pri prijemu u JIL (Grafikon 12). S-AOB je udruženo sa stanjem oksidativnog stresa (42), pa bismo kod septičnih bolesnika sa S-AOB očekivali niže vrednosti TAS, a više TOS i OSI što je u suprotnosti sa našim nalazima. U našoj prethodnoj studiji, serumski kreatinin je bio pozitivan prediktor TAS a negativan TOS (103). To znači da sa pogoršanjem bubrežne funkcije, rastu vrednosti TAS a smanjuju se TOS, što je potvrđeno i u drugim studijama (126, 127). Šta više, u tabeli 12 je prikazana negativna korelacija TOS i OSI sa vrednostima serumskog kreatinina. Dodatni argument u prilog hipoteze da vrednosti kreatinina značajno doprinose vrednostima TAS, TOS i OSI je i činjenica da se vrednosti ovih biomarkera nisu razlikovale između septičnih bolesnika bez S-AOB i kontrolne grupe operisanih (Grafikon 12).

U našoj studiji, vrednosti serumskog i urinarnog NGAL kao i urinarnog KIM-1 su pozitivno korelirale sa vrednostima serumskog kreatinina i uree i, posledično, negativno sa vrednostima JGF (Tabela 12) što je podržano ranijim istraživanjima (60). U skladu sa rezultatima prethodnih studija, nađena je pozitivna korelacija između vrednosti NGAL i



KIM-1 (74), kao i između serumskog i urinarnog NGAL (59). S obzirom da ocena bubrežne funkcije značajno doprinosi vrednostima APACHE II (113) i SOFA (114) skora, ne iznenađuje što je, saglasno sa nalazima drugih istraživača (59), nađena pozitivna korelacija između vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja i skorova težine bolesti. Više vrednosti i serumskog i urinarnog NGAL su, takođe, nađene kod težih formi sepse i to, čak, nezavisno od S-AOB (59). Vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja su pozitivno korelirale i sa vrednostima leukocita i CRP (Tabela 13) što odgovara rezultatima prethodnih studija (59, 93). NGAL gradi kompleks sa MMP-9 koji štiti MMP-9 od degradacije (128). Iz tih razloga, negativna korelacija između NGAL i MMP-9 u našoj studiji je bila neočekivana (93) a objašnjenje je možda moguće naći u konfliktom uticaju S-AOB na vrednosti ova dva biomarkera jer, kao što je prethodno prodiskutovano, S-AOB podiže vrednosti NGAL a snižava vrednosti MMP-9. Jaka povezanost između NGAL i biomarkera oksidativnog stresa prikazana u tabeli 13 ne iznenađuje s obzirom na ključnu ulogu oksidativnog stresa u patofiziologiji S-AOB (42).

Kod naših bolesnika, vrednosti MMP-9 i MMP-9/TIMP-1 odnosa su korelirale negativno a TIMP-1 pozitivno sa standardnim biomarkerima bubrežne funkcije (Tabela 12) kao i sa novim biomarkerima bubrežnog oštećenja (Tabela 13). Povećana ekspresija MMP-9 i TIMP-1 u tkivu bubrega je opisana na animalnim modelima sepse (94, 95). Takođe, povišene vrednosti MMP-9 i TIMP-1 su nađene u brojnim bolestima bubrega (129). Kliničke studije o MMP-9 i TIMP-1 u S-AOB su, međutim, retke. Povišene vrednosti urinarnog ali ne i serumskog MMP-9 su nađene jedino u maloj populaciji pedijatrijskih bolesnika sa AOB različite etiologije (96). U skladu sa rezultatima ranijih istraživanja (90, 91), MMP-9 i MMP-9/TIMP-1 odnosu korelirali negativno a TIMP-1 pozitivno sa skorovima težine bolesti (Tabela 14). Ovi nalazi ukazuju da su niže vrednosti MMP-9 i MMP-9/TIMP-1 kao i više TIMP-1 asocirane sa težim formama sepse. U našoj studiji je po prvi put proučena povezanost broja leukocita sa novim biomarkerima inflamacije koja je očekivana s obzirom da MMP-9 potiče primarno iz neutrofila (85). S druge strane, negativna korelacija između MMP-9 i CRP, slično rezultatima Martina i sar., nije dostigla statističku značajnost (92). Vang i sar. su opisali pozitivnu korelaciju između PCT i TIMP-

1 ali ne i MMP-9 (93). Povezanost MMP-9 i TIMP-1 sa biomarkerima oksidativnog stresa je prvi put proučena u našoj studiji. MMP-9 i MMP-9/TIMP-1 odnos su korelirali pozitivno a TIMP-1 negativno sa biomarkerima oksidativnog stresa. Ova povezanost je očekivana s obzirom da je gubitak ravnoteže između produkcije prooksidanasa i antioksidativne zaštite tj. oksidativni stres najznačajniji promoter sistemskog inflamatornog odgovora (97). Iz navedenih razloga, negativna korelacija sa OSI je bila neočekivana. Moguće objašnjenje se može naći u činjenici da teže oblike sepse, u kojima se opisuju niže vrednosti MMP-9 a više TIMP-1, karakterišu i povišene vrednosti molekula sa antioksidativnim dejstvom (urea, kreatini, bilirubin, protein). Antioksidativno svojstvo ovih molekula verovatno značajno doprinosi porastu TAS i sniženju TOS što rezultira nižim vrednostima OSI. Ova tvrdnja je podržana rezultatima regresione analize u našem ranijem istraživanju o aktivnosti PON-1 u sepsi (103).

Kao i u ranijim istraživanjivama, vrednosti PON-1 su korelirale negativno sa skorovima težine bolesti (103, 130, 131) a pozitivno sa HDL (99, 109). U sepsi, produkcija kiseoničnih slobodnih radikala je povećana i pozitivno korelira sa skorovima težine bolesti (102) što je u skladu sa značajnim korelacijama biomarkera oksidativnog stresa koji su ispitivani u ovoj studiji sa skorovima težine bolesti. Iznenenađujuća je, međutim, pozitivna korelacija koja je nađena između vrednosti TAS, TOS i OSI a detaljnije objašnjenje kao i reperkusije ove asocijacije su diskutovane u prethodnim i narednim pasusima ovog poglavlja.

U za sada dostupnoj literaturi, novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, NGAL i KIM-1 nisu bili evaluirani kao dijagnostički biomarkeri sepse. Prema našim rezultatima prikazanim u tabeli 15, serumski i urinarni NGAL su se pokazali kao odlični dijagnostički biomarkeri sepse ali se njihova dijagnostička vrednost značajno smanjuje kada se iz grupe septičnih bolesnika izuzmu oni kod kojih se razvilo S-AOB (Tabela 16). Ovi nalazi ukazuju da su NGAL i KIM-1, u stvari, dijagnostikovali prisustvo S-AOB u grupi septičnih bolesnika, a ne samu sepsu. Ovaj rezultat donekle iznenađuje s obzirom da je prepoznato da i sama inflamacija, koja ima ključnu ulogu u sepsi, nezavisno od AOB dovodi do porasta vrednosti NGAL (59, 60). ELISA tehnika za određivanje NGAL nije u stanju da diferencira

različite molekulske forme NGAL poreklom iz neutrofila čije je oslobađanje pre svega određeno stepenom inflamacije od NGAL poreklom iz bubrega čije je oslobađanje povezano sa razvojem S-AOB (56). Moguće je da bi primena Vestern-blot tehnike koja je u stanju da diferencira NGAL poreklom iz neutrofila ili bubrega mogla da uveća značaj NGAL kao dijagnostičkog biomarkera sepse.

Analiza ROC krive je u našoj studiji pokazala da su TIMP-1 i MMP-9/TIMP-1 odnos, za razliku od MMP-9 i MMP-9:TIMP-1 kompleksa, bili dobri dijagnostički biomarkeri sepse bez obzira da li su septični bolesnici imali S-AOB (Tabela 17). Međutim, samo je TIMP-1 mogao da diskriminiše septične bolesnike bez S-AOB od bolesnika kontrolnih grupa (Tabela 18). Ovi nalazi ukazuju da na vrednost MMP-9/TIMP-1 odnosa kao dijagnostičkog biomarkera sepse značajno utiče prisustvo S-AOB. U studiji Martina i sar. (92) MMP-9 ali ne TIMP-1 se pokazao kao dobar dijagnostički biomarker sepse ali je studija poredila septične bolesnike sa drugim neinficiranim kritično obolelim pacijentima. MMP-9/TIMP-1 odnos i MMP-9:TIMP-1 kompleks još uvek nisu evaluirani u ovom kapacitetu.

Interesantno je da, uprkos velikom broju studija o aktivnosti PON-1 u sepsi (99, 104, 108, 109), ovaj enzim do sada nije evaluiran kao dijagnostički biomarker sepse. U našoj populaciji bolesnika koji su imali veliku abdominalnu hiruršku intervenciju PON-1 je bio odličan dijagnostički biomarker sepse, a mogao je da diskriminiše i operisane od neoperisanih kontrola (Tabela 19 i 20). Ovaj nalaz dobija na značaju ako se uzme u obzir da su navedene studije, računajući i našu raniju (103) poredile septične bolesnike sa zdravim kontrolama ne uzimajući u obzir uticaj komorbiditeta i hirurških intervencija na vrednost PON-1. Takođe, kao što je prikazano u tabeli 19, TOS i OSI su bili dobri dijagnostički biomarkeri sepse. Međutim, njihova vrednost kao dijagnostičkih biomarkera sepse gubi kada se iz populacije septičnih bolesnika izuzmu oni kod kojih se razvilo S-AOB (Tabela 20). Ovi rezultati ukazuju, da TOS i OSI, slično NGAL i KIM-1, u stvari dijagnostikuju S-AOB, a ne samu sepsu. U prilog tome govori statistički značajna povezanost vrednosti TOS i OSI sa vrednostima standardnih biomarkera bubrežne funkcije (Tabela 12) ali i slične vrednosti ovih biomarkera između septičnih bolesnika bez S-AOB i

kontrolne gupe operisanih (Graf. 12). Biomarkeri oksidativnog stresa ispitivani u ovoj studiji do sada nisu evaluirani kao dijagnostički biomarkeri bilo koje bolesti.

Serumski i urinarni NGAL kao i urinarni KIM-1 su se u našoj studiji pokazali kao dobri dijagnostički biomarkeri S-AOB. Očekivano, istovremena primena kombinacije ovih biomarkera je značajno uvećala njihovu sposobnost da diskriminišu septične bolesnike sa i bez S-AOB (Tabela 21). Takođe, nešto bolje performanse su pomenuti biomarkeri imali za dijagnozu S-AOB tokom celog boravka u JIL u poređenju sa dijagnozom S-AOB prilikom prijema u JIL, što se može smatrati i očekivanim s obzirom da se porast NGAL i KIM-1 prethodi porastu serumskog kreatinina i do nekoliko dana (1). S obzirom da se vrednosti ispitivanih biomarkera, osim urinarnog KIM-1, nisu statistički značajno menjale tokom prvih 96 sati od prijema u JIL, ne iznenađuje što su njihove performanse bile slične kada su kao nezavisno promenljive korišćene vrednosti sa prijema u JIL ili srednje vrednosti tokom celog opservacionog perioda. O vrednosti NGAL kao dijagnostičkom biomarkeru S-AOB postoje kontradiktorni nalazi. Dai i sar. su pokazali da su i serumski i urinarni NGAL dobri dijagnostički biomarkeri S-AOB kod obolelih od sepse (66). U toj studiji je, za razliku od naše, dijagnostička vrednost NGAL ocenjivana samo kod septičnih bolesnika koji su S-AOB dobili tek nakon prijema u JIL što objašnjava i nešto bolje vrednosti AUC-ROC od 0,826 i 0,855 za serumski i urinarni NGAL, respektivno. Suprotno, u studiji Vanmasenhove i sar. ni urinarni ni serumski NGAL nisu mogli da razlikuju septične bolesnike sa i bez S-AOB (59). S druge strane, u populaciji kritično obolelih koja nije posebno izdvajala obolele od sepse i hirurške pacijente, NGAL nije bio dobar dijagnostički biomarker AOB pri prijemu u JIL osim u podgrupi bolesnika sa prethodno normalnom bubrežnom funkcijom (74). KIM-1 je dobar dijagnostički biomarker AOB u kohortama kritično obolelih sa (75) i bez sepse (65). U jedinoj meta analizi do sada, KIM-1 se pokazao kao dobar dijagnostički biomarker AOB, ali ova analiza nije izdvojila septične niti hirurške, osim kardiohirurških, bolesnike kao posebne kohorte (73). Do sada nije publikovana ni jedna studija o NGAL i KIM-1 kao dijagnostičkim biomarkerima S-AOB kod septičnih bolesnika koji su imali veliku abdominalnu hiruršku intervenciju.

Naša studija je prva evaluirala MMP-9 i TIMP-1 kao dijagnostičke biomarkere S-AOB kod hirurških bolesnika sa sepsom. Naši rezultati ukazuju da su TIMP-1 i MMP-9/TIMP-1 odnos za razliku od MMP-9 i MMP-9:TIMP-1 kompleksa, dobri dijagnostički biomarkeri S-AOB, uporedivi sa NGAL i KIM-1 (Tabela 22). U studiji Vang i sar. TIMP-1, ali ne i MMP-9, je bio dobar dijagnostički biomarker S-AOB ali na odeljenju hitnog prijema (93). Očekivano, kombinacije ovih biomakera su imale još bolju sposobnost diskriminacije između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB.

Osim TAS, pojedinačni biomarkeri oksidativnog stresa su se pokazali kao dobri dijagnostički biomarkeri S-AOB u populaciji septičnih bolesnika koji su imali veliku abdominalnu hiruršku intervenciju. Očekivano, kombinacija ovih biomarkera je pokazala veću diskriminatornu moć u odnosu na pojedinačne biomarkere (Tabela 23). Biomarkeri oksidativnog stresa do sada nisu evaluirani kao dijagnostički biomarkeri AOB bilo koje etiologije.

Kod septičnih bolesnika u našoj studiji, serumski i urinarni NGAL kao ni KIM-1 pojedinačno nisu bili dobri prediktori nastanka S-AOB. Njihova prediktivna moć se značajno uvećava istovremenom upotrebom sva tri biomarkera (Tabela 24). Suprotno našim nalazima, Dai i sar. su pokazali da su i serumski i urinarni NGAL dobri prediktori nastanka S-AOB 24 sata pre postavljanja dijagnoze AOB po KDIGO kriterijumima kod obolelih od sepse (66). S obzirom na relativno mali broj septičnih bolesnika i drugačiji dizajn naše studije, takva statistička analiza nije mogla biti izvedena. Vang i saradnici su pokazali da su vrednosti NGAL prilikom hitnog prijema u bolnicu dobri prediktori nastanka S-AOB kod obolelih od sepse ali u opisu dizajna studije nije eksplicitno rečeno koliki je bio opservacioni period tokom kojeg je praćen razvoj S-AOB (93). Ako posmatramo istraživanja na populacijama kritično obolelih koja uključuju i hirurške i septične bolesnike, ponovo nailazimo na kontradiktorne rezultate o prognostičkoj vrednosti NGAL i KIM-1. Skorašnja meta analiza (58), kao i studija Endre i sar., su demonstrirale da NGAL i KIM-1 nisu dobri prognostički biomarkeri AOB kod kritično obolelih (74) dok su studija Bušara i sar. (63) kao i meta analiza Šao i sar. (73) imale suprotne rezultate. Objašnjenje se može naći u istovremenom postojanju više mogućih uzroka povišenih

vrednosti NGAL, pre svega sepse i drugih inflamatornih stanja u populaciji kritično obolelih, kao i u nemogućnosti komercijalnih eseja da razlikuju različite molekularne forme NGAL. Tako, u populaciji kritično obolelih iz koje su isključeni oboleli od sepse, i NGAL i KIM su dobri prediktori nastanka AOB. NGAL i KIM-1 se značajno razlikuju po tome koliko unapred, posmatrajući od početka delovanja insulta koji je izazvao AOB, mogu da predvide nastanak AOB (65). S obzirom da je patofiziologija i sepse i S-AOB još uvek nedovoljno razjašnjena, za sad nije moguće dizajnirati slične studije sa septičnim bolesnicima koje bi pratile nastanak S-AOB. U populaciji abdominalnih, ortopedskih i vaskularnih hirurških bolesnika bez sepse, ni serumski ni urinarni NGAL nisu mogli da predvide nastanak AOB (68). Koliko je nama poznato, studije o prognostičkoj vrednosti NGAL i KIM-1 u kohortama septičnih hirurških bolesnika još uvek nisu objavljene.

Među novim biomarkerima inflamacije, samo je MMP-9:TIMP-1 kompleks bio statistički značajan nezavistan prediktor nastanka S-AOB u populaciji septičnih bolesnika. Međutim, osim MMP-9, svi ispitivani biomarkeri inflamacije, kao i njihova kombinacija, su mogli da predvide nastanak S-AOB u ukupnoj populaciji obolelih od sepse i bolesnika kontrolnih grupa (Tabela 25). Do sada nisu publikovana istraživanja o značaju MMP-9 i TIMP-1 u ranoj predikciji nastanka AOB bilo koje etiologije.

PON-1 je jedini biomarker oksidativnog stresa koji je statistički značajan nezavistan prediktor nastanka S-AOB kod obolelih od sepse. Skoro savršen rezultat AUC-ROC analize u predikciji S-AOB ima i kombinacija PON-1, OSI i PAB. Interesanto je da, ukoliko posmatramo septične i kontrolne bolesnike zajedno, svi ispitivani biomarkeri oksidativnog stresa su dobri ili odlični prediktori nastanka S-AOB (Tabela 26). Pretraga dosadašnje literature nije dala podatke o evaluaciji ovih biomarkera kao prediktora S-AOB.

U našoj studiji su se kao jedini nezavisni prediktor primene TZBF izdvojio serumski NGAL (Tabela 27). Očekivano, kombinacija novih biomarkera bubrežnog oštećenja je bila jako dobar prediktor primene TZBF ali i drugih ishoda sepse što ne iznenadjuje s obzirom na uticaj koji S-AOB ostvaruje na funkciju udaljenih organa (4). Urinarni NGAL je, za razliku od KIM-1, bio dobar prediktor primene TZBF u populaciji kritično obolelih sa

znatno boljim prediktivnim performansama kod bolesnika sa prethodno normalnom bubrežnom funkcijom (74). Visoke vrednosti NGAL su prediktori dužeg trajanja i lošeg ishoda mehaničke ventilacije kod kardiohirurških bolesnika (132, 133).

MMP-9:TIMP-1 kompleks je, u našoj studiji, bio nezavisan prediktor upotrebe mehaničke ventilacije i vazopresora/inotropa kod obolelih od sepse. Kombinacija MMP-9:TIMP-1 kompleksa i MMP-9/TIMP-1 odnosa je mogla da predvidi primenu i TZBF i mehaničke ventilacije kao i upotrebu vazopresora/inotropa kod obolelih od sepse (Tabela 28). MMP-9 i TIMP-1 nisu evaluirani u ovom kapacitetu do sada. Do sada nisu publikovane studije o vrednostima ovih biomarkera kod bolesnika na mehaničkoj ventilaciji kao ni na kohortama bolesnika lečenih vazopresorima i/ili inotropima.

Za razliku od individualnih biomarkera oksidativnog stresa, njihova kombinacija je bila dobar prediktor primene TZBF, mehaničke ventilacije i vazopresora i/ili inotropa (Tabela 29). Biomarkeri oksidativnog stresa koje smo koristili u ovom istraživanju do sada nisu ispitivani kao prediktori ovih ishoda lečenja sepse. Međutim, niže vrednosti PON-1 su povezane sa lošijim ishodom TZBF (134). Takođe, kateholamini uzrokuju inaktivaciju PON-1 nezavisno do HDL (135) dok istovremeno štite od oksidativnog stresa (136). Postoje jaki dokazi da mehanička ventilacija sama po sebi uzrokuje oksidativni stres (137-139).

U našoj studiji, visoke vrednosti NGAL i KIM-1 su bile udružene sa lošijim dvadesetosmodnevnim preživljavanjem obolelih od sepse (Grafikon 13). I ranija istraživanja ukazuju na slične rezultate. Urinarni NGAL je, za razliku od KIM-1, bio dobar prediktor smrtnog ishoda u populaciji kritično obolelih sa prethodno normalnom bubrežnom funkcijom (74). Studija Vanga i sar. je takođe pokazala da je NGAL dobar prediktor dvadesetosmodnevnog mortaliteta obolelih od sepse (93). Slično, kod obolelih od sepse i visoke vrednosti KIM-1 su bile udružene sa smrtnim ishodom (75). S druge strane, kod elektivno operisanih abdominalnih, ortopedskih i vaskularnih hirurških bolesnika, Šavit i sar. su pokazali da vrednosti urinarnog i serumskog NGAL mogu da predvide razvoj

infekcije i smrtni ishod (68). Visoke vrednosti NGAL su prediktori smrtnog ishoda i kod kardiohirurških bolesnika (132, 133).

Niže vrednosti MMP-9 i MMP-9/TIMP-1 odnosa i, suprotno, više vrednosti TIMP-1 i MMP-9:TIMP-1 kompleksa su, u našoj studiji, povezane sa kraćim dvadesetosmodnevnim preživljavanjem (Grafikon 14). Po studiji Martina i sar. MMP-9 i TIMP-1 nisu dobri prediktori ishoda sepse ali su vrednosti MMP-9 bile niže kod umrlih (92). Vang i sar. (93) su objavili da su i MMP-9 i TIMP-1 bili povišeni kod umrlih septičnih bolesnika ali je u studiji Lauhia i sar. (88) samo TIMP-1 ali ne i MMP-9 bio viši kod umrlih. Lorente i sar. su demonstrirali ponovljeno niže vrednosti MMP-9 a više TIMP-1 kod umrlih od sepse. U toj studiji je TIMP-1/MMP-9 odnos bio dobar prediktor mortaliteta obolelih od sepse (91).

U našoj studiji, niže vrednosti PON-1, TOS i OSI su bile udružene sa kraćim preživljavanjem bolesnika tokom 28 dana. I u ranijim istraživanjima su niske vrednosti PON-1 bile povezane sa lošijim preživljavanjem obolelih od sepse (99, 103, 108, 130). Pretraga literature nije dala rezultate o ostalim biomarkerima oksidativnog stresa kao prediktorima ishoda sepse. Međutim, visoke koncentracije standardnih biomarkera oksidativnog stresa koji mere produkciju kiseoničnih slobodnih radikala je asocirana sa lošijim preživljavanjem obolelih od sepse (102).



## 6 ZAKLJUČCI

Zaključci istraživanja su:

1. oboleli od sepse su imali značajno više vrednosti serumskog i urinarnog NGAL, urinarnog KIM-1, TIMP-1 i PAB, a niže MMP-9, MMP-9/TIMP-1 odnosa, PON-1, TAS, TOS i OSI u poređenju sa bolesnicima kontrolnih grupa, dok se vrednosti MMP-9:TIMP-1 kompleksa nisu razlikovale između ovih grupa bolesnika;
2. septični bolesnici sa S-AOB su imali značajno više vrednosti serumskog i urinarnog NGAL, urinarnog KIM-1 i TIMP-1 a niže MMP-9, MMP-9/TIMP-1 odnosa, PON-1, TOS, OSI i PAB u poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB ali se septični bolesnici sa i bez S-AOB nisu razlikovali po vrednostima MMP-9:TIMP-1 kompleksa, TAS i MDA;
3. standardni biomarkeri bubrežne funkcije, serumski urea i kreatinin, su pozitivno korelirali sa serumskim i urinarnim NGAL, urinarnim KIM-1 kao i TIMP-1, a negativno sa MMP-9, MMP-9/TIMP-1 odnosom, PON-1, TOS i OSI, dok korelacija sa MMP-9:TIMP-1 kompleksom, TAS, PAB i MDA nije dostigla statističku značajnost;
4. serumski i urinarni NGAL, urinarni KIM-1, TIMP-1, MMP-9/TIMP-1 odnos, PON-1, TAS, TOS, OSI i PAB su, samostalno ili u kombinaciji, za razliku od MMP-9 i MMP-9:TIMP-1 kompleksa, bili dobri dijagnostički biomarkeri sepse;
5. serumski i urinarni NGAL, urinarni KIM-1, TIMP-1, MMP-9/TIMP-1 odnos, PON-1, TOS, OSI i PAB su, samostalno ili u kombinaciji, za razliku od MMP-9, MMP-9:TIMP-1 kompleksa i TAS bili dobri dijagnostički biomarkeri S-AOB;
6. MMP-9:TIMP-1 kompleks i PON-1 su bili jedini nezavisni prediktori nastanka S-AOB dok su samo kombinacije ostalih ispitivanih novih biomarkera bubrežnog

oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa ali ne i oni samostalno, mogli da predvide nastanak S-AOB;

7. serumski i urinarni NGAL, urinarni KIM-1, MMP-9, TIMP-1, MMP-9:TIMP-1 kompleks, MMP-9/TIMP-1 odnos, PON-1, TOS i OSI su, za razliku od TAS i PAB, bili dobri prognostički biomarkeri preživljavanja sepse.

## 7 LITERATURA

1. Khwaja A. KDIGO Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury. *Nephron Clinical practice*. 2012 Aug 7;120(4):179-84. PubMed PMID: 22890468.
2. Macedo E, Mehta RL. Preventing Acute Kidney Injury. *Critical care clinics*. 2015 Oct;31(4):773-84. PubMed PMID: 26410144.
3. Singbartl K, Joannidis M. Short-term Effects of Acute Kidney Injury. *Critical care clinics*. 2015 Oct;31(4):751-62. PubMed PMID: 26410142. .
4. White LE, Chaudhary R, Moore LJ, Moore FA, Hassoun HT. Surgical sepsis and organ crosstalk: the role of the kidney. *The Journal of surgical research*. 2011 May 15;167(2):306-15. PubMed PMID: 21324390. Pubmed Central PMCID: PMC3077465. Epub 2011/02/18.
5. Alobaidi R, Basu RK, Goldstein SL, Bagshaw SM. Sepsis-associated acute kidney injury. *Seminars in nephrology*. 2015 Jan;35(1):2-11. PubMed PMID: 25795495. Epub 2015/03/22.
6. Metnitz PG, Krenn CG, Steltzer H, Lang T, Ploder J, Lenz K, et al. Effect of acute renal failure requiring renal replacement therapy on outcome in critically ill patients. *Critical care medicine*. 2002 Sep;30(9):2051-8. PubMed PMID: 12352040. Epub 2002/09/28.
7. Bagshaw SM, George C, Dinu I, Bellomo R. A multi-centre evaluation of the RIFLE criteria for early acute kidney injury in critically ill patients. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2008 Apr;23(4):1203-10. PubMed PMID: 17962378. Epub 2007/10/27.

8. Bagga A, Bakkaloglu A, Devarajan P, Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, et al. Improving outcomes from acute kidney injury: report of an initiative. *Pediatric nephrology*. 2007 Oct;22(10):1655-8. PubMed PMID: 17665221. Epub 2007/08/01.
9. Okusa MD, Davenport A. Reading between the (guide)lines--the KDIGO practice guideline on acute kidney injury in the individual patient. *Kidney international*. 2014 Jan;85(1):39-48. PubMed PMID: 24067436. Pubmed Central PMCID: PMC3877708. Epub 2013/09/27.
10. Grande PO. PRO: the "Lund concept" for treatment of patients with severe traumatic brain injury. *Journal of neurosurgical anesthesiology*. 2011 Jul;23(3):251-5. PubMed PMID: 21593694. Epub 2011/05/20.
11. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock, 2012. *Intensive care medicine*. 2013 Jan 30. PubMed PMID: 23361625.
12. Inda-Filho AJ, Caixeta A, Manggini M, Schor N. Do intravenous N-acetylcysteine and sodium bicarbonate prevent high osmolal contrast-induced acute kidney injury? A randomized controlled trial. *PloS one*. 2014;9(9):e107602. PubMed PMID: 25254489. Pubmed Central PMCID: PMC4177831. Epub 2014/09/26.
13. van der Hoeven SM, Binnekade JM, de Borgie CA, Bosch FH, Endeman H, Horn J, et al. Preventive nebulization of mucolytic agents and bronchodilating drugs in invasively ventilated intensive care unit patients (NEBULAE): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2015;16(1):389. PubMed PMID: 26329352. Pubmed Central PMCID: PMC4557315. Epub 2015/09/04.
14. Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. *Lancet*. 2005 Jan 29-Feb 4;365(9457):417-30. PubMed PMID: 15680458. Epub 2005/02/01.

15. Bonilla-Felix M. Peritoneal dialysis in the pediatric intensive care unit setting: techniques, quantitations and outcomes. *Blood purification*. 2013;35(1-3):77-80. PubMed PMID: 23343550. Epub 2013/01/25.
16. Iwagami M, Yasunaga H, Noiri E, Horiguchi H, Fushimi K, Matsubara T, et al. Choice of renal replacement therapy modality in intensive care units: data from a Japanese Nationwide Administrative Claim Database. *Journal of critical care*. 2015 Apr;30(2):381-5. PubMed PMID: 25434720. Epub 2014/12/02.
17. Kitchlu A, Adhikari N, Burns KE, Friedrich JO, Garg AX, Klein D, et al. Outcomes of sustained low efficiency dialysis versus continuous renal replacement therapy in critically ill adults with acute kidney injury: a cohort study. *BMC nephrology*. 2015;16:127. PubMed PMID: 26238520. Pubmed Central PMCID: PMC4522955. Epub 2015/08/05.
18. Lee CY, Yeh HC, Lin CY. Treatment of critically ill children with kidney injury by sustained low-efficiency daily diafiltration. *Pediatric nephrology*. 2012 Dec;27(12):2301-9. PubMed PMID: 22903659. Pubmed Central PMCID: PMC3491203. Epub 2012/08/21.
19. Marshall MR, Ma T, Galler D, Rankin AP, Williams AB. Sustained low-efficiency daily diafiltration (SLEDD-f) for critically ill patients requiring renal replacement therapy: towards an adequate therapy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2004 Apr;19(4):877-84. PubMed PMID: 15031344. Epub 2004/03/20.
20. Schefold JC, von Haehling S, Pschowski R, Bender T, Berkmann C, Briegel S, et al. The effect of continuous versus intermittent renal replacement therapy on the outcome of critically ill patients with acute renal failure (CONVINT): a prospective randomized controlled trial. *Critical care (London, England)*. 2014;18(1):R11. PubMed PMID: 24405734. Pubmed Central PMCID: PMC4056033. Epub 2014/01/11.
21. Prowle JR, Bellomo R. Continuous renal replacement therapy: recent advances and future research. *Nature reviews Nephrology*. 2010 Sep;6(9):521-9. PubMed PMID: 20644583. Epub 2010/07/21.

22. Jorres A, John S, Lewington A, ter Wee PM, Vanholder R, Van Biesen W, et al. A European Renal Best Practice (ERBP) position statement on the Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) Clinical Practice Guidelines on Acute Kidney Injury: part 2: renal replacement therapy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2013 Dec;28(12):2940-5. PubMed PMID: 24121762. Epub 2013/10/15.
23. Uchino S, Bellomo R, Morimatsu H, Morgera S, Schetz M, Tan I, et al. Continuous renal replacement therapy: a worldwide practice survey. The beginning and ending supportive therapy for the kidney (B.E.S.T. kidney) investigators. *Intensive care medicine*. 2007 Sep;33(9):1563-70. PubMed PMID: 17594074. Epub 2007/06/28.
24. Villa G, Ricci Z, Ronco C. Renal Replacement Therapy. *Critical care clinics*. 2015 Oct;31(4):839-48. PubMed PMID: 26410148.
25. Chou YH, Huang TM, Wu VC, Wang CY, Shiao CC, Lai CF, et al. Impact of timing of renal replacement therapy initiation on outcome of septic acute kidney injury. *Critical care (London, England)*. 2011;15(3):R134. PubMed PMID: 21645350. Pubmed Central PMCID: PMC3219003. Epub 2011/06/08.
26. Wald R, Adhikari NK, Smith OM, Weir MA, Pope K, Cohen A, et al. Comparison of standard and accelerated initiation of renal replacement therapy in acute kidney injury. *Kidney international*. 2015 Jul 8. PubMed PMID: 26154928. Epub 2015/07/15.
27. Schilder L, Nurmohamed SA, Bosch FH, Purmer IM, den Boer SS, Kleppe CG, et al. Citrate anticoagulation versus systemic heparinisation in continuous venovenous hemofiltration in critically ill patients with acute kidney injury: a multi-center randomized clinical trial. *Critical care (London, England)*. 2014;18(4):472. PubMed PMID: 25128022. Pubmed Central PMCID: PMC4161888. Epub 2014/08/17.
28. Vincent JL. EPIC II: sepsis around the world. *Minerva anestesiologica*. 2008 Jun;74(6):293-6. PubMed PMID: 18500201. Epub 2008/05/27.

29. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Critical care medicine*. 2001 Jul;29(7):1303-10. PubMed PMID: 11445675. Epub 2001/07/11.
30. Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence*. 2014 Jan 1;5(1):4-11. PubMed PMID: 24335434.
31. 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. *Critical care medicine*. 1992 Jun;20(6):864-74. PubMed PMID: 1597042.
32. Angus DC, Barnato AE, Bell D, Bellomo R, Chong CR, Coats TJ, et al. A systematic review and meta-analysis of early goal-directed therapy for septic shock: the ARISE, ProCESS and ProMISe Investigators. *Intensive care medicine*. 2015 May 8. PubMed PMID: 25952825. Epub 2015/05/09.
33. Forni LG, Ricci Z, Ronco C. Extracorporeal renal replacement therapies in the treatment of sepsis: where are we? *Seminars in nephrology*. 2015 Jan;35(1):55-63. PubMed PMID: 25795499. Epub 2015/03/22.
34. Moore LJ, Moore FA, Todd SR, Jones SL, Turner KL, Bass BL. Sepsis in general surgery: the 2005-2007 national surgical quality improvement program perspective. *Archives of surgery (Chicago, Ill : 1960)*. 2010 Jul;145(7):695-700. PubMed PMID: 20644134. Epub 2010/07/21.
35. Decker D, Tolba R, Springer W, Lauschke H, Hirner A, von Ruecker A. Abdominal surgical interventions: local and systemic consequences for the immune system--a prospective study on elective gastrointestinal surgery. *The Journal of surgical research*. 2005 Jun 1;126(1):12-8. PubMed PMID: 15916969. Epub 2005/05/27.

36. Hoste EA, Bagshaw SM, Bellomo R, Cely CM, Colman R, Cruz DN, et al. Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study. *Intensive care medicine*. 2015 Aug;41(8):1411-23. PubMed PMID: 26162677. Epub 2015/07/15.
37. Lopes JA, Jorge S, Resina C, Santos C, Pereira A, Neves J, et al. Acute kidney injury in patients with sepsis: a contemporary analysis. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2009 Mar;13(2):176-81. PubMed PMID: 18771942. Epub 2008/09/06.
38. Sakhuja A, Kumar G, Gupta S, Mittal T, Taneja A, Nanchal RS. Acute Kidney Injury Requiring Dialysis in Severe Sepsis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2015 Jun 29. PubMed PMID: 26120892. Epub 2015/06/30.
39. Rosen S, Heyman SN. Difficulties in understanding human "acute tubular necrosis": limited data and flawed animal models. *Kidney international*. 2001 Oct;60(4):1220-4. PubMed PMID: 11576335. Epub 2001/09/29.
40. Calzavacca P, Evans RG, Bailey M, Bellomo R, May CN. Cortical and Medullary Tissue Perfusion and Oxygenation in Experimental Septic Acute Kidney Injury. *Critical care medicine*. 2015 Jul 15. PubMed PMID: 26181218. Epub 2015/07/17.
41. Mariano F, Cantaluppi V, Stella M, Romanazzi GM, Assenzio B, Cairo M, et al. Circulating plasma factors induce tubular and glomerular alterations in septic burns patients. *Critical care (London, England)*. 2008;12(2):R42. PubMed PMID: 18364044. Pubmed Central PMCID: PMC2447585. Epub 2008/03/28.
42. Gomez H, Ince C, De Backer D, Pickkers P, Payen D, Hotchkiss J, et al. A unified theory of sepsis-induced acute kidney injury: inflammation, microcirculatory dysfunction, bioenergetics, and the tubular cell adaptation to injury. *Shock*. 2014 Jan;41(1):3-11. PubMed PMID: 24346647. Pubmed Central PMCID: PMC3918942. Epub 2013/12/19.



43. Heyman SN, Rosen S, Rosenberger C. A role for oxidative stress. *Contributions to nephrology*. 2011;174:138-48. PubMed PMID: 21921618. Epub 2011/09/17.
44. Emler DR, Shaw AD, Kellum JA. Sepsis-associated AKI: epithelial cell dysfunction. *Seminars in nephrology*. 2015 Jan;35(1):85-95. PubMed PMID: 25795502. Epub 2015/03/22.
45. Seely KA, Holthoff JH, Burns ST, Wang Z, Thakali KM, Gokden N, et al. Hemodynamic changes in the kidney in a pediatric rat model of sepsis-induced acute kidney injury. *American journal of physiology Renal physiology*. 2011 Jul;301(1):F209-17. PubMed PMID: 21511700. Pubmed Central PMCID: PMC3129882. Epub 2011/04/23.
46. Calvert S, Shaw A. Perioperative acute kidney injury. *Perioperative medicine (London, England)*. 2012;1:6. PubMed PMID: 24764522. Pubmed Central PMCID: PMC3886265. Epub 2012/01/01.
47. Teixeira C, Rosa R, Rodrigues N, Mendes I, Peixoto L, Dias S, et al. Acute kidney injury after major abdominal surgery: a retrospective cohort analysis. *Critical care research and practice*. 2014;2014:132175. PubMed PMID: 24719758. Pubmed Central PMCID: PMC3955689. Epub 2014/04/11.
48. Kheterpal S, Tremper KK, Heung M, Rosenberg AL, Englesbe M, Shanks AM, et al. Development and validation of an acute kidney injury risk index for patients undergoing general surgery: results from a national data set. *Anesthesiology*. 2009 Mar;110(3):505-15. PubMed PMID: 19212261. Epub 2009/02/13.
49. Mao H, Katz N, Ariyanon W, Blanca-Martos L, Adybelli Z, Giuliani A, et al. Cardiac surgery-associated acute kidney injury. *Cardiorenal medicine*. 2013 Oct;3(3):178-99. PubMed PMID: 24454314. Pubmed Central PMCID: PMC3884176. Epub 2014/01/24.
50. Chung CU, Nelson JA, Fischer JP, Wink JD, Serletti JM, Kovach SJ. Acute kidney injury after open ventral hernia repair: an analysis of the 2005-2012 ACS-NSQIP datasets.

Hernia : the journal of hernias and abdominal wall surgery. 2015 Jun 23. PubMed PMID: 26099501. Epub 2015/06/24.

51. Medve L, Gondos T. Epidemiology of postoperative acute kidney injury in Hungarian intensive care units: an exploratory analysis. *Renal failure*. 2012;34(9):1074-8. PubMed PMID: 22889008. Epub 2012/08/15.

52. De Hert S, Imberger G, Carlisle J, Diemunsch P, Fritsch G, Moppett I, et al. Preoperative evaluation of the adult patient undergoing non-cardiac surgery: guidelines from the European Society of Anaesthesiology. *European journal of anaesthesiology*. 2011 Oct;28(10):684-722. PubMed PMID: 21885981. Epub 2011/09/03.

53. Murray PT, Mehta RL, Shaw A, Ronco C, Endre Z, Kellum JA, et al. Potential use of biomarkers in acute kidney injury: report and summary of recommendations from the 10th Acute Dialysis Quality Initiative consensus conference. *Kidney international*. 2014 Mar;85(3):513-21. PubMed PMID: 24107851. Pubmed Central PMCID: PMC4198530. Epub 2013/10/11.

54. McCullough PA, Shaw AD, Haase M, Bouchard J, Waikar SS, Siew ED, et al. Diagnosis of acute kidney injury using functional and injury biomarkers: workgroup statements from the tenth Acute Dialysis Quality Initiative Consensus Conference. *Contributions to nephrology*. 2013;182:13-29. PubMed PMID: 23689653. Epub 2013/05/22.

55. Endre ZH, Kellum JA, Di Somma S, Doi K, Goldstein SL, Koyner JL, et al. Differential diagnosis of AKI in clinical practice by functional and damage biomarkers: workgroup statements from the tenth Acute Dialysis Quality Initiative Consensus Conference. *Contributions to nephrology*. 2013;182:30-44. PubMed PMID: 23689654. Epub 2013/05/22.

56. Martensson J, Bellomo R. The Rise and Fall of NGAL in Acute Kidney Injury. *Blood purification*. 2014;37(4):304-10. PubMed PMID: 25170751. Epub 2014/08/30.

57. Singer E, Marko L, Paragas N, Barasch J, Dragun D, Muller DN, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: pathophysiology and clinical applications. *Acta physiologica* (Oxford, England). 2013 Apr;207(4):663-72. PubMed PMID: 23375078. Epub 2013/02/05.
58. Haase-Fielitz A, Haase M, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury: a critical evaluation of current status. *Annals of clinical biochemistry*. 2014 May;51(Pt 3):335-51. PubMed PMID: 24518531. Pubmed Central PMCID: PMC4104776. Epub 2014/02/13.
59. Vanmassenhove J, Glorieux G, Lameire N, Hoste E, Dhondt A, Vanholder R, et al. Influence of severity of illness on neutrophil gelatinase-associated lipocalin performance as a marker of acute kidney injury: a prospective cohort study of patients with sepsis. *BMC nephrology*. 2015;16:18. PubMed PMID: 25868473. Pubmed Central PMCID: PMC4352556. Epub 2015/04/15.
60. Otto GP, Hurtado-Oliveros J, Chung HY, Knoll K, Neumann T, Muller HJ, et al. Plasma Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Is Primarily Related to Inflammation during Sepsis: A Translational Approach. *PloS one*. 2015;10(4):e0124429. PubMed PMID: 25893429. Pubmed Central PMCID: PMC4404058. Epub 2015/04/22.
61. Vanmassenhove J, Vanholder R, Nagler E, Van Biesen W. Urinary and serum biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury: an in-depth review of the literature. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2013 Feb;28(2):254-73. PubMed PMID: 23115326. Epub 2012/11/02.
62. Hjortrup PB, Haase N, Wetterslev M, Perner A. Clinical review: Predictive value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin for acute kidney injury in intensive care patients. *Critical care* (London, England). 2013 Apr 24;17(2):211. PubMed PMID: 23680259. Pubmed Central PMCID: PMC3672520. Epub 2013/05/18.

63. Bouchard J, Malhotra R, Shah S, Kao YT, Vaida F, Gupta A, et al. Levels of protein C and soluble thrombomodulin in critically ill patients with acute kidney injury: a multicenter prospective observational study. *PloS one*. 2015;10(3):e0120770. PubMed PMID: 25790110. Pubmed Central PMCID: PMC4366245. Epub 2015/03/20.
64. Zhou F, Luo Q, Wang L, Han L. Diagnostic value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin for early diagnosis of cardiac surgery-associated acute kidney injury: a meta-analysis. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2015 Jun 20. PubMed PMID: 26094017. Epub 2015/06/22.
65. de Geus HR, Fortrie G, Betjes MG, van Schaik RH, Groeneveld AB. Time of injury affects urinary biomarker predictive values for acute kidney injury in critically ill, non-septic patients. *BMC nephrology*. 2013;14:273. PubMed PMID: 24321290. Pubmed Central PMCID: PMC3878913. Epub 2013/12/11.
66. Dai X, Zeng Z, Fu C, Zhang S, Cai Y, Chen Z. Diagnostic value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin, cystatin C, and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in critically ill patients with sepsis-associated acute kidney injury. *Critical care (London, England)*. 2015;19:223. PubMed PMID: 25944130. Pubmed Central PMCID: PMC4449565. Epub 2015/05/07.
67. Cullen MR, Jhanji S, Pearse RM, Fitzgibbon MC. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and albuminuria as predictors of acute kidney injury in patients treated with goal-directed haemodynamic therapy after major abdominal surgery. *Annals of clinical biochemistry*. 2014 May;51(Pt 3):392-9. PubMed PMID: 24123926. Epub 2013/10/15.
68. Shavit L, Dolgoker I, Ivgi H, Assous M, Slotki I. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a predictor of complications and mortality in patients undergoing non-cardiac major surgery. *Kidney & blood pressure research*. 2011;34(2):116-24. PubMed PMID: 21311195. Epub 2011/02/12.

69. Tsigou E, Psallida V, Demponeras C, Boutzouka E, Baltopoulos G. Role of new biomarkers: functional and structural damage. *Critical care research and practice*. 2013;2013:361078. PubMed PMID: 23476755. Pubmed Central PMCID: PMC3576734. Epub 2013/03/12.
70. Bailly V, Zhang Z, Meier W, Cate R, Sanicola M, Bonventre JV. Shedding of kidney injury molecule-1, a putative adhesion protein involved in renal regeneration. *The Journal of biological chemistry*. 2002 Oct 18;277(42):39739-48. PubMed PMID: 12138159. Epub 2002/07/26.
71. Ichimura T, Brooks CR, Bonventre JV. Kim-1/Tim-1 and immune cells: shifting sands. *Kidney international*. 2012 May;81(9):809-11. PubMed PMID: 22499138. Pubmed Central PMCID: PMC3339439. Epub 2012/04/14.
72. Vaidya VS, Ozer JS, Dieterle F, Collings FB, Ramirez V, Troth S, et al. Kidney injury molecule-1 outperforms traditional biomarkers of kidney injury in preclinical biomarker qualification studies. *Nature biotechnology*. 2010 May;28(5):478-85. PubMed PMID: 20458318. Pubmed Central PMCID: PMC2885849. Epub 2010/05/12.
73. Shao X, Tian L, Xu W, Zhang Z, Wang C, Qi C, et al. Diagnostic value of urinary kidney injury molecule 1 for acute kidney injury: a meta-analysis. *PloS one*. 2014;9(1):e84131. PubMed PMID: 24404151. Pubmed Central PMCID: PMC3880280. Epub 2014/01/10.
74. Endre ZH, Pickering JW, Walker RJ, Devarajan P, Edelstein CL, Bonventre JV, et al. Improved performance of urinary biomarkers of acute kidney injury in the critically ill by stratification for injury duration and baseline renal function. *Kidney international*. 2011 May;79(10):1119-30. PubMed PMID: 21307838. Pubmed Central PMCID: PMC3884688. Epub 2011/02/11.
75. Tu Y, Wang H, Sun R, Ni Y, Ma L, Xv F, et al. Urinary netrin-1 and KIM-1 as early biomarkers for septic acute kidney injury. *Renal failure*. 2014 Nov;36(10):1559-63. PubMed PMID: 25154466. Epub 2014/08/27.

76. Huang Y, Don-Wauchope AC. The clinical utility of kidney injury molecule 1 in the prediction, diagnosis and prognosis of acute kidney injury: a systematic review. *Inflammation & allergy drug targets*. 2011 Aug;10(4):260-71. PubMed PMID: 21539514. Epub 2011/05/05.
77. Arabestani MR, Rastiany S, Kazemi S, Mousavi SM. Conventional, molecular methods and biomarkers molecules in detection of septicemia. *Advanced biomedical research*. 2015;4:120. PubMed PMID: 26261822. Pubmed Central PMCID: PMC4513309. Epub 2015/08/12.
78. Sexton PM, Christopoulos G, Christopoulos A, Nylen ES, Snider RH, Jr., Becker KL. Procalcitonin has bioactivity at calcitonin receptor family complexes: potential mediator implications in sepsis. *Critical care medicine*. 2008 May;36(5):1637-40. PubMed PMID: 18434892. Epub 2008/04/25.
79. Albrich WC, Harbarth S. Pros and cons of using biomarkers versus clinical decisions in start and stop decisions for antibiotics in the critical care setting. *Intensive care medicine*. 2015 Jul 21. PubMed PMID: 26194026. Epub 2015/07/22.
80. Tang Y, Huang XR, Lv J, Chung AC, Zhang Y, Chen JZ, et al. C-reactive protein promotes acute kidney injury by impairing G1/S-dependent tubular epithelium cell regeneration. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2014 May;126(9):645-59. PubMed PMID: 24206243. Epub 2013/11/12.
81. Shacham Y, Leshem-Rubinow E, Steinvil A, Keren G, Roth A, Arbel Y. High sensitive C-reactive protein and the risk of acute kidney injury among ST elevation myocardial infarction patients undergoing primary percutaneous intervention. *Clinical and experimental nephrology*. 2014 Dec 10. PubMed PMID: 25492251. Epub 2014/12/11.
82. Nie X, Wu B, He Y, Huang X, Dai Z, Miao Q, et al. Serum procalcitonin predicts development of acute kidney injury in patients with suspected infection. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*. 2013 Aug;51(8):1655-61. PubMed PMID: 23509222. Epub 2013/03/20.

83. Huang HL, Nie X, Cai B, Tang JT, He Y, Miao Q, et al. Procalcitonin levels predict acute kidney injury and prognosis in acute pancreatitis: a prospective study. *PloS one*. 2013;8(12):e82250. PubMed PMID: 24349237. Pubmed Central PMCID: PMC3862675. Epub 2013/12/19.
84. Galliera E, Tacchini L, Corsi Romanelli MM. Matrix metalloproteinases as biomarkers of disease: updates and new insights. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*. 2015 Feb;53(3):349-55. PubMed PMID: 25153404. Epub 2014/08/26.
85. Vandooren J, Van den Steen PE, Opdenakker G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9): the next decade. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*. 2013 May-Jun;48(3):222-72. PubMed PMID: 23547785. Epub 2013/04/04.
86. Helmersson-Karlqvist J, Akerfeldt T, Gunningberg L, Swenne CL, Larsson A. Serum MMP-9 and TIMP-1 concentrations and MMP-9 activity during surgery-induced inflammation in humans. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*. 2012 Jun;50(6):1115-9. PubMed PMID: 22706255.
87. Lindholm EE, Aune E, Seljeflot I, Otterstad JE, Kirkeboen KA. Biomarkers of inflammation in major vascular surgery: a prospective randomised trial. *Acta anaesthesiologica Scandinavica*. 2015 Jul;59(6):773-87. PubMed PMID: 25626738. Epub 2015/01/30.
88. Lauhio A, Hastbacka J, Pettila V, Tervahartiala T, Karlsson S, Varpula T, et al. Serum MMP-8, -9 and TIMP-1 in sepsis: high serum levels of MMP-8 and TIMP-1 are associated with fatal outcome in a multicentre, prospective cohort study. Hypothetical impact of tetracyclines. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*. 2011 Dec;64(6):590-4. PubMed PMID: 21742038. Epub 2011/07/12.

89. Muhl D, Nagy B, Woth G, Falusi B, Bogar L, Weber G, et al. Dynamic changes of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in severe sepsis. *Journal of critical care*. 2011 Dec;26(6):550-5. PubMed PMID: 21530151. Epub 2011/05/03.
90. Yazdan-Ashoori P, Liaw P, Toltl L, Webb B, Kilmer G, Carter DE, et al. Elevated plasma matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in patients with severe sepsis. *Journal of critical care*. 2011 Dec;26(6):556-65. PubMed PMID: 21439766. Epub 2011/03/29.
91. Lorente L, Martin MM, Sole-Violan J, Blanquer J, Labarta L, Diaz C, et al. Association of sepsis-related mortality with early increase of TIMP-1/MMP-9 ratio. *PloS one*. 2014;9(4):e94318. PubMed PMID: 24727739. Pubmed Central PMCID: PMC3984125. Epub 2014/04/15.
92. Martin G, Asensi V, Montes AH, Collazos J, Alvarez V, Carton JA, et al. Role of plasma matrix-metalloproteases (MMPs) and their polymorphisms (SNPs) in sepsis development and outcome in ICU patients. *Scientific reports*. 2014;4:5002. PubMed PMID: 24833564. Pubmed Central PMCID: PMC4023133. Epub 2014/05/17.
93. Wang M, Zhang Q, Zhao X, Dong G, Li C. Diagnostic and prognostic value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin, matrix metalloproteinase-9, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 for sepsis in the ED: an observational study. *Critical care (London, England)*. 2014 Nov 19;18(6):634. PubMed PMID: 25407832. Epub 2014/11/20.
94. Maitra SR, Jacob A, Zhou M, Wang P. Modulation of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in sepsis. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2010;3(3):180-5. PubMed PMID: 20827315. Pubmed Central PMCID: PMC2929943. Epub 2010/09/10.
95. Teng L, Yu M, Li JM, Tang H, Yu J, Mo LH, et al. Matrix metalloproteinase-9 as new biomarkers of severity in multiple organ dysfunction syndrome caused by trauma and infection. *Molecular and cellular biochemistry*. 2012 Jan;360(1-2):271-7. PubMed PMID: 21964536. Epub 2011/10/04.



96. Han WK, Waikar SS, Johnson A, Betensky RA, Dent CL, Devarajan P, et al. Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury. *Kidney international*. 2008 Apr;73(7):863-9. PubMed PMID: 18059454. Pubmed Central PMCID: PMC2586909. Epub 2007/12/07.
97. Duran-Bedolla J, Montes de Oca-Sandoval MA, Saldana-Navor V, Villalobos-Silva JA, Rodriguez MC, Rivas-Arancibia S. Sepsis, mitochondrial failure and multiple organ dysfunction. *Clinical and investigative medicine Medecine clinique et experimentale*. 2014;37(2):E58-69. PubMed PMID: 24690420. Epub 2014/04/03.
98. Rocha M, Herance R, Rovira S, Hernandez-Mijares A, Victor VM. Mitochondrial dysfunction and antioxidant therapy in sepsis. *Infectious disorders drug targets*. 2012 Apr;12(2):161-78. PubMed PMID: 22420514. Epub 2012/03/17.
99. Draganov D, Teiber J, Watson C, Bisgaier C, Nemzek J, Remick D, et al. PON1 and oxidative stress in human sepsis and an animal model of sepsis. *Advances in experimental medicine and biology*. 2010;660:89-97. PubMed PMID: 20221873. Epub 2010/03/12.
100. Aksu U, Demirci C, Ince C. The pathogenesis of acute kidney injury and the toxic triangle of oxygen, reactive oxygen species and nitric oxide. *Contributions to nephrology*. 2011;174:119-28. PubMed PMID: 21921616. Epub 2011/09/17.
101. Ware LB, Fessel JP, May AK, Roberts LJ, 2nd. Plasma biomarkers of oxidant stress and development of organ failure in severe sepsis. *Shock*. 2011 Jul;36(1):12-7. PubMed PMID: 21372753. Pubmed Central PMCID: 3117035.
102. Huet O, Obata R, Aubron C, Spraul-Davit A, Charpentier J, Laplace C, et al. Plasma-induced endothelial oxidative stress is related to the severity of septic shock. *Critical care medicine*. 2007 Mar;35(3):821-6. PubMed PMID: 17255877. Epub 2007/01/27.
103. Bojic S, Kotur-Stevuljevic J, Kalezic N, Jelic-Ivanovic Z, Stefanovic A, Palibrk I, et al. Low paraoxonase 1 activity predicts mortality in surgical patients with sepsis. *Disease*

markers. 2014;2014:427378. PubMed PMID: 24665146. Pubmed Central PMCID: PMC3934080. Epub 2014/03/26.

104. Annagur A, Ors R, Altunhan H, Kurban S, Konak M, Ertugrul S, et al. Total Antioxidan Level, Total Oxidan Level and Serum Paraoxonase-1 Levels in Neonatal Sepsis. *Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society*. 2014 Dec 9. PubMed PMID: 25488411. Epub 2014/12/10.

105. La Du BN. Structural and functional diversity of paraoxonases. *Nature medicine*. 1996 Nov;2(11):1186-7. PubMed PMID: 8898738.

106. Schrader C, Rimbach G. Determinants of paraoxonase 1 status: genes, drugs and nutrition. *Current medicinal chemistry*. 2011;18(36):5624-43. PubMed PMID: 22172068.

107. Devarajan A, Shih D, Reddy ST. Inflammation, infection, cancer and all that...the role of paraoxonases. *Advances in experimental medicine and biology*. 2014;824:33-41. PubMed PMID: 25038992. Pubmed Central PMCID: PMC4405152. Epub 2014/07/21.

108. Li Y, Zhai R, Li H, Mei X, Qiu G. Prognostic value of serum paraoxonase and arylesterase activity in patients with sepsis. *The Journal of international medical research*. 2013 Jun;41(3):681-7. PubMed PMID: 23637274. Epub 2013/05/03.

109. Novak F, Vavrova L, Kodydkova J, Novak F, Sr., Hynkova M, Zak A, et al. Decreased paraoxonase activity in critically ill patients with sepsis. *Clinical and experimental medicine*. 2010 Mar;10(1):21-5. PubMed PMID: 19760042.

110. Dumlu EG, Tokac M, Bozkurt B, Yildirim MB, Ergin M, Yalcin A, et al. Correlation between the serum and tissue levels of oxidative stress markers and the extent of inflammation in acute appendicitis. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*. 2014 Dec;69(10):677-82. PubMed PMID: 25518019. Pubmed Central PMCID: PMC4221314. Epub 2014/12/18.

111. Koksall H, Kurban S. Total oxidant status, total antioxidant status, and paraoxonase and arylesterase activities during laparoscopic cholecystectomy. *Clinics (Sao Paulo,*

Brazil). 2010 Mar;65(3):285-90. PubMed PMID: 20360919. Pubmed Central PMCID: PMC2845769. Epub 2010/04/03.

112. Menke H, Klein A, John KD, Junginger T. Predictive value of ASA classification for the assessment of the perioperative risk. *International surgery*. 1993 Jul-Sep;78(3):266-70. PubMed PMID: 8276556.

113. Berger MM, Marazzi A, Freeman J, Chioloro R. Evaluation of the consistency of Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE II) scoring in a surgical intensive care unit. *Critical care medicine*. 1992 Dec;20(12):1681-7. PubMed PMID: 1458946.

114. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonca A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive care medicine*. 1996 Jul;22(7):707-10. PubMed PMID: 8844239.

115. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Annals of internal medicine*. 1999 Mar 16;130(6):461-70. PubMed PMID: 10075613.

116. Richter RJ, Jarvik GP, Furlong CE. Paraoxonase 1 (PON1) status and substrate hydrolysis. *Toxicology and applied pharmacology*. 2009 Feb 15;235(1):1-9. PubMed PMID: 19071155. Pubmed Central PMCID: 3045428.

117. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical biochemistry*. 2004 Feb;37(2):112-9. PubMed PMID: 14725941.

118. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*. 2005 Dec;38(12):1103-11. PubMed PMID: 16214125.

119. Sirmatel O, Sert C, Sirmatel F, Selek S, Yokus B. Total antioxidant capacity, total oxidant status and oxidative stress index in the men exposed to 1.5 T static magnetic field. *General physiology and biophysics*. 2007 Jun;26(2):86-90. PubMed PMID: 17660581.
120. Alamdari DH, Ghayour-Mobarhan M, Tavallaie S, Parizadeh MR, Moohebat M, Ghafoori F, et al. Prooxidant-antioxidant balance as a new risk factor in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Clinical biochemistry*. 2008 Apr;41(6):375-80. PubMed PMID: 18191639.
121. Girotti MJ, Khan N, McLellan BA. Early measurement of systemic lipid peroxidation products in the plasma of major blunt trauma patients. *The Journal of trauma*. 1991 Jan;31(1):32-5. PubMed PMID: 1846013.
122. Belizon A, Kirman I, Karten M, Jain S, Whelan RL. Rapid increase in serum levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) postoperatively is associated with a decrease in the amount of intracellular MMP-9. *Surgical innovation*. 2005 Dec;12(4):333-7. PubMed PMID: 16424954. Epub 2006/01/21.
123. Volta CA, Trentini A, Farabegoli L, Manfrinato MC, Alvisi V, Dallochio F, et al. Effects of two different strategies of fluid administration on inflammatory mediators, plasma electrolytes and acid/base disorders in patients undergoing major abdominal surgery: a randomized double blind study. *Journal of inflammation (London, England)*. 2013;10(1):29. PubMed PMID: 24059479. Pubmed Central PMCID: PMC4015738. Epub 2013/09/26.
124. Martins PS, Kallas EG, Neto MC, Dalboni MA, Blecher S, Salomao R. Upregulation of reactive oxygen species generation and phagocytosis, and increased apoptosis in human neutrophils during severe sepsis and septic shock. *Shock*. 2003 Sep;20(3):208-12. PubMed PMID: 12923490.
125. Galley HF. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis. *British journal of anaesthesia*. 2011 Jul;107(1):57-64. PubMed PMID: 21596843. Epub 2011/05/21.

126. Doise JM, Aho LS, Quenot JP, Guillard JC, Zeller M, Vergely C, et al. Plasma antioxidant status in septic critically ill patients: a decrease over time. *Fundamental & clinical pharmacology*. 2008 Apr;22(2):203-9. PubMed PMID: 18353115. Epub 2008/03/21.
127. Chuang CC, Shiesh SC, Chi CH, Tu YF, Hor LI, Shieh CC, et al. Serum total antioxidant capacity reflects severity of illness in patients with severe sepsis. *Critical care (London, England)*. 2006 Feb;10(1):R36. PubMed PMID: 16507162. Pubmed Central PMCID: PMC1550865. Epub 2006/03/02.
128. Chakraborty S, Kaur S, Guha S, Batra SK. The multifaceted roles of neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) in inflammation and cancer. *Biochimica et biophysica acta*. 2012 Aug;1826(1):129-69. PubMed PMID: 22513004. Pubmed Central PMCID: PMC3362670. Epub 2012/04/20.
129. Tan RJ, Liu Y. Matrix metalloproteinases in kidney homeostasis and diseases. *American journal of physiology Renal physiology*. 2012 Jun 1;302(11):F1351-61. PubMed PMID: 22492945. Pubmed Central PMCID: PMC3774496. Epub 2012/04/12.
130. Inal V, Yamanel L, Taskin G, Tapan S, Comert B. Paraoxonase 1 Activity and Survival in Sepsis Patients. *Balkan medical journal*. 2015 Apr;32(2):183-8. PubMed PMID: 26167343. Pubmed Central PMCID: PMC4432699. Epub 2015/07/15.
131. Sans T, Rull A, Luna J, Mackness B, Mackness M, Joven J, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 and paraoxonase-1 and 3 levels in patients with sepsis treated in an intensive care unit: a preliminary report. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*. 2012 Aug;50(8):1409-15. PubMed PMID: 22868806.
132. Hazle MA, Gajarski RJ, Aiyagari R, Yu S, Abraham A, Donohue J, et al. Urinary biomarkers and renal near-infrared spectroscopy predict intensive care unit outcomes after cardiac surgery in infants younger than 6 months of age. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2013 Oct;146(4):861-7 e1. PubMed PMID: 23317940. Pubmed Central PMCID: PMC3653979. Epub 2013/01/16.

133. Parikh CR, Devarajan P, Zappitelli M, Sint K, Thiessen-Philbrook H, Li S, et al. Postoperative biomarkers predict acute kidney injury and poor outcomes after pediatric cardiac surgery. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2011 Sep;22(9):1737-47. PubMed PMID: 21836147. Pubmed Central PMCID: PMC3171944. Epub 2011/08/13.
134. Ribeiro S, do Sameiro Faria M, Mascarenhas-Melo F, Freitas I, Mendonca MI, Nascimento H, et al. Main determinants of PON1 activity in hemodialysis patients. *American journal of nephrology*. 2012;36(4):317-23. PubMed PMID: 23007074. Epub 2012/09/26.
135. Nguyen SD, Sok DE. Effect of 3,4-dihydroxyphenylalanine on Cu(2+)-induced inactivation of HDL-associated paraoxonase and oxidation of HDL; inactivation of paraoxonase activity independent of HDL lipid oxidation. *Free radical research*. 2004 Sep;38(9):969-76. PubMed PMID: 15621715. Epub 2004/12/29.
136. Alvarez-Diduk R, Galano A. Adrenaline and noradrenaline: protectors against oxidative stress or molecular targets? *The journal of physical chemistry B*. 2015 Feb 26;119(8):3479-91. PubMed PMID: 25646569. Epub 2015/02/04.
137. Dursun A, Okumus N, Erol S, Bayrak T, Zenciroglu A. Effect of Ventilation Support on Oxidative Stress and Ischemia-Modified Albumin in Neonates. *American journal of perinatology*. 2015 Aug 24. PubMed PMID: 26301964. Epub 2015/08/25.
138. Martinez-Caro L, Nin N, Sanchez-Rodriguez C, Ferruelo A, El Assar M, de Paula M, et al. Inhibition of Nitro-Oxidative Stress Attenuates Pulmonary and Systemic Injury Induced by High-Tidal Volume Mechanical Ventilation. *Shock*. 2015 Jul;44(1):36-43. PubMed PMID: 25895143. Epub 2015/04/22.
139. Sun ZT, Yang CY, Miao LJ, Zhang SF, Han XP, Ren SE, et al. Effects of mechanical ventilation with different tidal volume on oxidative stress and antioxidant in lung. *Journal of anesthesia*. 2015 Jun;29(3):346-51. PubMed PMID: 25475993. Epub 2014/12/06.



## BIOGRAFIJA AUTORA

Suzana Bojić je rođena 22. januara 1982. god. u Kruševcu gde je završila osnovnu i srednju školu. Osvojila je više nagrada na svim nivoima takmičenja iz matematike i hemije i godinama učestvovala u radu Istraživačke stanice Petnica. Proglašena je za najboljeg člaka generacije 1999./2000. u Srednjoj medicinskoj školi u Kruševcu. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu je završila novembra 2006. god., sa prosečnom ocenom 9,69. U toku osnovnih studija je učestvovala na domaćim i međunarodnim studentskim kongresima gde je, zahvaljujući istraživanju „*Olfaktorna disfunkcija u Parkinsonovoj bolesti*“ proglašena pobednikom sesije na Evropskoj studentskoj konferenciji u Berlinu 2006. god. Stažirala je na Vojnomedicinskoj akademiji u Beogradu tokom 2007. god. Stručni ispit za doktora medicine je položila 31.07.2007. god. Od decembra 2007. god. do sada je zaposlena u Službi anesteziologije i intenzivnog lečenja KBC Bežanijska kosa. Specijalistički akademski rad pod nazivom: „*Značaj određivanja Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) u urinu bolesnika sa različitim bubrežnim bolestima kao novog senzitivnog biomarkera ranih tubulskih poremećaja*“ je odbranila 06.07.2010. god. stekavši zvanje akademskog specijaliste za nefrologiju. Specijalistički ispit iz anesteziologije sa reanimatologijom je položila 29.01.2014. god sa ocenom odličan (5) postavši tako lekar specijalista anesteziologije sa reanimatologijom. Stručno se usavršavala i na studijskim boravcima u Chelsea & Westminster Hospital i Royal Brompton Hospital u Londonu kao na Odeljenju intenzivne terapije Kliničkog centra Ljubljana. Doktorske studije iz nefrologije je upisala školske 2012/2013. god.



Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписани-а Сузана Бојић

број индекса НФ-01/12

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

**„Значај раног предвиђања акутног оштећења бубрега код болесника са сепсом после хирушких интервенција“**

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 19.10.2015.

  
\_\_\_\_\_

Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске  
верзије докторског рада**

Име и презиме аутора \_\_\_\_\_ Сузана Бојић \_\_\_\_\_

Број индекса \_\_\_\_\_ НФ-01/12 \_\_\_\_\_

Студијски програм \_\_\_\_\_ Нефрологија \_\_\_\_\_

Наслов рада \_\_\_\_\_ **“Значај раног предвиђања акутног оштећења бубрега код  
болесника са сепсом после хирушких интервенција”** \_\_\_\_\_

Ментор \_\_\_\_\_ Проф. др Сања Симић-Огризовић \_\_\_\_\_

Потписани/а \_\_\_\_\_ Сузана Бојић \_\_\_\_\_

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, \_\_\_\_\_ 19.10.2015. \_\_\_\_\_



Прилог 3.

### Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

**„Значај раног предвиђања акутног оштећења бубрега код болесника са сепсом после хируршких интервенција“**

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

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

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

Потпис докторанда

У Београду, 19.10.2015.

