



**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**

**Александар М. Јевтић**

**Хипербарична оксигенација и статини у третману  
сепсе пацова**

**Докторска дисертација**

**Коментори:**

**др сци. мед. Жељко Д. Мијаиловић, редовни професор  
др сци. мед. Владимир И. Живковић, ванредни професор**

**Крагујевац, 2020. године**

# **І УВОД**

## 1.1. СЕПСА

### 1.1.1. Дефиниција сепсе

Упркос све већем броју научних сазнања у збрињавању особа оболелих од сепсе и примене адекватних терапијских модалитета, инциденца овог обољења још увек је висока у свету (1). Разлог за овакво стање наводи се постојање проблема у дефиницији са прецизним клиничким критеријумима и терапијском приступу сепсе. Такође, ово обољење представља и велики економски терет како за здравствене системе тако и за друштво у целини јер је инциденца сепсе у порасту а лечење веома скупо и неизвесно (2).

Реч сепса се помиње још од античких времена. У 4 веку пре нове ере Хипократ је увео реч сепса “*σηπω*“, што је значило труљење или распадање органске материје биљног или животињског порекла. Међутим реч сепса датира још од пре 2700 година, где се први пут спомиње у Хомеровим поемама (3).

На конференцији *American Society of Chest Physicians and Society of Critical Care Medicine*, 1991. године усвојена је прва званична дефиниција сепсе (4). На основу предложене дефиниције, сепса је представљала системски инфламаторни одговор (SIRS) изазван инфекцијом. Такође, на конференцији је био дефинисан термин тешке сепсе, септичког шока и мултипле органске дисфункције (MODS). За постављање дијагнозе сепсе потребно је да болесник поседује најмање два или више од четири SIRS критеријума.

Критеријуми за SIRS према препорукама из 1991. године (4):

- Телесна температура:
  - хипертермија (вредност ТТ > 38°C)
  - хипотермија (вредност ТТ < 36°C)
- Срчана фреквенција:  
тахикардија (> 90 откуцаја / минут)
- Фреквенција дисања:
  - хипервентилација ( $P_aCO_2 < 32 \text{ mmHg}$ )
  - тахипнеја (> 20 респирација / минут)
- Број леукоцита:
  - леукоцитоза (број леукоцита > 12.000  $\text{mm}^3$ )

- леукопенија (број леукоцита  $< 4.000 \text{ mm}^3$ )
- присуство више од 10% незрелих форми леукоцита

Тешка сепса представља сепсу удружену са дисфункцијом органа, присуством хипотензије, хипоперфузије са појавом лакатне ацидозе, олигурије или поремећаја менталног статуса. Синдром мултипле органске дисфинкције (MODS) дефинисан је као оштећење више органа или органског система када се хомеостаза не може одржати без адекватне терапијске интервенције. Док септички шок подразумева тешку сепсу удружену са перзистирајућом хипотензијом која не пролази и након адекватне надокнаде течности, уз присутне знаке хипоперфузије ткива (4).

Претходно наведене дефиниције су се користиле у свакодневној дијагнози сепсе али и као критеријуми у спровођењу великог броја научних студија које су се бавиле овом врстом тематике, са којима је настало и мишљење великог броја научних експерата, који су били критички орјентисани, да критеријуми за SIRS нису специфични само за сепсу већ и за многа не-инфективна стања као што су перитонитис, опекотине или траума. На основу наведених чињеница јавила се потреба за ревизијом и модификацијом дефиниције сепсе објављене 1991. године, тако да је 2001. године одржана друга Интернационална конференција од стране Society of Critical Care Medicine/European Society of Intensive Care Medicine/American College of Chest Physicians/American Thoracic Society/Surgical Infection Society (SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS) (5). На конференцији су се критике од стране научних експерата односиле на велику сензитивност и неспецифичност SIRS-а, незаступљене повезаности клиничких критеријумима и патофизиолошких збивања током сепсе, као и непрактичност рада како у експерименталним тако и опсервационим студијама (6, 7).

Закључак друге Интернационалне конференције од стране Society of Critical Care Medicine/European Society of Intensive Care Medicine/American College of Chest Physicians/American Thoracic Society/Surgical Infection Society (SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS), подразумевао је да постојеће дефиниције сепсе не треба мењати, већ ажурирати листу дијагностичких критеријума сепсе, који подразумевају увођење бројних лабораторијских и клиничких параметара са циљем бољег разумевања патогенезе сепсе и бољег функционисања како у свакодневној клиничкој пракси тако и у научно-истраживачком раду (5, 8) (Табела 1).

<b>ДИЈАГНОСТИЧКИ КРИТЕРИЈУМИ ЗА СЕПСУ (2001.година)</b>
<b>ОПШТИ ПАРАМЕТРИ</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Хипертермија (&gt; 38°C) или хипотермија (&lt; 36°C)</li> <li>• Тахикардија (&gt; 90 откуцаја / мин.)</li> <li>• Тахипнеја</li> <li>• Измењено ментално стање</li> <li>• Значајан едем или позитиван баланс течности (&gt;20ml/kg у 24h)</li> <li>• Хипергликемија (&gt;7,7 mmol/l) уз одсуство дијабетеса</li> </ul>
<b>ИНФЛАМАТОРНИ ПАРАМЕТРИ</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Леукоцитоза (број леукоцита &gt; 12,000 <math>\mu\text{l}^{-1}</math>) или леукопенија (&lt; 4000 <math>\mu\text{l}^{-1}</math>) или нормалан број леукоцита са више од 10 % незрелих форми</li> <li>• Ц-реактивни протеин плазме &gt; 2 стандарне девијације изнад референтног опсега</li> <li>• Прокалцитонин плазме &gt; 2 стандарне девијације изнад референтног опсега</li> </ul>
<b>ХЕМОДИНАМСКИ ПАРАМЕТРИ</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Артеријска хипотензија: <ul style="list-style-type: none"> <li>- систолни притиса &lt; 90mmHg,</li> <li>- средњи артеријски притисак &lt; 70 mmHg,</li> <li>- смањење систолног артеријског притиска &gt; 40 mmHg</li> </ul> </li> </ul>
<b>ПАРАМЕТРИ ДИСФУНКЦИЈЕ ОРГАНА</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Тромбоцитопенија (број тромбоцита &lt; 100.000 <math>\mu\text{l}^{-1}</math>)</li> <li>• Артеријска хипоксемија (<math>\text{PaO}_2/\text{FiO}_2</math> &lt; 300)</li> <li>• Поремећај коагулације (INR &gt; 1,5 или aPTT &gt; 60s)</li> <li>• Акутна олигурија (диуреза &lt; 0,5 ml/kg/h током најмање 2 сата упркос адекватној надокнада течности)</li> <li>• Повећање креатинина &gt; 0,5 mg/dl</li> <li>• Хипербилирубинемија (укупан билирубин у плазми &gt; 70 <math>\mu\text{mol/l}</math>)</li> <li>• Патолошке вредности параметара коагулације (INR &gt; 1,5 или aPTT &gt; 60s)</li> <li>• Илеус (одсуство знака перисталтике)</li> </ul>
<b>ПАРАМЕТРИ ПЕРФУЗИЈЕ ТКИВА</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Хиперлактемија (&gt; 1mmol/l)</li> <li>• Смањено капиларно пуњење</li> </ul>

**Табела 1.** Дијагностички критеријуми за сепсу према препорукама из 2001. (5) и 2012. године (8).

Дефиниција тешке сепсе није се променила значајно у односу на претходно наведену дефиницију, а представља сепсу удружену са дисфункцијом органа која се дефинише као SOFA скор тј. вредност скорa већа или једнака са 2, за систем органа чије се функције процењује (5). Улога скорa је квантификација степена дисфункције органских система на основу степена одступања вредности параметара функције датог система од референтних вредности (9).

Дефиниција септичког шока представља сепсу удружену са перзистентном хипотензијом (вредност систолног крвног притиска мањим од 90 mmHg или вредност средњег артеријског притиска мањег од 70 mmHg) која не реагује на интравенску надокнаду течности (5).

Након претходно наведених дефиниција и усавршавања знања о патогенези сепсе и на основу нових сазнања 2016. године уследила је још једна ревизија дефиниције сепсе и септичког шока (10). *European Society of Intensive Care Medicine* и *Society of Critical Care Medicine* представили су нову дефиницију сепсе, која подразумева сепсом изазвана инсуфицијенција и дисфункција органа узроковано неадекватним одговором домаћина на инфекцију. Такође повећавање SOFA скорa за 2 или више поена у односу на почетну вредност (11). Претходно наведена дефиниција је била критеријум за дефиницију тешке сепсе, тако да термин „тешка сепса,“ нестаје из употребе. Главни разлог ремисије дефиниције сепсе, је у томе што и поред укључивања клиничких и лабораторијских критеријума за SIRS из 2001. године, ни једна група параметара није била довољно ни сензитивна ни специфична за дијагнозу сепсе, а поред тога на основу многих клиничких студија доказано је да се сепса препозна по инсуфицијенцији органа а да се инфекција тек касније дијагностикује (1, 10).

Ревидирана је и дефиниција септичког шока која подразумева сепсу са перзистентном хипотензијом која захтева терапију надокнаде циркулаторног волумена како би се средњи артеријски притисак одржао на вредностима  $\geq 65$  mmHg и хиперлактемију  $> 2$  mmol/l (18mg/dl) упркос адекватној надокнади волумена (10).

Због комплексности и отежаног коришћења дефиниција сепсе у свакодневној клиничкој пракси а са циљем да се лекарима помогне да што брже идентификују пацијенте са суспектном инфекцијом и што раније посумњају на сепсу, уведен је још један скор који се назива qSOFA скор. Показатељ qSOFA скорa представља присуство било која 2 од 3 клиничка параметра. (10).

У параметре qSOFA скорa спадају:

- фреквенција дисања - тахипнеја ( $\geq 22$  респирација /минут)

- систолни крвни притисак – хипотензија ( $\leq 100$  mmHg)
- стање свести – измењено ментално стање свести  
(Глазгов кома скор  $< 15$ )

Од велике је значајности скренути пажњу да qSOFA представља помоћно дијагностичко средство у раном откривању сепсе тј. раном откривању органске дисфункције и правовременог започињања или кориговања терапије, поготово у условима ван ЈЛ-а (10, 12).

### 1.1.2. Патогенеза сепсе

Патогенеза сепсе карактерише се сложеним и динамичким реакцијама које су покренуте истовремено на различитим нивоима хомеостатских механизма, а укључују реакције имунског система, поремећаје у коагулацији, неуроендокрину активацију, промене на ендотелу и ослобађање велике количине кисеоничних радикала. Претходно наведени процеси ступају у међусобне интеракције и испољавају њихово заједничко деловање на органе и системе органа и могу довести до дисфункције механизма хипоксије, смањене ткивне потрошње кисеоника, метаболичких поремећаја, конгестије или токсичних оштећења (13).

Од сепсе најчешће оболевају особе старије доби које су склоније инфекцијама и развоју сепсе, јер поседују већи број коморбидитета и поремећаја стечене имуности као последицу старења имунског система (14, 15). Најчешћи учинци сепсе су инфекције респираторног тракта, праћене инфекцијама уринарног и гастроинтестиналног тракта, бактеријемајама непознатог извора и инфекцијама коже и меких ткива (16, 17). Истраживања су показала да су најчешћи проузроковачи сепсе грам-негативне бактерије праћене грам-позитивним бактеријама и гљивицама. Најчешће изоловане врсте међу грам-негативним бактеријама су *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и врсте рода *Klebsiella*, док у најчешће грам-позитивне бактерије спада *Staphylococcus aureus* (17).

Иницијација инфламаторног одговора код развоја сепсе започиње када дође до пробоја микроорганизама кроз епителну баријеру, где захваљујући експресији такозваних *pattern-recognition receptors (PRR)* постају препознати од стране антиген презентујућих ћелија (макрофага, моноцита и дендритичних ћелија). Улога *pattern-recognition receptors (PRR)* јесте да препознају саставне делове микроорганизама као што су бактеријски ендотоксини, пептидогликани, дволанчану РНК вируса и др., који се

једним именом називају *pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)* (18). Међутим препознавање оштећеног ткива од стране имунског система, се дешава посредством интрацелуларних протеина, односно медијатора који се ослобађају из умирлих ћелија такозвани алармини. *PAMPs* и алармини збирно се називају *damage-associated molecular patterns (DAMP)* (19, 20). У субфамилију *PRR* рецептора спадају такозвани *Toll-like 4 receptori (TLR4)* који имају круцијалну улогу у препознавању DAMP-ова и иницијацији имуног одговора (21).

Ланац патогенских збивања у сепси покренут секрецијом проинфламаторних цитокина, и то системским нерегулисаним ослобађањем проинфламаторних цитокина који доводе до генерализоване инфламаторне реакције код пацијената са синдромом мултипле органске дисфункције симболично је назван "citoкинском олујом" (22). У изазивању раног, неконтролисаног хиперинфламаторног одговора у сепси, што је и потврђено у различитим експерименталним студијама, доказане су повишене концентрације фактора некрозе тумора-алфа (*TNF- $\alpha$* ), интерлеукина 1-бета (*IL-1 $\beta$* ) и интерлеукина 6 (*IL-6*) као главних проинфламаторних цитокина (23-25). Истраживања су показала да њихове концентрације значајно корелирају са тежином клиничке слике сепсе и са смртним исходом (26). Поред претходно наведених цитокина у сепси су још укључени и про-инфламаторни цитокини секретованих од стране антиген презентујућих ћелија као што су интерлеукин 8 (*IL-8*), интерферон-гама (*IFN- $\gamma$* ), *monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)* и многи други (27).

Такође, кључну улогу у патогенези сепсе играју *-Migration inhibitory factor (MIF)* и протеин високе мобилности групе Б1– *High-mobility group box (HMGB-1)*. *Migration inhibitory factor (MIF)* пород своје проинфламаторне функције уз помоћ које врши активацију макрофага и Т- лимфоцита и стимулише урођени и стечени имуни одговор, овај молекул је повезан и са ендокриним системом. Повезаност се испољава на тај начин што у условима стреса, његову секрецију омогућава хипоталамус, предњи режањ хипофизе и надбубрежне жлезде, чиме он надвладава и антагонизује антиинфламаторне ефекте ендогених стероида (28, 29). *HMGB-1* се сматра медијатором касне фазе у сепси. Овај молекул индукује матурацију и миграцију одбрамбених ћелија на место оштећења ткива и ослобађање цитокина и других проинфламаторних медијатора, а испољава и проинфламаторно дејство на ендотел. (29).

Про-инфламаторни цитокини који иницирају септички шок, који представља неконтролисан, дисеминован инфламаторни процес, су интерлеукин 1-алфа (*IL-1 $\alpha$* ), интерлеукин 1-бета (*IL-1 $\beta$* ), фактор некрозе тумора-алфа (*TNF- $\alpha$* ), интерлеукин-8 (*IL-*



8), инфламаторни протеин макрофага (MIP)-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  и интерферон- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Такође, претходно наведени цитокини имају улогу у активацији и регрутацији неутрофила, као и мононуклеарних фагоцита, док су интерлеукин-8 (IL-8) и MIP проинфламаторни полипептидни хормони (30, 31).

Током развоја сепсе, поред проинфламаторних процеса, долази и до продукције антиинфламаторних цитокина, који могу довести до инхибиције продукције IL-1 и TNF- $\alpha$  (32). Првобитне експерименталне студије претпоставиле су да секреција антиинфламаторних цитокина следи након проинфламаторне фазе, међутим каснија испитивања показала су да се код људи тај процес дешава практично истовремено (33). Ипак, истраживачи су сагласни са чињеницом да се иницијално након контакта са патогеном доминантан проинфламаторни одговор који се карактерише симптомима повишене температуре, шока и убрзаним метаболизмом.

Према литературним подацима интензитет проинфламаторног и антиинфламаторног одговора зависи од бројних фактора укључујући старост оболелог, заступљеност коморбидитета, нутриционистичког статуса, као и од патогености узрочника (34). На основу наведених података, данашње теорије патогенезе сепсе имају тенденцију за индивидуалним приступом пацијенту оболелом од сепсе, што подразумева примену детаљних анализа које би одредиле да ли се пацијентов имуни систем у одређеном тренутку налази у фази хиперинфламације или имunosупресије, ради даље одлуке о врсти терапијског модалитета (26, 34).

### **1.1.3. Клиничка слика сепсе**

Сепса најчешће има акутни, повремено перакутни, ређе субакутни или чак хроничан ток. Потребно је посумњати на сепсу код сваког пацијента са локалном инфекцијом, који нагло добије повишену телесну температуру, грозницу, тахикардију, тахипнеју, поремећај свести и хипотензију. Ипак, септички одговор се може развијати много спорије и имати осетљивије показатеље. Неки болесници могу имати нормалну телесну температуру или су чак бити у стању хипотермије. Такође, хипервентилација је често врло користан ослонац за дијагнозу, као и дезоријентација и други знаци енцефалопатије (35).

У органе као и органски системи који су најчешће прво захваћени сепсом и где на тај начин њихови поремећаји доминирају у клиничкој слици сепсе су:

- кардиоваскуларни систем
- респираторни систем,

- јетра
- урогенитални тракт
- дигестивни тракт и
- централни нервни систем.

Клиничка слика сепсе запоћиње високом телесном температуром и дрхтавицом, да би се након тога наставили следећи клинички знаци болести као што су општа слабост, смањено уринирање, отежана респирација, губитак апетита, жеђ, анксиозност праћена узрујаношћу, поспаност, дезоријентисаност, бледило коже која је орошена хладним знојем, убрзан и мек пулс, са једва чујним срчаним тоновима, тахикардија, хипотензија (<70 mmHg) и аритмије срца.

Физичким прегледом оболелог могу се открити клинички знаци болести на готово свим органским системима, међу којима су најчешћи (36, 37):

- лумбални бол код болести бубрега, локализована осетљивост трбуха при постојању холециститиса, аднекситиса или дивертикулитиса, "загнојена" рана на кожи,
- хипертермија. Неки болесници могу имати нормалну телесну температуру или чак испод нормалних вредности,
- хипервентилација, где се аускултацијом плућа могу открити знаци плућне кондензације (септичке пнеумоније). Код најтежих облика болести може се открити постојање и едема плућа (АРДС - акутни респираторни дистрес синдром),
- тахикардија. Ако су септичким процесом захваћен валвуларни (залисци) срца може бити заступљена аритмична срчана радња, уз појаву функционалних или органских шума. Такође, знаци срчане инсуфицијенције могу бити присутни у најтежим облицима сепсе.
- хепатоспленомегалија
- поремећај менталне свести (од конфузности до губитка свести) уз различите неуролошке испаде
- оток зглоба (најчешће једног већег, ређе више зглобова),
- петехије и хематоми.

Од лабораторијских налаза уочљива је леукоцитоза са скретањем у лево, тромбоцитопенија, хипербилирубинемија, протеинурија, анемија (смањене концентрације гвожђа и трансферина). Временом како септични одговор постаје све тежи, погоршава се степен тромбоцитопеније што ће условити продужетак тромбинског времена, повећање фибриногена и присуство Д-димера што све сугерше настанак дисеминоване интраваскуларне коагулације (ДИК-а). Такође повишене су вредности Ц реактивног протеина (CRP), алфа-2-глобулина, фибриногена, убрзана седиментација што представљају реактанте акутне фазе. Хепатограм-повишене вредности аланин аминокиселинске трансферазе (ALT) и аспартат аминокиселинске трансферазе (AST). Такође заступљено присуство хипергликемије, док присуство хипогликемије је ретко. Код поремећаја бубрега биће заступљена повећана концентрација креатинина, урее, калијума, натријума и хлорида. Хипервентилација у раној сепси узроковаће респирацијску алкалозу. Даљим замарањем респираторних мишића и накупљањем лактата настаје метаболичка ацидоза (35, 37, 38).

<b>Лабораторијске анализе које је неопходно учинити код болесника оболелих од сепсе</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• седиментација еритроцита</li> <li>• комплетна крвна слика</li> <li>• Ц-реактивни протеин</li> <li>• глукоза</li> <li>• електролити (натријум, калијум, хлориди)</li> <li>• лактат у крви</li> <li>• ацидобазни статус</li> <li>• билирубин</li> <li>• аминокиселинске трансферазе</li> <li>• алкална фосфатаза</li> <li>• коагулограм</li> <li>• уреа, креатинин</li> <li>• електрофореза</li> <li>• комплетна претрага мокраће</li> <li>• лумбална пункција (у случају поремећаја свести)</li> <li>• рендгенске претраге плућа</li> <li>• ултразвук трбуха</li> <li>• ултразвук срца (у случају сумње на ендокардитис)</li> <li>• ЕКГ</li> </ul>	<p><b>Бактериолошке претраге:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• хемокултуре за аеробне и анаеробне бактерије</li> <li>• култура мокраће</li> <li>• култура ликвора</li> <li>• култура материјала (добитих из евентуалних апсцеса, култура спутума (код пнеумоније)</li> </ul>

**Табела 2.** Лабораторијске анализе које је неопходно учинити код болесника оболелих од сепсе (37).

#### 1.1.4. Дијагноза и биомаркери сепсе

Упркос развоју модерне медицине, сепса представља озбиљан здравствени и економски проблем са великом стопом морталитета. Рана дијагностика и одговарајући терапијски модалитети посебно у првим сатима од настанка сепсе могу бити од изузетно виталног значаја за пацијента.

На основу претходних разматрања о дефиницији, патогенези и клиничкој слици сепсе, неопходна је правовремена и адекватна дијагностика сепсе у циљу разликовања SIRS-а инфективне и неинфективне етиологије. Упркос великом значају у раном препознавању, сепса ипак често остаје недовољно разумљив и непрепознат проблем (39).

Да би се успоставила правилна дијагноза сепсе неопходно је доказати да је SIRS (синдром системског упалног одговора) узрокован микроорганизмима, одакле касније долази до формирања коначне дијагнозе сепсе изолацијом микроорганизама из крви или места жаришта инфекције. Такође, у дијагностици сепсе све више се истиче значај одређивања одговарајућих биомаркера који могу бити индикатори присуства или одсуства инфекције и показатељи да ли је инфекција бактеријског, вирусног или гљивичног порекла. Ако је у питању инфекција бактеријског порекла, биомаркери сепсе могу установити да ли је инфекција изазвана Грам-позитивним или Грам-негативним микроорганизмима и такође установити да ли је у питању локализована или системска инфекција (40-42). Поред наведеног, маркери сепсе могу се користити за стандардизацију примене одређених терапијских модалитета, у научно-истраживачке сврхе, у предикцији развоја компликација и леталног исхода сепсе (42, 43).

Према литературним подацима, установљено је постојање 170 различитих биомаркера сепсе из крви (пре свега серума или плазме) (40, 44).

Најчешће коришћени биомаркери у свакодневној клиничкој пракси су пре свега Ц-реактивни протеин (CRP) и прокалцитонин (PST). Поред њих битно место у детекцији сепсе имају и други биомаркери као што су интерлеукини-6 и пресепсин (40, 43, 45). Међутим, још увек није откривен биомаркер који има довољну сензитивности и специфичности у дијагностици сепсе. Литературни подаци показују да за предикцију исхода сепсе најбоље користити комбинацију различитих биомаркера (40, 45-47).

Ц-реактивни протеин (CRP) је протеин акутне фазе кога синтетишу као одговор на присуство инфекције хепатоцити, а могу и друге ћелије као што су алвеоларни макрофаги (48, 49). По саставу је гликопротеин. Као реагенс акутне инфламацијске фазе присутан је у широком опсегу код акутних и хроничних инфламација које могу

бити бактеријског, вирусног или гљивичног порекла. Такође његове повишене вредности заступљене су и код малигнитета, повреда праћених некрозом, опекотина, хирушких интервенција, инфаркта миокарда, и реуматолошких обољења (46). Ова претходно наведена стања доводе до ослобађања IL-6, IL-1 и TNF који стимулишу продукцију CRP-а. Током акутне фазе ниво CRP-а се повећава за 6-8 сати, а након 48 сати достиже свој максимум (49). Специфичност овог биомаркера у дијагнози и прогнози сепсе је спорна и ограничена, јер његова концентрација може бити повећана и у другим стањима инфламације, тако да се за дијагностику сепсе поред одређивања концентрације CRP-а одређује и вредност прокалцитонина, молекула који има већу дијагностичку вредност (44, 49).

Прокалцитонин је прекурсор хормона калцитонина који се у физиолошким условима секретује из Ц-ћелија тироидне жлезде. Код болесника са бактеријском инфекцијом и сепсом, прокалцитонин синтетишу и друга неуроендокрина ткива, као део инфламаторног одговора на инфекцију (44, 50). Синтеза прокалцитонина може бити стимулисана уносом мале количине бактеријских ендотоксина липополисахарида грам-негативних бактерија. Након настанка системске инфекције, вредности прокалцитонина почињу да расту током првих 3-6 сата и пик достиже након 8-24 часа (50). Дужина трајања синтезе прокалцитонина и врста индукције указују да је продукција прокалцитонина у корелацији са инфламаторном активацијом и односи се на стимулацију секреције проинфламаторних цитокина (51). Повишене вредности прокалцитонина не значи увек да је бактеријска инфекција, јер постије подаци да су повишене вредности забележене и код опекотина, акутног панкреатитиса, политраума (51). Док ниске вредности прокалцитонина у великом броју случајева искључују дијагнозу сепсе (40). Како су поједине студије показале да одређивање серумских концентрација прокалцитонина има значај у процени тока и исхода сепсе као и у праћењу одговора организма на започету антибиотску терапију, где пад вредности прокалцитонина указује на позитиван одговор терапије, друге студије нису потврдиле претходно наведене чињенице (45, 52-54). На основу наведених чињеница, иако прокалцитонин у свакодневной клиничкој пракси представља најчешће коришћен биомаркер за дијагностику сепсе, овај мелекул није довољно специфичан за дијагностику сепсе и има већу могућност да искључи присуство сепсе него да је идентификује (44).

Интерлеукин-6 је веома важан биомаркер у сепси посебно код неонаталне популације. Може да има проинфламаторно и антиинфламаторно дејство (55). Студијама

је показано да је концентрација интерлеукина-6 у плазми директно повезана са интра-абдоминалном сепсом као и да IL-6 показује степен повезаности запаљења и тромбозе у сепсе (56, 57). Међутим, повишене вредности интерлеукина-6 могу се поред сепсе дијагностиковати у случајима аутоимуних обољења, оштећења јетре, АИДС, лимфома, што га чини неспецифичним за маркер сепсе, те је инфериоран у односу на прокалцитонин (58, 59).

У нове биомаркере који се користе у дијагностици сепсе спада Пресепсин (60), sTREM-1 (Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1) (61), suPAR (Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor) (62), HMGB1 (High-mobility group box 1 protein) (63), MIF (Macrophage migration inhibitory factor) (64), Ангиопоетин-1 и Ангиопоетин-2 (65). Ови биомаркери сматрају се сензитивнијим и специфичнији за постављање дијагнозе сепсе у односу на прокалцитонин, ц-реактивни протеин и интерлеукин-6 (46).

Литературни подаци показују да више од 170 проучаваних биомаркера немају довољну специфичност ни сензитивност за постављање дијагнозе сепсе, одакле произилази потреба за новим истраживањима у циљу идентификације бољег дијагностичког и прогностичког показатеља сепсе или користити комбинацију биомаркера која би боље и прецизније одговорила овим захтевима (44).

### **1.1.5. Терапија сепсе и нови терапијски правци**

Основни принципи терапије сепсе захтевају хитне мере лечења локалне инфекције, омогућавање респираторне и хемодинамске подршке уз елиминацију патогеног микроорганизма. Елементи добре клиничке праксе у терапији сепсе, које је Surviving Sepsis Campaign (SSC) предложила су: рано препознавање клиничких знакова болести, контрола извора инфекције, правилна примена одговарајућег антибиотика, интравенских течности и вазоактивних лекова (66).

Антибиотску терапију започиње се одмах након узимања култивисаних узорка крви и/или из одговарајућих локалних жаришта, јер је бројним истраживањима показано да је рано започињање антибиотске терапије од кључног значаја за преживљавање тешке сепсе. Док се чекају резултати микробиолошких испитивања многи водичи сугеришу примену емпиријске антибиотске терапије унутар 3 сата или чак 1 сата од постављања сумње на сепсу (67). Ferrer R. и сарадници ретроспективном студијом показали су веома јаку крелацију између закаснеле примене антибиотика и mortalитета од сепсе. Студија је обухватила 17.990 пацијената из мултицентричне базе

података Surviving Sepsis Campaign и показала је повећање смртности са svakим сатом одлагања антибиотске терапије након постављене сумње на сепсу, које је било статистички значајно већ након 2 сата (68).

Одабир емпиријске антимикуробне терапије зависи од многих фактора као што су место и природа инфекције, хроничне органске дисфункције, удружених обољења и терапије, стања имуносупресије, присуства катетера *in situ* и места где се пацијент налазио у време развоја инфекције, јер настанак инфекције у болничким и ванболничким условима захтева различите приступе. На основу наведених података Surviving Sepsis Campaign препоручује иницијални одабир једног или више антибиотика који постижу високе концентрације у ткивима за која се сматра да су жаришта сепсе и који су довољно широког спектра да покрију све вероватно заступљене патогене (67). Предлог за примену иницијалне антибиотске терапије подразумева примену карбапенема широког спектра или пеницилина широког спектра са инхибитором бета лактамазе, док се у склопу комбиноване терапије могу применити и неки од цефалоспорина треће или четврте генерације (69).

Када се сазнају резултати микробиолошких испитивања, терапија се може поједноставити будући да је довољан један лек за лечење инфекција са познатим патогеном. Међутим код сепсе узроковане сојевима *Pseudomonas aeruginosa* тј. *Enterococcus* где је доказан антимикуробни синергизам, за терапију је индикована комбинација бактерицидних лекова. Такође, од изузетне значајности је и свакодневна процена антимикуробног режима у циљу спречавања развоја резистенције, токсичности и трошкова лечења (69).

Одстрањивање и дренажа извора инфекције јако је важна у процесу лечења сепсе посебно када се открију места прикривене инфекције, тако да смернице SSC саветују уклањање свих катетера, тубуса, васкуларних канила и њима сличних медицинских средстава, које су највероватнији извор инфекције (67, 70). Код већине случајева то се треба учинити унутар шест до дванаест сати (69).

За поновно успостављање нарушеног обезбеђивања ткива кисеоником и хранљивим материјама веома битну улогу у томе има хемодинамска подршка пацијента. С обзиром на рани пад ефективног волумена у васкуларном систему почетно лечење подразумева интравенску примену течности и то баалансиране кристалоидне растворе или слане растворе који представљају избор за иницијалну надокнаду волумена код пацијената оболелих од сепсе или септичког шока. Код пацијената који захтевају употребу значајне количине кристалоида предлаже се да се кристалоидима

додају албумини (70). Према препорукама, иницијална реанимација подразумева инфузију од 30 ml/kg кристалоида и.в.у току прва три сата од препознавања симптома сепсе (67). Такође, битно је стално праћење и одржавање централног венског притиска, а притом да се одржава диуреза и избегне могући едем плућа.

Примена вазопресора у терапији септичног шока има улогу у одржавању средњег артеријског притиска > 65 mmHg, где је норадреналин по најновијим препорукама вазопресор прве линије (67). Такође, врло често се користи допамин, који у ниским дозама има бета-адренергично дејство те повећава минутни волумен срца. Међутим, допамин се препоручује само код болесника са ниским ризиком од појаве аритмије, док се у циљу реналне протекције мале дозе допамина не препоручују (71).

Такође, у оквиру иницијалне реанимације, код пацијената са повишеним вредностима лактата, као маркером ткивне хипоперфузије, препоручује се њихова стабилизација, јер су многа истраживања показала да када је иницијална надокнада волумена била вођена вредностима лактата, смртност од сепсе је била значајно смањена (72,73).

Да би се омогућила одговарајућа оксигенација у терапији сепсе, врло често се користи примена интубације (74). Ако је достава кисеоника оштећена услед ниске концентрације хемоглобина, примењује се трансфузија еритроцита са циљем повећања капацитета крви за транспорт кисеоника (75). Препоручује се примена трансфузије еритроцита тек при вредностима хемоглобина мањим од 70 g/l (67).

Међу новијим терапијским правцима велику улогу у побољшавању исхода сепсе има примена хипербаричне коморе (ХБОТ), што су и показали у експерименталној студији *Halbach JL* и сарадници (76). Циљ студије је био да се испита да ли хипербарична оксигенација може да побољша исход сепсе код акутног експерименталног модела миша. Резултати студије су показали да је примена хипербаричне оксигенације у првом сату од индукције сепсе, резултирала са 52% преживеле животиње у поређењу са мишевима који нису имали третман (13% преживљавање).

У лечењу сепсе примена имуноглобулина је доста дуго представљала велики знак питања. Ранијим студијама је показано да се улога поликлоналних имуноглобулина Г (IvIg) у терапији сепсе односи се на неутрализацију ендотоксина, појачање фагоцитозе и модификацију ослобађања цитокина из стимулираних мононуклеарних ћелија крви. Међутим, резултати велике рандомизоване студије која се бавила применом IvIg у терапији адултне и неонаталне сепсе, показала је да IvIg не



доприносе смањењу морталитета од сепсе код одраслих особа и новорођенчади (77, 78). Према резултатима новијих истраживања препарати имуноглобулина обogaћени IgM могли би да имају предност над поликлоналним IvIg, те се у охрабрују будућа истраживања у том смеру (79).

Током последње деценије лек који се користи као један од могућности за имуномодулацију у сепси су статини, који представљају инхибиторе 3-хидрокси-3-метил-глутарилкоензим-А редуктазе (HMG-CoA). Улога статина у терапији сепсе је да смањују активацију и експресију *Toll-like receptora 4* (TLR4), смањују производњу проинфламаторних цитокина као што су IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , смањују синтезу и ослобађање слободних кисеоничних радикала и излучивање матрикс-металопротеиназа (80).

## 1.2. ХИПЕРБАРИЧНА ОКСИГЕНАЦИЈА (ХБО)

### 1.2.1. Историјат употребе хипербаричне оксигенације (ХБО)

Историја хипербаричне медицине у терапијске сврхе датира још из XVII века, када је британски свештеник *Henshaw* 1662. године конструисао претечу данашње барокоморе која је још тада била коришћена за стварање хипербаричних и хипобаричних услова. *Henshaw* је тада без чврстих доказа претпостављао да се акутни и хронични поремећаји, а посебно поремећаји дигестје и респирације, могу елиминисати повећавањем или смањењем притиска гаса (81,82).

У XVIII веку француски племић и хемичар *Antoine-Laurent de*, први објављује теорију о размени гасова где закључује да се гасови приликом дисања размењују у плућима, при чему се удахнути кисеоник замењује угљен-диоксидом док се азот избацује непромењен из организма (83). Након проналаска кисеоника од стране *Joseph Priestley* 1774. године, он први поставља сумњу и касније открива токсичне ефекте кисеоника на организам човека (84).

Године 1837. *Pravez* је конструисао прву барокомору која је по својим карактеристикама била слична савременим. Објавио је успехе лечења код следећих обољења као што су хронични ларингитис, крварење, коњуктивитис, велики кашаљ, а на основу личног искуства побољшање церебралне циркулације, након само неколико сеанси лечења (85).

Француски хирург *Fontaine* 1877. године дизајнирао је прву покретну барокомору у којој је повећавањем атмосферског притиска, повећавао количину кисеоника која се налазила у крвотоку болесника приликом давања азот-оксида као анестетика, чиме је спречавао пад нивоа кисеоника у крви, што се догађа приликом хируршких интервенција у дубокој анестезији. Нажалост, *Fontaine* је задесно умро од терапије под повишеним притиском у барокомори, где је несрећа указала колико ова терапија може бити опасна (86).

Године 1937. Почиње модерно доба хипербаричне медицине када су *Benhke i Shaw* почели да користе хипербаричну комору за лечење декомпресионе болести. Касније хипербарична оксигенација почиње да се користи и за лечење других болести као што су ране као последица радиотерапије (1955. година *Churchill u Davidson*).

Почетак званичне примене хипербаричне оксигенације у терапијске сврхе сматра се 1956. година када је холандски кардиохирург *Boerema* извео прву операцију на срцу у хипербаричној комори и тиме је промовисао у савремене медицинско-терапијске токове (87).

На нашим просторима прва хипербарична комора инсталирана је 1933. године, али због недостатка компресора и ваздушне банке није била пуштена у рад. Да би 1969. године на територији бивше Југославије на Институту за поморску медицину ратне морнарице ЈНА у Сплиту почела са радом већа рекомпресиона комора, за редовну примену хипербаричног кисеоника у клиничке сврхе, где је иницијатор и руководилац одељења био др Страцимир Гошовић. У Београду је 1974. године у КБЦ Земун, формиран први хипербарични центар у Србији, којим је тада руководио прим др Никола Деклева. Године 1993. Др Миодраг Тивковић покренуо је формирање центра за хипербаричну медицину при специјалној ортопедској болници на Бањици (88).

Уз све већи напредак и примене софистициранијих хипербаричних комора, и у корак са новим медицинским сазнањима, напредак хипербаричне медицине ће бити све већи као и индикације за примену ХБО.

### **1.2.2. Механизам дејства хипербаричне оксигенације (ХБО)**

Многа обољења и повреде, као један од манифестних патофизиолошких механизма, имају недостатак кисеоника у ткивима, односно исхемију. Терапијска и дијагностичка метода у којој пацијент у специјализованим условима удише 100% молекулски кисеоник под притиском вишим од атмосферског назива се хипербарична оксигенација (ХБОТ) (88, 89). Терапија кисеоником под повишеним притиском заснива

се на повећању парцијалног притиска кисеоника у крви чиме се превазилази хипоксија у оболелим ткивима која узрокује последично одумирање ћелија (89, 90).

Последњих четрдесет година хипербарична оксигенација је прихваћена као један од методе лечења многих интернистичких и хирушких обољења, док код неких обољења представља и једини лек. Позитивни ефекти повећања парцијалног притиска кисеоника тј. удисање 100% кисеоника у хипербаричној комори, позитивно делује на сва ткива са присутном исхемијом, имају бактерицидно и бактериостатско дејство, побољшавају циркулацију крви, имају имуносупресивни ефекат, регулишу ниво простагландина у организму, подстичу синтезу колагена вршећи регенерацију ткива и поспешује стварање калуса код прелома костију (91-93).

У складу са законима физике којима се дефинишу физиолошки принципи терапијског дејства кисеоника у хипербаричним условима, постоје две начина којима се кисеоник путем крви транспортује до ћелија. Кисеоник хемијски везан за хемоглобин који се налази у еритроцитима (црвеним крвним зрнцима) преноси га од плућа до системских крвних капиlara одакле дифузијом доспева до сваке ћелије у организму и физички растворен у крвној плазми (94, 95).

Према Henry-јевом закону који гласи да је маса гаса који ће се растворити у даатој запремини течности сразмерно пропорцијалана притиску и растворљивости гаса (95). Када се овај закон примени у случају течности организма и кисеоника, степен физички раствореног гаса у телесним течностима ће бити директно пропорционалан парцијалном притиску кисеоника којем је тај флуид изложен, одакле следи да ће сразмерно повећању притиска, којем је пацијент изложен, бити повећана и количина раствореног кисеоника у телесним течностима. У том случају ће доступност кисеоника који може дифузијом из крвне плазме да доспе до угрожених ткива и доспе до сваке ћелије, без обзира на степен оштећења крвног суда, бити значајно повећана.

На основу претходно наведеног исказа, повећавањем притиска у хипербаричној комори, расте удео физички раствореног кисеоника у крвној плазми. Тада су ткива богата кисеоником, јер је крвна плазма обогаћена великом количином физички раствореног кисеоника. Висок парцијални притисак делује на хипоксичне ћелије, јер је молекула кисеоника усмерен право на ћелије од плазме ка ткиву, захваљујући високом дифузног градијенту због повишеног тоталног притиска (96, 97).

Износ раствореног кисеоника је стандардизован и уведен под термином апсолутна атмосфера (АТА), а израчунава се као производ процента кисеоника у смеси гасова и притиска (98).

Када се удише 100% кисеоник при атмосферском притиску од једне атмосфере (20,9% кисеоника, при 1 АТА), 97% кисеоника се пренесе везан за хемоглобин путем крви. 100 ml крви садржи 15g хемоглобина. Сваки грам хемоглобина за себе може да веже 1,34 ml кисеоника, тако да при сатурацији хемоглобина од 97%, сваких 100 ml крви може да пренесе 19,4 ml кисеоника. Ово се може интерпретирати као 19,4 vol.% (95).

Када се постигне 100 % сатурација хемоглобина, сваких 100 ml крви може да пренесе 20 ml кисеоника. Како на нивоу капилара долази до преласка кисеоника у интерстицијумску течност vol.% кисеоника у венској крви опада на 14,4. Око 5 ml кисеоника транспортује се у физиолошким условима од плућа до ткива путем 100 ml крви везано за хемоглобин. Пошто се око 3% кисеоника физички растворен у плазми преноси приликом удисања ваздуха при атмосферском притиску од 1 атмосфере (1 АТА), укупна количина кисеоника износи 19,7 vol.% која се преноси у 100 ml крви (95).

Захваљујући многим истраживањима која су се бавила овом врстом тематике, успостављени су сигурносни критеријуми за клиничку примену, тако да је максимални притисак на коме човек сме да удише чист кисеоник, а да не дође до појаве последица износи 3 апсолутне атмосфере (3 АТА). Временски рок је ограничен и износи 1 сат (99, 100).

Ако се користи притисак од 3 апсолутне атмосфере (3 АТА), у 100 ml крвне плазме ће се физички растворити количина од 6,8 ml кисеоника. Ова количина кисеоника је довољна да задовољи метаболичке потребе организма у мировању при физиолошким условима. Међутим на притисцима вишим од 3 апсолутне атмосфере (3 АТА), могу се јавити конвулзије и та појава се назива „ ефекат Pola Berta“ (99, 100).

У хипербаричним условима ниво кисеоника се повећава у свим ткивима организма, што је у ствари и његова моћ лечења. Међутим, немају сва ткива исте метаболичке потребе па се самим тим захтеви за кисеоником и његовом потрошњом разликују (101). Да би се проценило терапијско дејство кисеоника у угроженом ткиву тј. да би се утврдило да ли је ниво кисеоника у одређеном ткиву задовољавајући, потребно је да се ове вредности мере.

Количина кисеоника која се допрема до ткива зависи од количине кисеоника у артеријској крви и минутног волумена срца (95). Тако да према Fik-овој хипотези количина кисеоника коју преузме целокупан организам у јединици времена једнака је

количнику минутног волумена срца и количине кисеоника коју ткива преузимају из крви.

Само дејство хипербарична оксигенације заснива се на чињеници да ће појачано снабдевање кисеоника у хипербаричним условима, појачати потрошњу кисеоника, и у условима када количина кисеоника коју преузме целокупан организам у јединици времена зависи од количина кисеоника која се допрема до ткива задовољити метаболичке потребе (98).

На основу претходно наведених чињеница потрошња кисеоника за сваки орган се може прерачунати као количник протока крви кроз дати орган и разлике између количине кисеоника у одговарајућој артерији и количине кисеоника у одговарајућим венама (98).

Фактори који утичу на парцијални притисак кисеоника у ткиву су (95):

- Капацитет крви за транспорт кисеоника
- Дифузија кисеоника из капилара до митохондрија у датом ткиву.
- Локалне енергетске потребе ткива у складу са степеном метаболизма,
- Способност кардиоваскуларног система и микроваскуларне перфузије,

Вредност парцијалног притиска кисеоника у ткиву настаје постизањем равнотеже између количине кисеоника које је ткиво преузело из крви и количине кисеоника које су ћелије искористиле за своје метаболичке потребе (102).

### **1.2.3. Индикације и контраиндикације за примену хипербаричне оксигенације (ХБО)**

Удружење за поморску и хипербаричну медицину у САД-у, познато као UHMS (Undersea and Hyperbaric Medical Society) пописало је индикације, релативне и апсолутне контраиндикације за примену хипербаричне оксигенације (103).

Индикације за терапију хипербаричном оксигенацијом могу се поделити у индикације код хитних стања, код хирушких обољења, интернистичких обољења, неуролошких обољења и обољења уха, грла и носа. У индикације за примену третмана хипербаричне оксигенације код хитних стања спадају : гасна емболија (104), тровање углен-моноксидом, димом и парама (105), декомпресиона баротрауматска и ваздушна емболија (106), опекотине (107), Краш синдром и Бласт повреде (108), гасна гангрена (109), инфекција меких ткива (110), нагло настала глувоћа и шум у уву (111), нагло настало слепило (112) и Белова пареза (113).

Код хирушких обољења индикације за примену хипербаричне оксигенације су: хронични-рефракторни остеомијалитис (114), гасна гангрена (109), опекотине, промрзLINE и смрзотине (107), асептичка некроза кука (115), незарастајући прелом костију (116), радијацијом изазвана оштећења ткива (117), масовни губитак крви (118), спорозарастајуће ране (119) и тешке повреде са поремећајем циркулације (120).

У домену интернистичких обољења, индикације за терапију хипербаричном оксигенацијом спада: дијабетесно стопало (121), чир на желуцу и дванаестопалачном цреву (122), хронична срчана инсуфицијенција (123), Кронова болест и улцерозна упала дебелог црева (124), хронична анална фисура (125) и акутна реуматска упала зглобова (116).

У индикације за примену третмана хипербаричне оксигенације код неуролошких обољења спадају: мултипла склероза (126), аутизам (127), вртоглавице, мигрене и главобоље (128), полинеуропатије (129), мождана парализа и механичке повреде мозга и кичмене мождине (130), мождани удар (131) и мождани оток као последица упале, повреде, оштећења циркулације мозга (131).

Код очних обољења индикације за примену хипербаричне оксигенације су: дијабетесна ретинопатија (134), глауком (135), изненадно слепило (112) и тромбоза средишње вене мрежњаче (136). Док код обољења уха, грла и носа у индикације за примену хипербаричне коморе спада: изненадна глувоћа и шум у уву (111), неуралгија тригеминуса (132) и вестибуларни поремећаји (133).

Апсолутне контраиндикације за терапију хипербаричном оксигенацијом спада: нелечени пнеумоторакс, кардиогени шок, нелечени метастатски малигнитет, урођена сфероцитоза, болести респираторног тракта (каверна, апсцес плућа, ваздушна емболија), повећана преосетљивост на кисеоник, употреба лекова (цис-платиниум, доксорубицин, адриамицин, блеомицин, мафениде ацетат, дисулфирам) и постојање анамнестичких података о компликацијама за време раније терапије хипербаричном оксигенацијом (103).

У релативне контраиндикације за третман хипербаричном оксигенацијом спадају: трудноћа, малигне болести, опструктивна болест плућа, фобија од затвореног простора, тежи облици хипертензивне болести, инфекције горњег респираторног тракта, епилепсија, тежи облици нарушене проходности еустахијеве тубе, носних канала и синуса, стања после оперативних захвата на грудном кошу (103).

#### 1.2.4. Потенцијално нове индикације за примену хипербаричне оксигенације у терапијске сврхе (ХБОТ)

Налази експерименталних и клиничких студија су показали да је хипербарична оксигенација данас широко прихваћена терапијска и дијагностичка метода, која се примењује у терапији великог броја обољења. Новије студије показале су да ХБОТ има изузетно велики значај у лечењу дијабетесних улцерација стопала (137, 138), побољшавању исхода након можданог удара (131, 139), инфаркта миокарда (140), некротичних инфекција меких ткива (141) и упорних остеомијалитиса (142).

У последњој деценији, ХБО има изузетно велики значај у терапији компликације шећерне болести, посебно у лечењу инфицираних незрастајућих дијабетесних рана на екстремитетима (143, 144) и превенцији ампутације екстремитета (145, 146), као сегмент мултидисциплинарног приступа у лечењу претходно наведених компликација болести.

Поред претходно наведених обољења која одлично реагују на примену ХБО терапије, такође данас ХБОТ има великог доприноса у побољшавању исхода сепсе, што су и показали у експерименталној студији *Halbach* и сарадници (76).

У последње време ХБОТ за спортске повреде мишићно-коштаног система придаје све већу пажњу. ХБОТ може омогућити повређеним спортистима да се опораве брже од уобичајених метода рехабилитације, јер данас свако смањење периода рехабилитације професионалних спортиста може бити финансијски значајно за спортске тимове највишег нивоа (147).

*Hara S.* и сарадници показали су у клиничкој студији ефикасну комбиновану примену ХБОТ, системског стероида и простагландина Е1 код пацијената са наглим идиопатским изненадним губитком слуха као одличан избор успешне терапије (148).

Такође, *Matera DV.* и сарадници наводе да хипербарична терапија кисеоником још увек није укључена као вид терапије за неуролошка стања, као што су мигрене са ауром. Они су у својој студији показали одличне резултате и захтевају додатна истраживања како би се реализирао пун потенцијал хипербаричне терапије у профилакси напада код пацијената са мигренама отпорних на ауру (149).

## 1.3. СТАТИНИ

### 1.3.1. Механизам дејства и значај статина

Статини су, до данас, најмоћнији лекови за снижавање холестерола, тј. врло ефикасни у терапији хиперхолестеролемије. Они представљају специфичне, компетитивне и реверзибилне инхибиторе HMG-CoA редуктазе (ензим који каталише кључну реакцију у синтези холестерола, претварање хидроксиетил-глутарила у мевалонат). Своје деловање статини остварују на тај начин, што се инхибицијом овог ензима смањује синтеза холестерола у јетри и повећава експресија гена за ЛДЛ рецепторе у ћелијама јетре што има за последицу повећано преузимање холестерола (ЛДЛ честица) из крви и смањење нивоа циркулишућег холестерола (150).

Историја статина почиње 1971. године када су их открили Akira Endo и Masao Kuroda из Токија. Они су били јапански биохемичари, и признати пионери истраживања инхибитора HMG-CoA редуктазе, чије је истраживање односа између гљивица и биосинтезе холестерола довело до развоја статинских лекова (151).

Статини се деле у три групе:

Природни статини - добијени ферментацијом из микроорганизама. У ту групу спада:

- Ловастатин

Полусинтетски:

- Симвастатин
- Правастатин

Синтетски статини:

- Аторвастатин
- Росувастатин
- Флувастатин
- Церивастатин

Структура статина састоји се из липофилног и хидрофилног дела. Хидрофилни део може бити у облику окси киселине или у облику  $\gamma$  лактона. У облику окси киселине је заступњен код аторвастатина, флувастатина или росувастатина, а у облику  $\gamma$  лактона код ловастатина и симвастатина. Као окси киселине су статини активни, док је лактон продруг који деловањем ензима хидролаза прелази у активни облик. Окси киселина је структурни аналог HMG-CoA редуктазе, где на тај начин омогућава да се молекул лека



компетитивно веже за активно место на ензиму, уместо HMG-CoA. Липофилни део је важан за пролазак лека кроз биолошке мембране у организму. Што је молекул липофилнији лакше пролази кроз мембране и више се дистрибуира у периферним ткивима. Повећањем хидрофилности лека смањују се нежељена дејства у периферним ткивима, а нарочито ризик од миотоксичности (150, 152).

Између статина и HMG-CoA редуктазе веза је реверзибилна, то подразумева да снижавањем холестерола у хепатоцитима долази до повећања броја ЛДЛ рецептора на површини јетре, што узрокује снижавање ЛДЛ и његових прекурсора, ЛДЛ и ВЛДЛ честица у крвотоку. Међутим, паралелно снижавањем ЛДЛ холестерола смањује се и количина триглицерида (150).

Поред поменутог дејства, статини имају улогу да смањују синтезу изопрена гера-нилгеранила и фарнезила, где се на тај анчин смањује везивање изопрена за бројне протеине плазме и спречава њихово пролиферативно дејство на глатке мишићне ћелије у зиду артерија (153).

Статини представљају групу лекова погодних за сигурну, вишегодишњу примену. Међутим, проблем у њиховој примени представљају ретка али озбиљна нежељена дејства као што су: рабдомиолиза и хемијски хепатитис. На прву појаву бола у мишићима, пацијенте треба упозорити да се јаве лекару, како би се спречио развој узнапредовале рабдиомиолизе, са ослобађањем миоглобулина и запушењем тубула бубрега, тј. развоја акутне инсуфицијенције бубрега. Такође, треба избегавати истовремену примену статина и деривата фибричне киселине јер се на тај начин повећава ризик од рабдиомиолизе (153).

На основу претходно наведених података, иако су статини лекови избора у ефикасном снижавању ниво ЛДЛ-а и први избор у терапији атеросклерозе, ипак обзиром на могућност појаве рабдиомиолизе у ретким случајевима, али са веома озбиљним последицама (154, 155), данас се све више ради на развоју нових лекова који ће деловати на различите аспекте укључене у патогенезу атеросклерозе, са што мање нежељених ефеката.

Значај статина огледа се првенствено у снижавању ЛДЛ холестерола (156) . Најефикаснији су у превенцији коронарне болести срца (157), срчаног удара (158) и цереброваскуларног инсульта (159). Поједина истраживања су показала да статини могу имати и антиинфламаторно дејство на зид крвног суда, смањујући број инфламаторних ћелија у атеросклеротском плаку (160). Такође, према литературним подацима статини

поседују и антиоксидативно дејство, тиме што снижавају ниво слободних радикала (161, 162) и смањују осетљивост ЛДЛ честица на оксидацију (163, 164).

### **1.3.2. Главне индикације за употребу статина**

Инхибитори хидроксиетил-глутарил-КоА (HMG-CoA) редуктазе или статина, снижавају укупни холестерол, липопротеин ниске густине (ЛДЛ) и триглицериде уз истовремено повећање концентрације липопротеина високе густине (ХДЛ) (150).

Лекови статина употребљавају се за лечење хиперхолестеролемије, хиперлипидотеинемије и хипертриглицеридемије као додаток исхрани и вежбању (165, 166). Примарна употреба ових лекова је у примарној и секундарној превенцији болести коронарних артерија тј. у лечењу атеросклерозе (167), профилаксе инфаркта (158, 168) миокарда и профилаксе možданог удара (159, 169).

## **1.4. ПОТЕНЦИЈАЛНИ ЗНАЧАЈ ХИПЕРБАРИЧНЕ ОКСИГЕНАЦИЈЕ У ТРЕТМАНУ СЕПСЕ**

Данас је сепса и даље водећи узрок смрти у свету. Представља главни здравствени проблем, јер се инциденца није смањивала током последњих неколико година упркос многим побољшањима у клиничкој нези пацијената и применама нових терапијских подухвата. Стога сепса остаје главни клинички изазов због недостатка успешне интервенције за лечење болести која се погоршава лошим разумевањем терапијских модалитета (170-172).

Сепса је, као и многе друге болести, производ је вишеструких фактори који заједно могу довести до негативног исхода. Код ове врсте обољења заступљене су изузетно високе концентрације про-инфламаторних цитокина посебно TNF- $\alpha$  и интерлеукина 6 (IL-6) који могу допринети високој стопи смртности код сепсе (173, 174). Експресија анти-инфламаторног цитокина 10 (IL-10), према литературним подацима има заштитни ефекат од смртности код болесника оболелих од сепсе (175, 176). Међутим, постије студије које су показале да је смртност оболелих од сепсе највећа када су концентрације и анти-инфламаторних и про-инфламаторних цитокина повишене (177, 178). Стога развој нових терапијских модалитета за лечење сепсе је од пресудног значаја.

Хипербарична оксигенација (ХБО) представља терапијску и дијагностичку методу у којој пацијент у специјализованим условима удише 100% молекулски кисеоник под притиском вишим од атмосферског. Терапија кисеоником под

повишеним притиском заснива се на повећању парцијалног притиска кисеоника у крви чиме се превазилази хипоксија у оболелим ткивима која узрокује последично одумирање ћелија (88, 89).

Иако је поље индикација за примену терапије хипербаричне оксигенације изузетно велико, данас се све чешће разматра и њен потенцијални значај у третману сепсе, што доприноси одређен број експерименталних студија које се баве овом врстом проблематике. Сепса је повезана са појачаним стварањем реактивних кисеоничних врста код оштећења ткива. Хипербарична хипероксија код сепсе има улогу у повећању антиоксидативних капацитета и побољшавању микроциркулације, што је разлог предлагања хипербаричне оксигенације у терапији сепсе (179, 180).

Као што је већ наведено, хипербарична оксигенација има потенцијално користан ефекат у погледу управљања сепсом. Добро документовани ефекти укључују такво обезбеђивање животне средине како би неутрофили могли да убију бактерије преко својих механизма зависних од кисеоника и такође појачавајући ефекте одређених антибиотика на микроорганизме, посебно анаеробне врсте (181).

*Bærnhtsen NF* и сарадници истарживали су ефекат третмана нормобаричног и хипербаричног кисеоника 24 сата од тренутка индукције сепсе на ендегену производњу про-инфламаторних цитокина интерлеукина-6 (IL-6), фактор некрозе тумора  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и анти-инфламаторног цитокина интерлеукина-10 (IL-10), тј. у овој студији оценили су одложену интервенцију хипербаричним кисеоником као метод лечења сепсе. Показали су да нема разлике у концентрацијама IL-6, TNF- $\alpha$  и IL-10 између група лечених хипербаричним или нормобаричним кисеоником током првих 72 сата од индукције сепсе. Међутим, открили су значајно већу концентрацију IL-10 у 48 сату у групи лечених хипербаричном оксигенацијом у поређењу са контролном групом. Такође, открили су значајно већу концентрацију IL-6 у 24 сату код не-преживелих у поређењу са преживелим животињама. И на крају, нису нашли разлике у стопама преживљавања између свих група који су били подвргнути одређеном третману лечења. Модел представљен у овој студији пружио је образац за даље предклиничке студије на пољу лечења сепсе хипербаричном оксигенацијом и будућа истраживања требају размотрити ранију интервенцију хипербаричним ефектом кисеоника као један од вида терапијског модалитета лечења сепсе (182).

*Halbach JL.* и сарадници су испитивали може ли терапија хипербаричном оксигенацијом побољшати исход сепсе код акутног експерименталног мишијег модела. Животиње су биле подвргнуте третману хипербаричне оксигенације 1, 6, 21 сата од

тренутка индукције сепсе. Истраживачи су дошли до закључка да животиње, након првог сата од тренутка индукције сепсе које су биле изложене ХБО третману, преживеле су 52% у поређењу са животињама које нису примале ХБО терапију (13% преживљавања). Такође, рани третман ХБО-а био је повезан са смањеном експресијом цитокина TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-10 (76).

На основу претходно наведених резултата, успех терапије хипербаричном оксигенацијом у експерименталним моделима отвара врата за његову потенцијалну употребу у лечењу људске сепсе.

## 1.5. МОГУЋА УПОТРЕБА СТАТИНА У ТЕРАПИЈИ СЕПСЕ

Успркос савременим принципима лечења и великом броју клиничких и експерименталних студија морталитет тешке сепсе и септичког шока износи 30 - 50%. (184). Данас успех у лечењу сепсе очекује се од лекова који имају могућност модулирати имунолошки одговор оболелих како би га свели на оптималне вредности. Уложена су бројна средства у истраживању кандидати за идеални имуномодулаторни лек, међутим ни један од испитиваних лекова до сада није заузео место у смерницама за лечење тешке сепсе и септичког шока.

Током последње деценије лек који се користи као један од могућности за имуномодулацију у сепси су статини, који представљају инхибиторе 3-хидрокси-3-метил-глутарилкоензим-А редуктазе (HMG-CoA). Своје примарно дејство статини остварују на тај начин, што се инхибицијом овог ензима смањује синтеза холестерола у јетри и повећава експресија гена за ЛДЛ рецепторе у ћелијама јетре што има за последицу повећано преузимање холестерола (ЛДЛ честица) из крви и смањење нивоа циркулишућег холестерола, где се овим путем смањује ризик за појаву атеросклерозе па самим тим и кардиоваскуларни морбидитет и морталитет (150). Међутим, осим учинка на синтезу холестерола, статини имају и бројне друге улоге као што је антиинфламаторно дејство, имуномодулаторно, антиоксидативно, антикоагулационо и ендотел-стабилизујуће дејство (160-164). Сепса укључује поремећаје функције на свим претходно наведеним пољима па је теоријски јасна основа позитивног учинка статина у сепси. Улога статина је и да смањују активацију и експресију *Toll-like receptora 4* (TLR4) који су одговорни за препознавање микроорганизама од стране имунолошког система. Такође, смањују производњу проинфламаторних цитокина, као што су IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , где на тај начин статини могу смањити активацију и хемотаксију упалних

станица, модулирати функцију макрофага, смањити синтезу и ослобађање слободних кисеоничних радикала и излучивање матрикс-металопротеиназа (185-188). Статини у сепси делују и антикоагулационо тиме што повећавају синтезу тромбомодулина на ендотелу и смањују синтезу ткивног фактора што доводи до смањења производње тромбина. Повећан ниво тромбомодулина може се везати за тромбин и омогућити активацију Ц реактивног протеина (CRP). Ова активација заправо активира унутрашњу антикоагулантну каскаду и потенцијал умањивања прокоагулантног учинака у сепси (189). Такође, статини стабилизују цитоскелет капиларног ендотела и чине га мање пропусним за истицање интраваскуларне течности (190).

Последњих година на ову тему објављен је већи број студија, како клиничких тако и експерименталних, али статини још нису опште прихваћени у терапији сепсе. Већина ових истраживања су углавном опсервационе студије, хетерогене, спроведене на малом броју испитаника што знатно ограничава могућност закључивања о њиховим резултатима. Такође, постоји велики број контрадикторних резултата, док поједине студије говоре у прилог позитивног деловања статина на смртност болесника са сепсом, друге пак указују да терапија статинима нема учинка на исход лечења сепсе.

*Liappis* и сарадници спровели су ретроспективну студију где су упоредили морталитет и клиничке налазе код болесника који су узимали статине и болесника који нису узимали статине за време бактеријемije. Од 388 болесника 35 је узимало статине. Установљена је значајно мања укупна стопа смртности код болесника који су узимали статине (6 %) у односу на болеснике који нису узимали статине (28 %). Такође, смртност од инфекције била је мања у групи болесника који су узимали статине (3 %) у односу на болеснике који нису узимали (20%). Истраживачи ове студије закључили су да статини имају потенцијалан значај у лечењу инфекције, али да су за потврду потребне проспективне студије (191).

У мултицентричној рандомизираној студији *Kruger P* и сарадници објавили су резултате утицаја аторвастатина код болесника с тешком сепсом. Било је укључено 250 болесника, а 123 болесника је користило статине, као једну врсту терапијског модалитета. Установљено је да су болесници који су узимали статине пре хоспитализације и били рандомизирани да добију статине имали бољу прогнозу (192).

*Wiewel MA* и сарадници објавили су проспективну опсервациону студију, где су желели да утврде повезаност претходне употребе статина код болесника критично оболелих од сепсе. У студију је било укључено 1060 пацијената са дијагностикованом сепсом, од тога 351 пацијената (33%) били су на терапији статином пре пријема.

Резултати су показали да претходна употреба статина није била повезана са модификованим одговором домаћина код пацијената са сепсом (193).

Такође, треба нагласити да су истраживања с позитивним резултатима спроведена углавном на малом броју испитаника (од 100 до 438), док су истраживања у којима није утврђена повезаност спроведена на већем броју испитаника (од 76 до 2642).

У овом тренутку, узевши у обзир досадашње резултате студија, неопходно је спровести додатна истраживања из ове проблематике. Будући да се током клиничких студија јавља велики број збуњујућих варијабли и проблеми у комуникацији са испитаницима, дизајнирање студија на анималним моделима може бити од користи.

## **1.6. КОМБИНОВАНИ ЕФЕКТИ ХИПЕРБАРИЧНЕ ОКСИГЕНАЦИЈЕ И СТАТИНА У ТРЕТМАНУ СЕПСЕ**

На основу свега изнетог до сада наслућује се да удружена употреба хипербаричне оксигенације и статина заиста може да има синергистички позитиван ефекат у терапији сепсе. Међутим, ова заједничка употреба до сада није проучавана како у експерименталним тако и у клиничким условима тако да ова чињеница доприноси оригиналности садашње студије. У доступној литератури готово да нема студија и података који се се бавили на овај начин третманом сепсе. На тај начин ова је једна од ретких, а можемо слободно рећи и прва студија која комбинује ова два терапијска модалитета у третману сепсе.

Једна од ретких експерименталних студија која није користила статине а бавила се ефектима хипербаричне оксигенације у третману сепсе је студија коју су објавили *Јевтић А.* и сарадници (194). Студија се бавила утицајем хипербаричне оксигенације на изоловано срце као и на оксидациони статус пацова са дијагнозом сепсе. Животиње су биле подељене у три групе (животиње са индукованом сепсом без ХБО третмана, животиње са индукованом сепсом са ХБО третманом и контролна група). Након жртвовања, срца животиња су ретроградно перфундована на Лангендорф апарату, при постепеном повећавању коронарног перфузионог притиска ( $CPP = 40-120 \text{ cmH}_2\text{O}$ ) и мерењем параметра срчане функције (максимална стопа промене притиска у левој комори ( $dp/dt \text{ max}$ ), минимална стопа промене притиска у левој комори ( $dp/dt \text{ min}$ ), систолни притисак леве коморе (SLVP), дијастолни притисак леве коморе (DLVP) и срчана фреквенца (HR)). Коронарни проток (CF) је мерен флоуметријски. Такође, одређивани су и маркери оксидационог стреса (нитрити ( $\text{NO}_2^-$ ), супероксид анјон

радикал ( $O_2^-$ ), водоник пероксид ( $H_2O_2$ ), индекс липидне пероксидације (TBARS), супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT) и ниво редукованог глутатиона (GSH).

Резултати студије су показали да није било статистички значајне разлике између параметара срчане функције, док је вредност коронарног протока био статистички већи у групи са сепсом. Такође вредности свих срчаних оксидационих маркера су биле ниже групи животиња које су имале сепсу и биле изложене терапији хипербаричном оксигенацијом, док су системски про-оксидациони и антиоксидациони маркери остали непромењени.

На основу претходно наведених чињеница, сарадници у овој студији дошли су до заједничког закључка да је терапија хипербаричном оксигенацијом остварила корисне ефекте на оксидациони статус у срцу пацова, али су такође и показали да ХБО третман није био повезан са побољшаном функцијом срца и коронарном перфузијом код животиња.

С обзиром да до сада није било студија које су објединиле испитивање заједничких ефеката хипербаричне оксигенације и статина у терапији сепсе, сматрали смо да је од интереса да се овакав терапијски приступ проучи. Ова идеја представља једну од главних контрибуција актуелности и оригиналности садашњег истраживања.

**II**

**ЦИЉЕВИ И**  
**ХИПОТЕЗЕ**  
**ИСТРАЖИВАЊА**



## 2.1. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

### 2.1.1. Општи циљ

Утврдити ефекте примене хипербаричне оксигенације и администрације лекова из групе статина, као и њихове комбиноване употребе на биохемијске и клиничке показатеље сепсе и стопу преживљавања пацова.

### 2.1.2. Специфични циљеви

1. Испитати ефекте примене хипербаричне оксигенације и лекова из групе статина, као и њихове комбинације на патохистолошке промене органа од интереса (срца, јетре, бубрега и мозга) код пацова са индукованом сепсом.
2. Испитати утицај примене хипербаричне оксигенације и лекова из групе статина, као и њихове комбинације на функцију срца пацова са сепсом *in vivo* и *ex vivo*.
3. Испитати ефекте примене хипербаричне оксигенације и лекова из групе статина, као и њихове комбинације на динамику редокс равнотеже пацова са сепсом: индекса липидне пероксидације (TBARS), азот монооксида - NO (у облику нитрита), супероксид анион радикала (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), водоник пероксида (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), каталазе (CAT), супероксид-дизмутазе (SOD) и редукованог глутатиона (GSH).
4. Испитати утицај примене хипербаричне оксигенације и лекова из групе статина, као и њихове комбинације на динамику прооксиданата изолованог срца пацова: индекса липидне пероксидације (TBARS), азот монооксида - NO (у облику нитрита), супероксид анион радикала (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), и водоник пероксида (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).
5. Испитати ефекте примене хипербаричне оксигенације и лекова из групе статина, као и њихове комбинације на концентрацију цитокина (IL-1, IL-6, IL-10 и TNF-α) у плазми пацова са сепсом.
6. Упоредити резултате између група и утврдити корелацију између свих поменутих параметара, тежине клиничке слике сепсе и стопе преживљавања пацова у свим групама.

## 2.2. ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА

1. Примена ХБО и лекова из групе статина, као и њихова комбинована употреба може позитивно да утиче на биохемијске и клиничке показатеље сепсе и стопу преживљавања пацова.
2. Примене ХБО и лекова из групе статина, као и њихова комбинација може да ублажи патохистолошке промене органа од интереса (срце, јетра, бубрези, плућа, мозак и танко црево) код пацова са индукованом сепсом.
3. Примене ХБО и лекова из групе статина, као и њихова комбинација може позитивно да утиче на функцију срца пацова са сепсом у *in vivo* и *ex vivo* условима.
4. Примене ХБО и лекова из групе статина, као и њихова комбинација може позитивно да утиче на маркере системског и срчаног оксидационог стреса као и на концентрацију цитокина пацова са сепсом.
5. Очекује се да ће третман ХБО и статинима као и њихова комбинација остварити бољи ефекат у терапији сепсе као и ефикаснији утицај на све поменуте патохистолошке, функционално и биохемијске параметре у односу на стандардну антибиотску терапију.

**III**

**МАТЕРИЈАЛ И**

**МЕТОДЕ**

### 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

#### 3.1. Материјал

Све супстанце, реагенси и хемикалије употребљаване у овој студији су биле највишег степена чистоће (pro analysis,  $\geq 99\%$  чистоће) са наменом коришћења у професионалним лабораторијским анализама. Произвођач целокупног поменутог материјала је *Sigma–Aldrich Chemie GmbH*, Немачка.

#### 3.2. Протокол истраживања

Истраживање је спроведено као експериментална студија на животињама и анималном материјалу *in vivo* и *ex vivo*. Сви експериментални поступци ове студије су спроведени у лабораторији за кардиоваскуларну физиологију Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. У раду са животињама су поштовани принципи етичности који се базирају на одредбама директиве Европске Уније о заштити животиња које се користе у научне сврхе број 2010/63/EU од 22.09.2010. године (*EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes 2010/63/EU*) и принципима добре лабораторијске праксе. У складу са тим студија је одобрена од стране Етичке комисије за заштиту добробити огледних животиња Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу одлуком број 01-304/2 од 15.01.2019. године.

Истраживање је обухватило 110 пацова *Wistar albino* соја, мушког пола, старости 8 недеља, просечне телесне масе око 250 грама. Све животиње су чуване у строго контролисаним условима виваријума (температура  $22\pm 1^\circ\text{C}$ , циклус светлост:тама 12:12 часова), док су вода и храна били доступни у довољној количини да би животиње могле да их узимају према потреби (*ad libitum*).

Пацови су пре отпочињања експерименталног протокола методом случајног избора били разврстани у 1 контролну и 6 експерименталних група (10 пацова по групи/подгрупи):

1. контролна група (здрави пацови)

Експерименталне групе које су чинили пацови са индукованом сепсом:

1. пацови без терапије,
2. пацови на стандардној антибиотској терапији за грам негативне и анаеробне бактерије (цефуроксим/метронидазол у дози од 10/3,5 mg/kg/дан i.p.) (195)
3. пацови на третману хипербаричном оксигенацијом (ХБО),
4. пацови на стандардној антибиотској терапији уз ХБО третман,
5. пацови на третману статинима,
6. пацови на комбинованом третману ХБО и статинима.

Група која се подвргава третману статинима била је подељена у три подгрупе у зависности од тога који су статини примењени путем интраперитонеалне једнодневне апликације након потврде сепсе:

1. пацови на третману аторвастатином у дози од 3 mg/kg,
2. пацови на третману симвастатином у дози од 5 mg/kg,
3. пацови на третману росувастатином у дози од 10 mg/kg (196, 197).

Група на третману ХБО и статинима обухватила је три подгрупе, тј. комбинацију третмана хипербаричном оксигенацијом и статинима на претходно наведен начин:

1. пацови на комбинованом третману ХБО и аторвастатином у дози од 3 mg/kg,
2. пацови на комбинованом третману ХБО и симвастатином у дози од 5 mg/kg и
3. пацови на комбинованом третману ХБО и росувастатином у дози 10 mg/kg (196, 197).

### *Индукција сепсе*

У циљу изазивања сепсе примењена је метода фекалног перитонитиса за коју је показано да поседује одговарајући степен клиничке аналогије са хуманом популацијом и изазива снажан имунски одговор специфичан за сепсу (198). Најпре је свеж фецес прикупљан од различитих пацова, затим растворен у физиолошком раствору, и потом је добијена смеша хомогенизована и филтритана кроз газу чиме је добијена тзв. Фекална суспензија. Животиње су пре апликације суспензије прво анестезиране интраперитонеалном применом комбинације кетамина и ксилазина (100mg/kg-10mg/kg), а потом им је апликовано 3ml/kg фекалне суспензије интраперитонеално.

### Процена тежине сепсе и стопе преживљавања

Ради евиденције тежине сепсе код сваке животиње је примењиван клинички систем бодовања који је раније утврђен (Табела 3) (198). Ректална температура је као један од показатеља сепсе бележена након 0, 6, 18 и 24 сата по изазивању сепсе (198). Тежина сепсе, односно системски одговор организма животиња је праћен употребом поменуте скале (Табела 3) како би се утврдио ефекат примењених терапијских процедура и њихових комбинација *in vivo*.

Осим тога пратио се и проценат преживљавања животиња. Животиње из свих група су се након потврде сепсе пратиле у наредна 72 сата након чега је следило жртвовање. Наведени експериментални протокол је литературно изабран као најоправданији (198).

**Табела 3.** Клинички скала бодовања сепсе код пацова

Клиничка карактеристика	Опсег бодовања
повијеност	0-1
надувеност	0-1
пилоерекција	0-1
смањена покретљивост	0-2
смањена будност	0-2
коњуктивална хиперимија/секреција	0-1

Систем бодовања: одсуство клиничке карактеристике (0), присуство (1), изражено присуство (2). Укупан скор од 0-3 представља умерену сепсу, а  $\geq 4$  тешку сепсу.

### *Третман хипербаричном оксигенацијом*

Хипербарична оксигенација за одговарајуће групе животиња је спровођена у специјално конструисаној хипербаричној комори за мале експерименталне животиње. Протокол излагања хипербаричном кисеонику је подразумевао излагање пацова два пута дневно (на 12 сати), током 3 дана, 100% кисеонику у трајању од 90 минута при притиску од 2,8 атмосфера, сваког дана у исто време. Поменути експериментални протокол је литературно изабран (199).



**Слика 1.** Изглед хипербаричне коморе за мале лабораторијске животиње (HYB-C 300, Словенија)

### **3.3. Биохемијски показатељи сепсе**

Поред ректалне температуре и скале са праћење појаве сепсе и њеног степена, за процену тежине сепсе су коришћени и биохемијски показатељи сепсе. Узимањем крви из репне вене након 0, 24, 42 и 72 сата од изазивања сепсе рутинским лабораторијским техникама су одређивани следећи биохемијски маркери:

1. С реактивни протеин (CRP)
2. Укупан број леукоцита
3. Релативна леукоцитарна формула
4. Прокалцитонин (PCT)

### 3.4. Испитивање *in vivo* функције срца

*In vivo* функција срца је испитивана 72 сата након индукције сепсе односно на крају експерименталног протокола (пре жртвовања) коришћењем ултразвучног апарата за мале лабораторијске животиње и сонде од 5Hz (Hewlett-Packard Sonos 5500 (Andover, MA, USA)). Добијени подаци о срчаној морфологији и функцији су били следећи параметри:

1. дебљина зида интервентрикуларног септума на крају дијастоле, као и на крају систоле (IVSd и IVSs);
2. унутрашње димензије леве коморе на крају дијастоле, као и на крају систоле (LVIDd и LVIDs);
3. дебљина задњег зида леве коморе на крају дијастоле, као и на крају систоле (LVPWd и LVPWs);
4. проценат фракционог скраћења (FS).

### 3.5. Испитивање *ex vivo* функције срца

Након жртвовања животиња и прикупљања узорака крви и органа од интереса, срце се изоловало из грудног коша и перфундовало према модификованој техници изолованог ретроградно перфундованог срца по *Langendorff*-у. Након успостављања стабилног срчаног рада при коронарном перфузионом притиску од 70 cmH<sub>2</sub>O, уклањањем леве преткоморе и прокидањем митралне валвуле омогућило се убацивање сензора (*transducer BS4 73-0184, Experimetria Ltd, Budapest, Hungary*) у леву комору ради директног и континуираног праћења параметара функције леве коморе:

1. dp/dt max - максимална стопа промене притиска у левој комори,
2. dp/dt min - минимална стопа промене притиска у левој комори,
3. SLVP - систолни притисак леве коморе,
4. DLVP - дијастолни притисак леве коморе,
5. HR - срчана фреквенца

Вредност коронарног протока (CF) се одређивала флоуметријски.

Функција миокарда и коронарна ауторегулација се испитивала при промени перфузионог притиска, почев од притиска од 60 cmH<sub>2</sub>O, затим 80 cmH<sub>2</sub>O, 100 cmH<sub>2</sub>O, 120 cmH<sub>2</sub>O и на крају 40 cmH<sub>2</sub>O, да би се коронарни притисак на исти начин опет



повећавао до вредности од 120 cmH<sub>2</sub>O (40 – 60 – 80 – 100 - 120 cmH<sub>2</sub>O). На овај начин су приликом анализе добијених података креиране две криве ауторегулаторног ранга (ауторегулаторни ранг 1-АГ 1 и ауторегулаторни ранг 2-АГ 2) које су омогућиле комплетно сагледавање понашања односно функције срца и коронарне реактивности током периода праћења. За сваку вредност перфузионог притиска регистровани су параметри функције леве коморе и мерен је коронарни проток.

### ***3.6. Биохемијски показатељи оксидационог стреса***

#### *Одређивање вредности срчаних биомаркера оксидационог стреса*

У прикупљеним узорцима коронарног венског ефлуента приликом сакупљања коронарног протока, за сваку вредност перфузионог притиска, спектрофотометријским методама су одређивани следећи биомаркери оксидационог стреса:

1. индекс липидне пероксидације - мерен као TBARS (200)
2. азот моноксид у форми нитрита (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) (201)
3. супероксид анјон радикал (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) (202)
4. водоник пероксид (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (203)

#### *Одређивање вредности системских биомаркера оксидационог стреса*

Приликом жртвовања животиња прикупљани су узорци крви за процену системског редокс статуса, путем спектрофотометријског мерења вредности про-оксидационих параметара (TBARS-а, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (200-203) и компоненти антиоксидационог система заштите: каталаза (CAT), супероксид дисмутаза (SOD) и редуковани глутатион (GSH) (204-206).

Сви поменути параметри срчаног и системског оксидационог стреса су мерени на спектрофотометар апарату марке Shimatzu UV-1800, Јапан.

### ***3.7. Патохистолошка испитивања органа од интереса***

Као што је поменуто, приликом жртвовања животиња су се поред крви изоловали и сакупљали следећи органи од интереса за студију: јетра, бубрези, плућа, мозак и танко црево. Препрат срца је узиман непосредно након завршеног испитивања

на *Langendorff* апарату. Потом су уследили поступци припреме за патохистолошке анализе. Сви органи су фиксирани у 4% пуферизованом формалину и након тога постављени у парафинске калупе. Уследило је микротомско сечење пресека дебљине 4 микрона и бојење хематоксилином/еозином и хематоксилин/еозин/флоксином. Добијени патохистолошки препарати су потом прекривани покровним стаклом, сушили се и на крају анализирани под светлосним микроскопом (BX51, Olympus, Japan).

### **3.8. Одређивање вредности биомаркера инфламације**

Након жртовања, из узорака крви су се поред свих поменутих маркера уз помоћ ELISA есеја употребом стандардних комерцијалних ELISA китова за анималне узорке одређивале вредности следећих цитокина: интерлеукина (IL-1, IL-6, IL-10) и фактора некрозе тумора  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Сва мерења су спроведена на ELISA читачу (UT-2100C, MRC Ltd, Израел).

### **3.9. Статистичка обрада података**

За статистичку обраду резултата је употребљаван статистички програм *SPSS 18.0 for Windows* коришћењем анализе варијанси (ANOVA) са статистичком значајношћу  $p < 0,05$ . За испитивање нормалности расподеле коришћени су *Kolmogorov Smirnov* и *Shapir Wilk* тестови. За утврђивање статистички значајне разлике између група коришћен је *Bonfferoni*-јев тест.

# **IV**

# **РЕЗУЛТАТИ**

### 1. 4. 1. ПРОЦЕНА ТЕЖИНЕ СЕПСЕ И СТОПЕ ПРЕЖИВЉАВАЊА

У овом делу истраживања процењивана је тежине сепсе као и стопа преживљавања пацова са индукованом сепсом. Спроведена је и анализа ректалне температуре која је мерена у различитим тренуцима.

#### 4.1.1. Процена тежине сепсе

На основу претходно утврђеног клиничког система бодовања (Табела 4) забележена је тежина сепсе за сваку групу. На основу резултата може се видети да најмањи скор поседује експериментална група на терапији антибиотицима и на основу скорa можемо закључити да је то једина експериментална група са умереним обликом сепсе. Све остале групе се сврставају у групе са тешким обликом сепсе.

Табела 4. Просечни скор на скали сепсе за групе са индукованом сепсом

Процена тежине сепсе		
Тренутак мерења	0h	72h
Сепса	6,5 ± 1,0	6,5 ± 0,5
Сепса+ХБО	6,0 ± 0,5	4,5 ± 0,5
Сепса+антибиотици	7,0 ± 1,5	3,5 ± 0,5
Сепса+антибиотици+ХБО	6,5 ± 1,5	4,0 ± 1,5
Сепса+аторвастатин	5,5 ± 1,0	6,0 ± 1,0
Сепса+симвастатин	5,0 ± 1,0	5,5 ± 0,5
Сепса+росувастатин	5,5 ± 1,0	6,5 ± 1,0
Сепса+аторвастатин+ХБО	7,0 ± 1,5	6,5 ± 0,5
Сепса+симвастатин+ХБО	6,5 ± 1,5	6,0 ± 1,0
Сепса+росувастатин+ХБО	5,0 ± 1,0	6,0 ± 1,5

Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација (X ± SD).

ХБО – хипербарична оксигенација.

#### 4.1.2. Стопа преживљавања

На основу стопе преживљавања пацова са индукованом сепсом можемо закључити да највећи проценат преживљавања поседује група пацова које је на терапији антибиотицима. Најмањи степен преживљавања забележен је у групи која је на терапији аторвастатином (Табела 5).

Табела 5. Стопа преживљавања (%) животиња

Стопа преживљавања (%)	
Сепса	81
Сепса+ХБО	85
Сепса+антибиотици	96
Сепса+антибиотици+ХБО	91
Сепса+аторвастатин	84
Сепса+симвастатин	86
Сепса+росувастатин	88
Сепса+аторвастатин+ХБО	87
Сепса+симвастатин+ХБО	86
Сепса+росувастатин+ХБО	85

ХБО – хипербарична оксигенација.

#### 4.1.3. Ректална температура

У Табели 6. приказане су просечне вредности ректалне температуре пацова у 0, 6, 18 и 24-ом часу од индуковања сепсе. Као што се може приметити, постоји тренд пада телесне температуре од момента инјектовања фекалне суспензије за изазивање сепсе преко 6, 18 и 24-ог часа од индукције, што потврђује хипотермично стање

животиња и модел сепсе у свим експерименталним групама. Очекивано, постоји статистички значајна разлика између измерене температуре здравих животиња (контролне групе) и свих експерименталних група у 24-ом часу од индуковања сепсе. Између експерименталних група није уочена статистички значајна разлика ни у једном тренутку мерења.

**Табела 6.** Просечне вредности измерене ректалне температуре (°C) 0, 6, 18 и 24 часа од индукције сепсе.

<b>Ректална температура (°C)</b>				
<b>Тренутак мерења</b>	<b>0h</b>	<b>6h</b>	<b>18h</b>	<b>24h</b>
<b>Контролна група</b>	36,2±0,2	36,1±0,2	36,1±0,2	36,2±0,2
<b>Сепса</b>	36,5±0,1	37,1±0,3	37,9±0,2	38,5±0,5 *
<b>Сепса+ХБО</b>	36,2±0,2	36,7±0,3	36,3±0,2	35,4±0,5 *
<b>Сепса+антибиотици</b>	36,1±0,4	36,5±0,4	36,83±0,4	35,8±0,9 *
<b>Сепса+антибиотици+ХБО</b>	36,4±0,1	36,1±0,6	35,8±0,6	35,4±0,1 *
<b>Сепса+аторвастатин</b>	36,2±0,2	35,8±0,2	35,6±0,4	35,5±0,1 *
<b>Сепса+симвастатин</b>	36,7±0,2	36,2±0,2	35,72±0,8	35,6±0,2 *
<b>Сепса+росувастатин</b>	36,0±0,4	35,6±0,1	35,33±0,6	34,9±0,2 *
<b>Сепса+аторвастатин+ХБО</b>	36,3±0,3	35,5±0,3	35,3±0,3	34,6±0,7 *
<b>Сепса+симвастатин+ХБО</b>	36,8±0,2	36,5±0,3	36,12±0,5	35,9±0,4 *
<b>Сепса+росувастатин+ХБО</b>	36,4 ± 0,3	35,9±0,5	35,6±0,3	34,9±0,6 *

Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација ( $X \pm SD$ ).

\*статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$  у односу на контролну групу. ХБО – хипербарична оксигенација.

## 4.2 БИОХЕМИЈСКИ ПОКАЗАТЕЉИ СЕПСЕ

### 4.2.1. С реактивни протеин (CRP)

У Табели 7 приказане су средње вредности измереног С реактивног протеина у свим испитиваним групама и то: у моменту индукције сепсе, након 24h, 48h и 72h тј. у моменту жртвовања животиња. Терапија сепсе антибиотицима, као и комбинацијом антибиотика са хипербаричном оксигенацијом индуковала је статистички значајно смањење CRP-а у односу на контролну групу, док је у свим осталим експерименталним групама дошло до значајног повећања овог маркера. Такође, у групама животиња третираних антибиотицима самостално и у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом значајно су се смањиле вредности CRP-а у моменту жртвовања у односу на почетни моменат, индукцију сепсе. У осталим експерименталним групама није дошло до значајних промена између поменутих тренутака мерења.

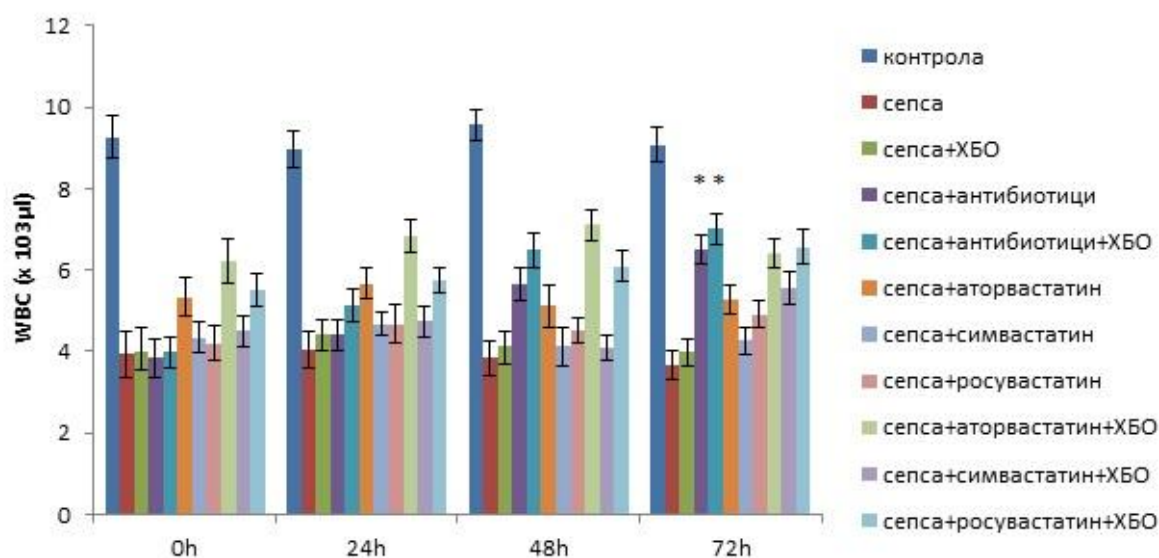
**Табела 7.** Просечне вредности измереног С реактивног протеина пре индуковања сепсе и након 24, 48 и 72h од индукције сепсе.

Тренутак мерења	С реактивни протеин (CRP ng/ml)			
	0h	24h	48h	72h
Контролна група	297,35±17,32	314,12±19,55	301,63±26,01	325,74±23,46
Сепса	488,25±17,14	502,86±20,20	514,20±22,53	527,86±20,67*
Сепса+ХБО	531,44±11,14	556,45±23,12	571,30±24,35	563,24±27,70*
Сепса+антибиотици	479,87±15,15	441,35±21,04	381,23±18,23	302,12±26,60**
Сепса+антибиотици+ХБО	501,58±14,89	483,24±25,41	380,10±27,21	294,18±20,51**
Сепса+аторвастатин	524,32±27,25	499,12±30,12	490,05±28,10	510,42±24,30*
Сепса+симвастатин	564,21±31,00	584,23±32,24	574,24±33,01	589,56±33,41*
Сепса+росувастатин	553,21±29,18	562,00±30,01	544,41±27,01	570,12±32,11*
Сепса+аторвастатин+ХБО	567,10±23,54	590,30±29,12	612,30±35,46	598,24±37,70*
Сепса+симвастатин+ХБО	512,30±33,88	552,00±40,74	569,54±45,35	588,24±38,10*
Сепса+росувастатин+ХБО	524,58±28,77	499,74±30,33	512,41±31,74	533,18±28,19*

Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*статистички значајна разлика у односу на контролну групу на нивоу  $p < 0,05$ ; ¶ статистички значајна разлика између 0 и 72h унутар групе на нивоу  $p < 0,05$ ; ХБО – хипербарична оксигенација.

#### 4.2.2. Апсолутна и релативна леукоцитарна формула

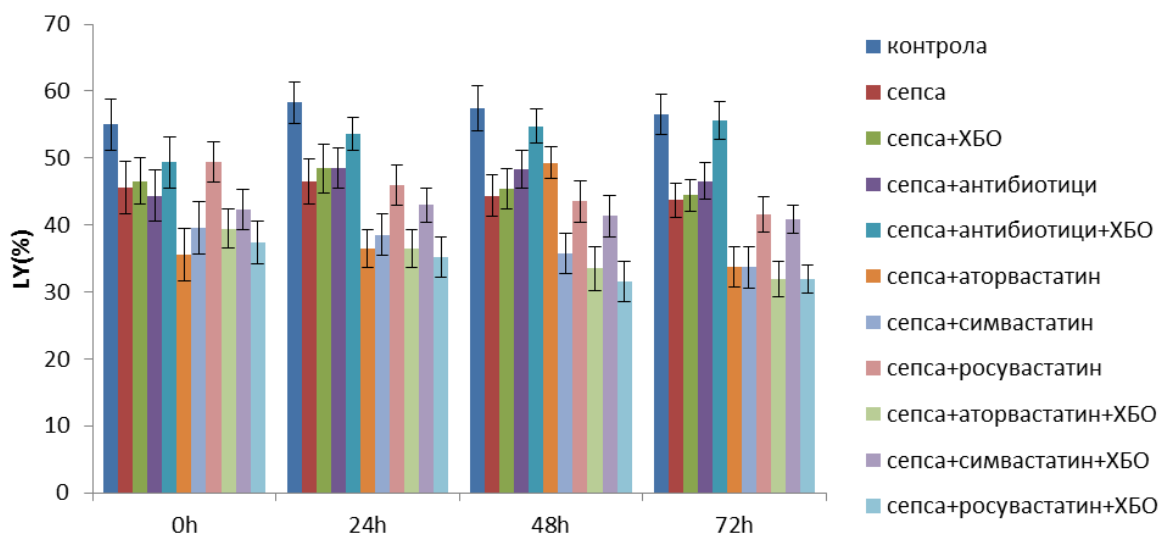
Укупан број леукоцита значајно је смањен у свим експерименталним групама у односу на контролну групу. Поређећи број леукоцита у тренутку индуковања сепсе (0h) и тренутку жртвовања (72h) примећена је статистички значајно повећање броја леукоцита у групама које су третиране антибиотицима, самостално и у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом.



**График 1.** Укупан број леукоцита. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \* представља статистички значајно повећање укупног броја леукоцита у 72h у односу на 0h на нивоу  $p < 0,05$ . ХБО-хипербарична оксигенација

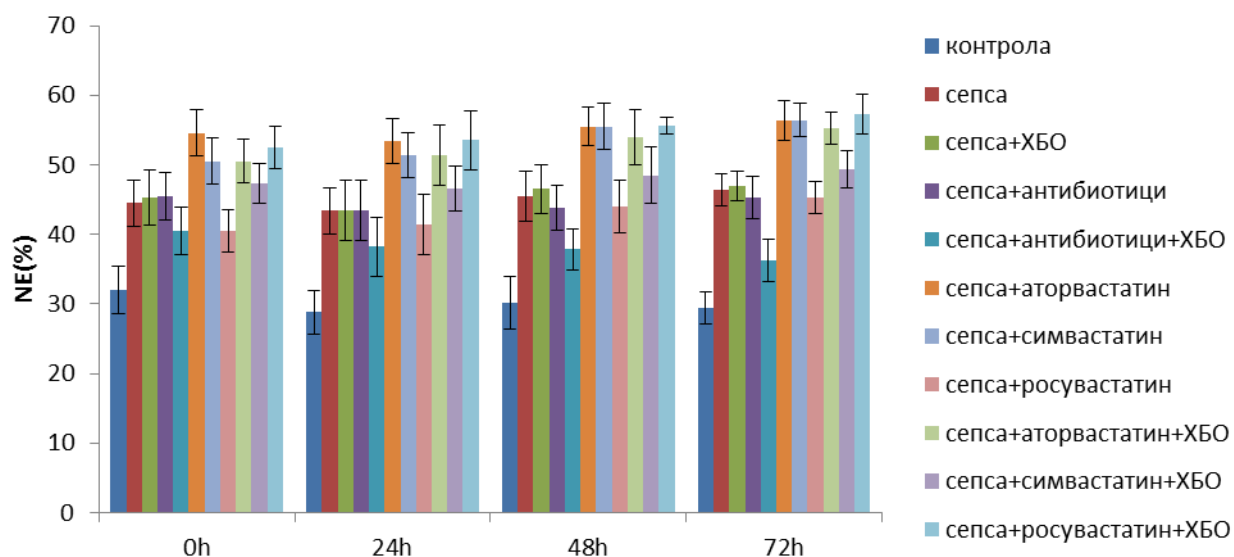
Број лимфоцита је смањен у свим експерименталним групама у односу на контролну групу. Поређећи број лимфоцита у тренутку индуковања сепсе (0h) и тренутку жртвовања (72h) није примећена статистички значајна разлика.





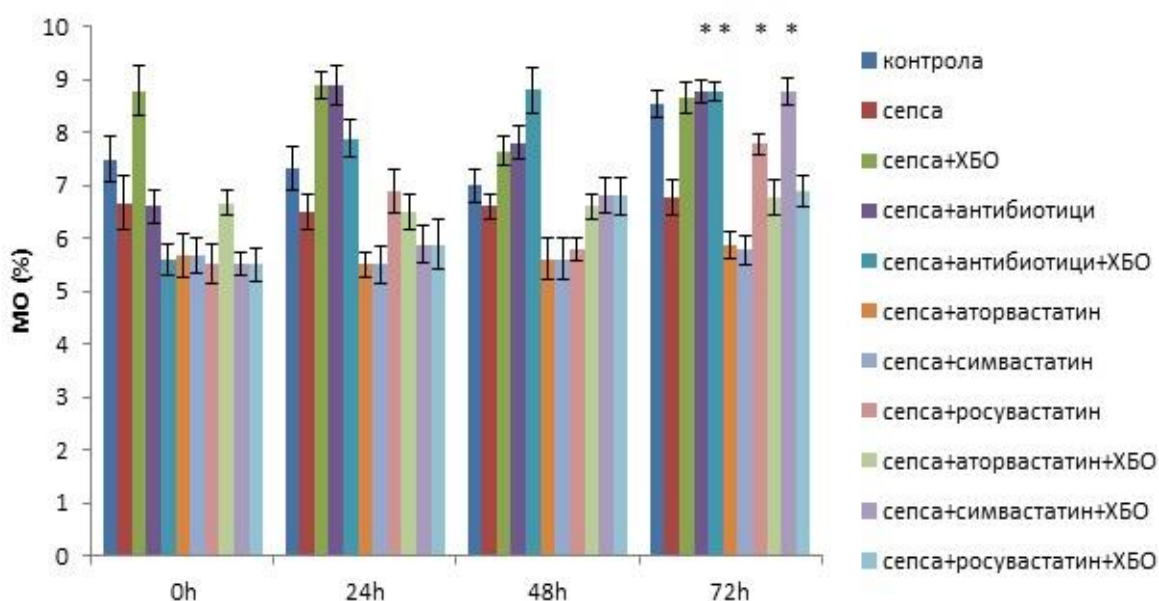
**График 2.** Број лимфоцита изражен у %. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО-хипербарична оксигенација

Број неутрофила је значајно повишен у свим експерименталним групама у односу на контролну групу. Поређећи број неутрофила у тренутку индуковања сепсе (0h) и тренутку жртвовања (72h) није примећена статистички значајна разлика.



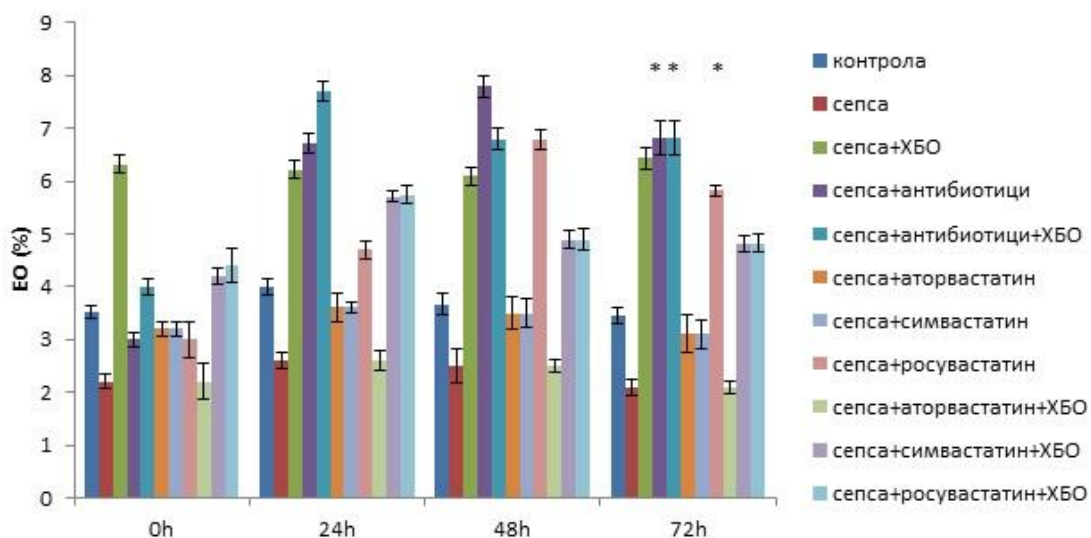
**График 3.** Број неутрофила изражен у %. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО-хипербарична оксигенација

Поређећи број моноцита у тренутку индуковања сепсе (0h) и тренутку жртвовања (72h) примећено је статистички значајно повећање броја моноцита у групама које су третиране антибиотицима, како самостално, тако и у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом. Такође значајно повећање броја моноцита примећено је у групама које су третиране росувастатином као и комбинацијом симвастатина и хипербаричне оксигенације.



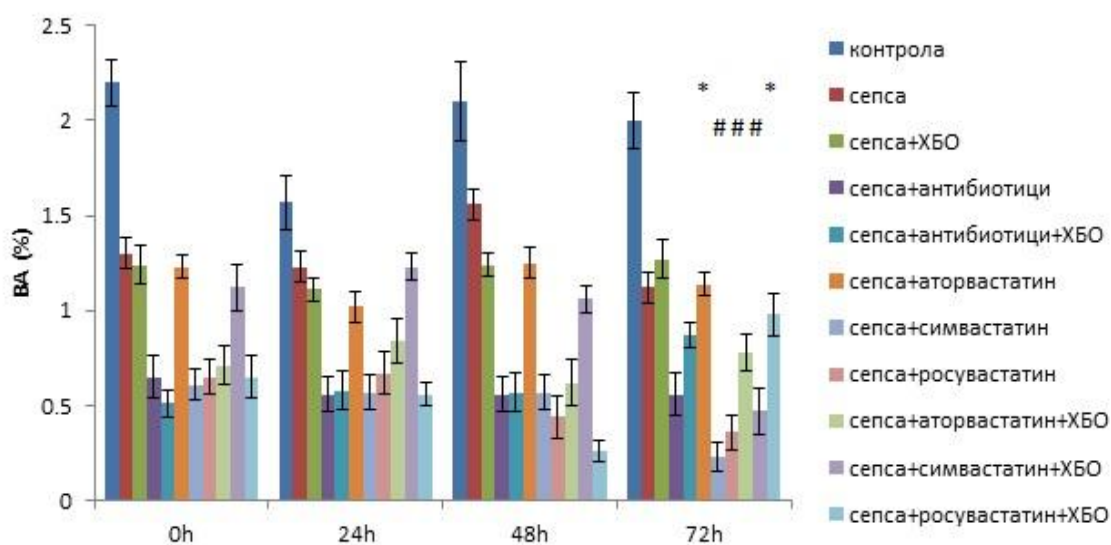
**График 4.** Број моноцита изражен у %. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \* представља статистички значајно повећање броја моноцита у 72h у односу на 0h на нивоу  $p < 0,05$ . ХБО-хипербарична оксигенација

Поређећи број еозинофила у тренутку индуковања сепсе (0h) и тренутку жртвовања (72h) примећено је статистички значајно повећање броја еозинофила у групама које су третиране антибиотицима, како самостално, тако и у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом. Такође значајно повећање броја еозинофила примећено је у групи које су третиране росувастатином.



**График 5.** Број еозинофила изражен у %. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \* представља статистички значајно повећање броја еозинофила у 72h у односу на 0h на нивоу  $p < 0,05$ . ХБО-хипербарична оксигенација

Број базофила је значајно снижен у свим експерименталним групама у односу на контролну групу. Поредећи број базофила у тренутку индуковања сепсе (0h) и тренутку жртвовања (72h) примећено је статистички значајно повећање броја базофила у групи која су третирана антибиотицима као и у групи натретману росувастатином и хипербаричном оксигенацијом. Са друге стране значајно снижење броја базофила у 72h примећено је у групама које су на третману симвастатином, самостално, и у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом. У групи која је третиране росувастатином такође је примећено значајно смањење боја базофила.



**График 6.** Број базофила изражен у %. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \* представља статистички значајно повећање броја базофила у 72h у односу на 0h, # представља статистички значајно смањење броја базофила у 72h у односу на 0h на нивоу  $p < 0,05$ . ХБО-хипербарична оксигенација

#### 4.2.3. Прокалцитонин (PCT)

Очекивано ниске вредности инфламаторног показатеља сепсе прокалцитонина, измерене су у контролној групи здравих нетретираних животиња, док је значајан пораст овог параметра уочен у свим експерименталним групама животиња оболелих од сепсе. Третман антибиотцима, самостално и у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом довео је до значајног пада концентрације прокалцитонина у моменту жртвовања (72 час) у односу на почетак експеримента (0 час). Додатно, измерене вредности PCT-а у овим двама групама приближне су вредностима контролне групе здравих животиња ( $p > 0,05$ ).

**Табела 8.** Просечне вредности измереног прокалцитонина пре индуковања сепсе, након 24, 48 и 72 часа од индукције сепсе.

Тренутак мерења	Прокалцитонин (PCT pg/ml)			
	0h	24h	48h	72h
<b>Контролна група</b>	80,11 $\pm$ 9,15	84,46 $\pm$ 10,11	79,86 $\pm$ 9,88	76,35 $\pm$ 10,84
<b>Сепса</b>	178,12 $\pm$ 22,47	189,74 $\pm$ 24,21	207,32 $\pm$ 23,18	200,54 $\pm$ 28,21*
<b>Сепса+ХБО</b>	210,22 $\pm$ 20,18	224,63 $\pm$ 22,45	237,14 $\pm$ 26,34	216,74 $\pm$ 23,63*
<b>Сепса+антибиотици</b>	192,34 $\pm$ 24,21	163,14 $\pm$ 21,42	121,47 $\pm$ 22,20	87,24 $\pm$ 18,21 <sup>†</sup>
<b>Сепса+антибиотици+ХБО</b>	198,12 $\pm$ 25,18	172,24 $\pm$ 23,52	131,61 $\pm$ 26,45	101,18 $\pm$ 23,12 <sup>†</sup>
<b>Сепса+аторвастатин</b>	184,47 $\pm$ 27,15	190,44 $\pm$ 26,11	178,41 $\pm$ 23,48	170,14 $\pm$ 24,31*
<b>Сепса+симвастатин</b>	212,56 $\pm$ 18,41	230,33 $\pm$ 25,22	222,39 $\pm$ 21,28	208,28 $\pm$ 27,14*
<b>Сепса+росувастатин</b>	242,25 $\pm$ 30,52	234,28 $\pm$ 27,36	224,14 $\pm$ 28,71	250,04 $\pm$ 30,25*
<b>Сепса+аторвастатин+ХБО</b>	190,56 $\pm$ 20,17	199,36 $\pm$ 24,25	204,33 $\pm$ 27,63	200,11 $\pm$ 26,11*
<b>Сепса+симвастатин+ХБО</b>	202,47 $\pm$ 27,13	204,11 $\pm$ 28,31	194,33 $\pm$ 30,42	210,13 $\pm$ 25,34*
<b>Сепса+росувастатин+ХБО</b>	231,17 $\pm$ 29,18	244,74 $\pm$ 30,12	222,25 $\pm$ 26,32	216,32 $\pm$ 24,75*

Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ).  
 \*статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$  у односу на контролну групу. ХБО – хипербарична оксигенација.

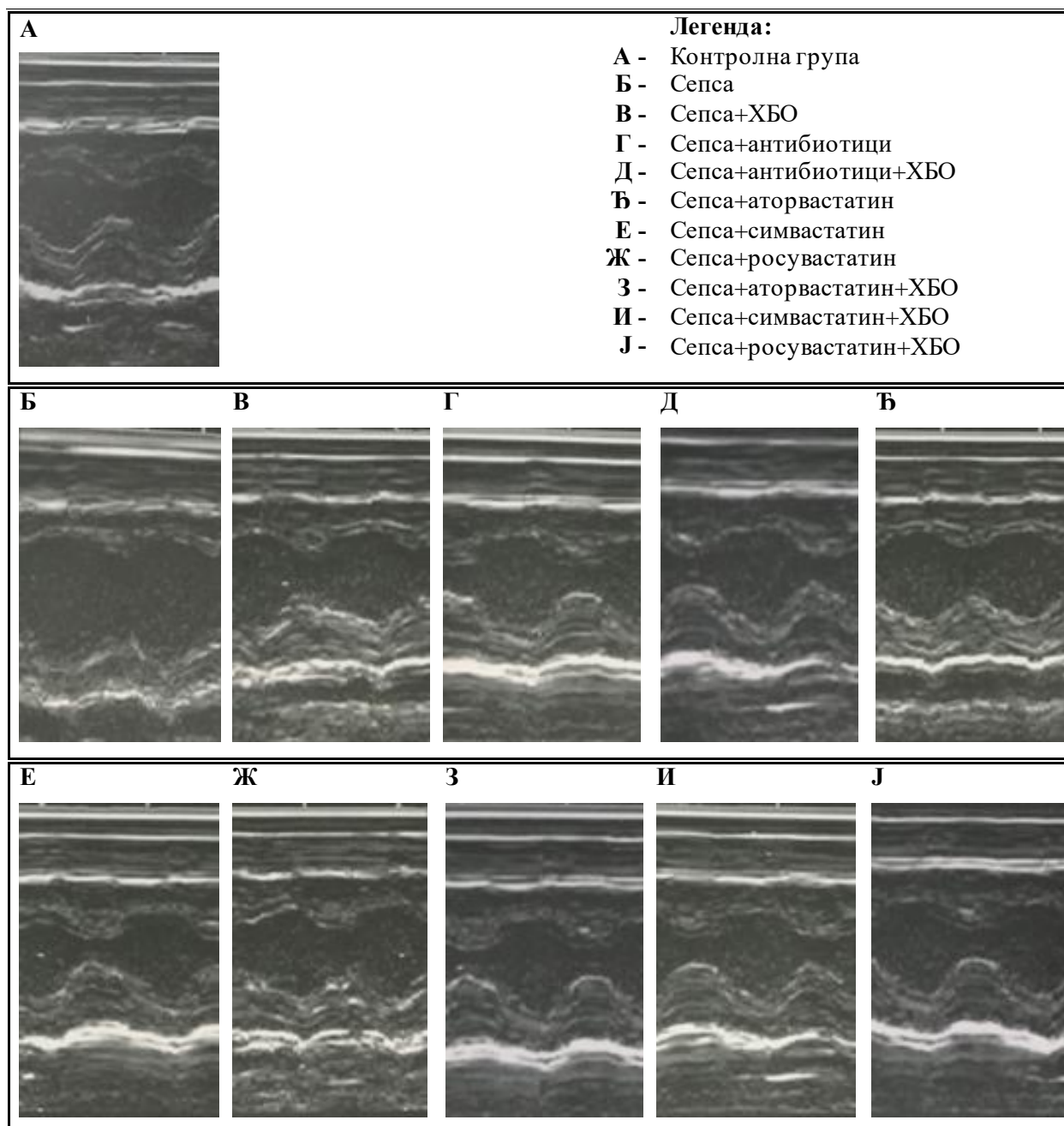
#### 4.3. ИСПИТИВАЊЕ *IN VIVO* ФУНКЦИЈЕ СРЦА

У табели 9. као и на слици 2. (А-Ј), приказани су ефекти различитих терапија сепсе на *in vivo* праћену срчану функцију. Терапија 100% кисеоником (ХБО) самостално, или у комбинацији са антибиотиком, или неким од испитиваних лекова из групе НМГ-инхибитора (аторвастатин, симвастатин, росувастатин), није значајно утицала на испитиване параметре срчане функције. Поред тога, значајније разлике између примењиваних терапија, нису забележене.

**Табела 9.** Просечне вредности параметара срчане функције праћене *in vivo* на ехокардиограму.

Функција срца праћена <i>in vivo</i>							
(mm)	IVSd	LVIDd	LVPWd	IVSs	LVIDs	LVPWs	FS (%)
<b>Контролна група</b>	2.4 $\pm$ 0.2	4.8 $\pm$ 0.4	2.0 $\pm$ 0.2	3.9 $\pm$ 0.4	2.1 $\pm$ 0.2	3.3 $\pm$ 0.3	60.5 $\pm$ 4.3
<b>Сепса</b>	2.1 $\pm$ 0.1	4.0 $\pm$ 0.7	1.9 $\pm$ 0.1	3.6 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.4	3.0 $\pm$ 0.1	57.2 $\pm$ 3.2
<b>Сепса+ХБО</b>	2.0 $\pm$ 0.2	4.3 $\pm$ 0.6	2.1 $\pm$ 0.2	3.7 $\pm$ 0.2	2.4 $\pm$ 0.3	3.2 $\pm$ 0.2	54.9 $\pm$ 4.1
<b>Сепса+антибиотици</b>	2.3 $\pm$ 0.3	5.3 $\pm$ 0.5	2.2 $\pm$ 0.4	3.6 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.2	3.6 $\pm$ 0.3	53.5 $\pm$ 6.2
<b>Сепса+антибиотици+ХБО</b>	2.3 $\pm$ 0.3	5.1 $\pm$ 0.4	2.4 $\pm$ 0.6	4.3 $\pm$ 0.6	2.2 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.8	54.8 $\pm$ 5.2
<b>Сепса+аторвастатин</b>	1.9 $\pm$ 0.1	5.0 $\pm$ 0.6	1.9 $\pm$ 0.3	4.1 $\pm$ 0.5	2.0 $\pm$ 0.3	3.1 $\pm$ 0.4	55.5 $\pm$ 4.0
<b>Сепса+симвастатин</b>	1.9 $\pm$ 0.3	4.4 $\pm$ 0.5	1.9 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.3	2.2 $\pm$ 0.4	3.3 $\pm$ 0.2	56.1 $\pm$ 4.3
<b>Сепса+росувастатин</b>	1.8 $\pm$ 0.3	4.5 $\pm$ 0.4	1.9 $\pm$ 0.2	3.9 $\pm$ 0.3	2.4 $\pm$ 0.3	3.1 $\pm$ 0.3	55.8 $\pm$ 6.7
<b>Сепса+аторвастатин+ХБО</b>	2.0 $\pm$ 0.2	5.3 $\pm$ 0.4	2.0 $\pm$ 0.2	3.5 $\pm$ 0.6	2.3 $\pm$ 0.3	3.0 $\pm$ 0.5	58.3 $\pm$ 4.6
<b>Сепса+симвастатин+ХБО</b>	1.9 $\pm$ 0.4	5.0 $\pm$ 0.5	2.1 $\pm$ 0.3	3.9 $\pm$ 0.4	2.1 $\pm$ 0.2	3.1 $\pm$ 0.4	57.9 $\pm$ 4.2
<b>Сепса+росувастатин+ХБО</b>	2.0 $\pm$ 0.3	4.8 $\pm$ 0.6	1.9 $\pm$ 0.5	4.1 $\pm$ 0.5	2.3 $\pm$ 0.4	3.2 $\pm$ 0.5	56.2 $\pm$ 4.5

Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ).  
 \*статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$  у односу на контролну групу. ХБО – хипербарична оксигенација.



**Слика 2.** Репрезентативни прикази функције срца у свим испитиваним групама пацова, забележени у М-моду ехокардиограма.

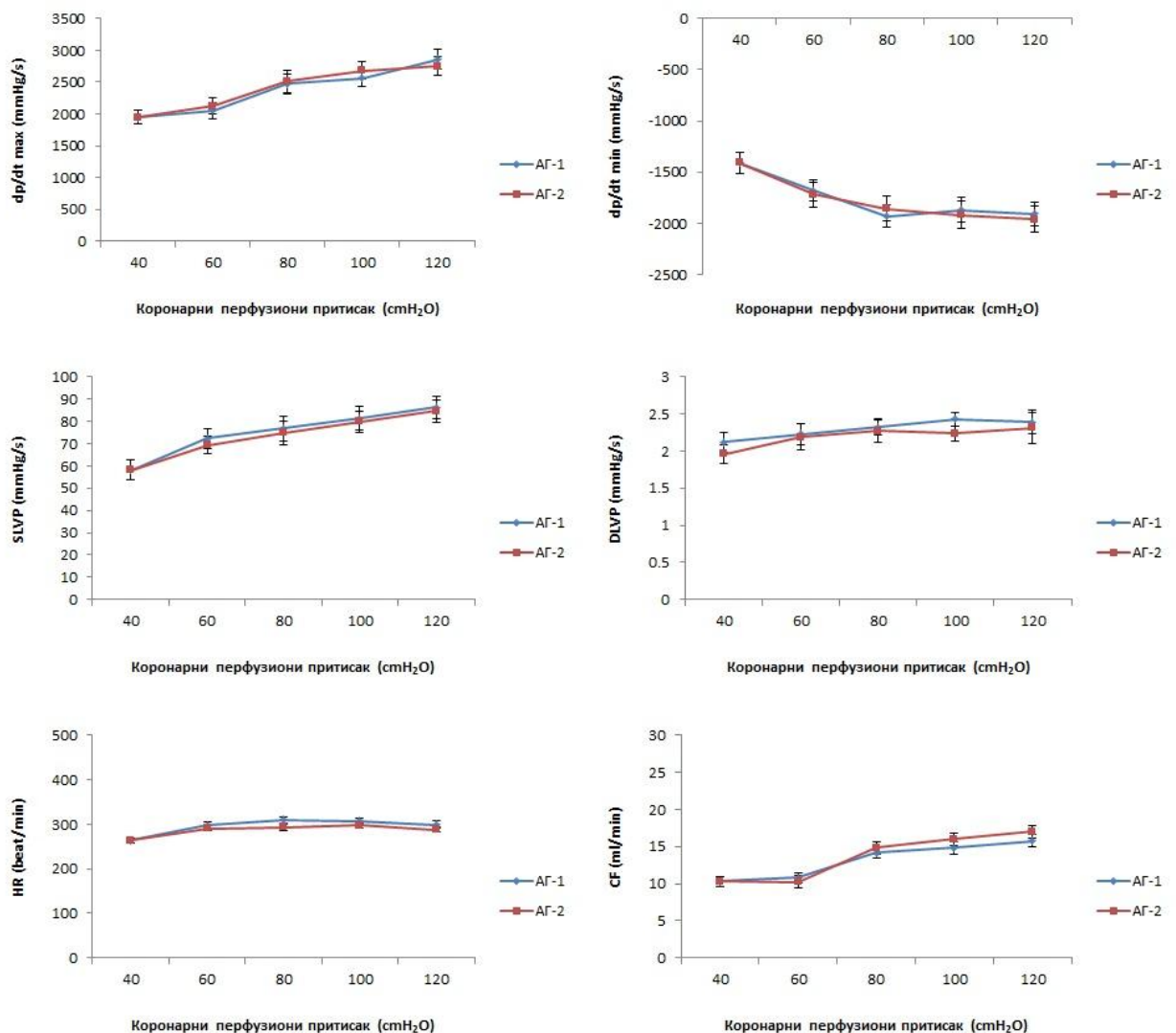
## 4.4. ИСПИТИВАЊЕ *EX VIVO* ФУНКЦИЈЕ СРЦА

### 4.4.1. Ефекти статина и хипербаричне оксигенације на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова (поређење у групи)

У овом делу истраживања испитивани су ефекти примене фармаколошких агенаса из групе HMG-инхибитора (аторвастатин, симвастатин и росувастатин) и хипербаричне оксигенације како самостално тако и у комбинацији, на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова на *Langendorff* апарату.

#### Контролна група

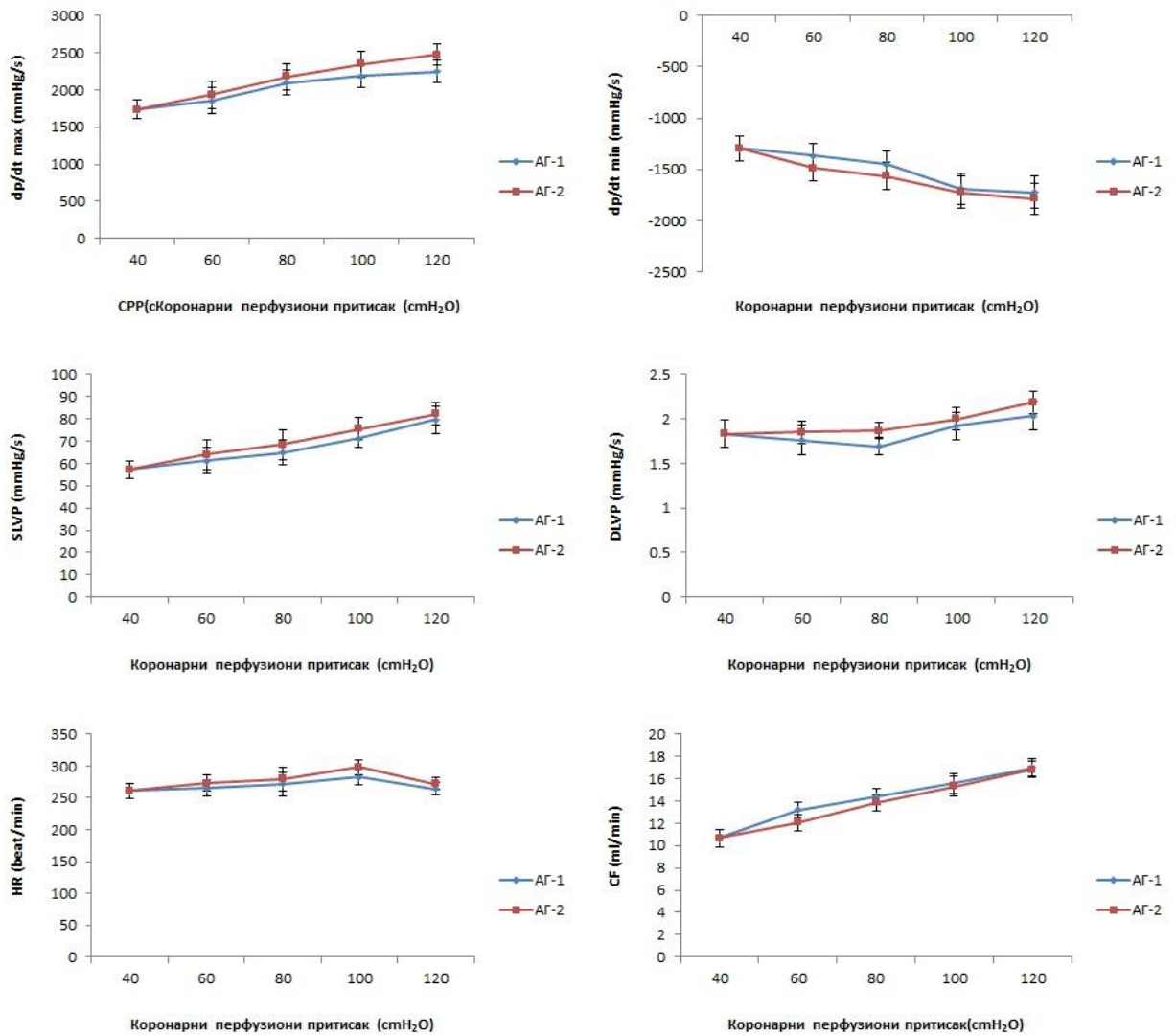
На Графику 7 приказане су средње вредности испитиваних кардиодинамских параметара и коронарног протока у контролној групи пацова. Није било статистички значајних разлика између ауторегулационих периода при промени коронарног перфузионог притиска у опсегу од 40 до 120 cmH<sub>2</sub>O.



**График 7.** Промене кардиодинамских параметара и коронарног протока изолованог срца пацова методом по Лангендорфу у контролној групи пацова. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

### Експериментална група без терапије (сепса)

На Графику 8 приказане су средње вредности испитиваних кардиодинамских параметара и коронарног протока у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) који нису били ни на каквој терапији. Није било статистички значајних разлика између ауторегулационих периода при промени коронарног перфузионог притиска у опсегу од 40 до 120  $\text{cmH}_2\text{O}$ .

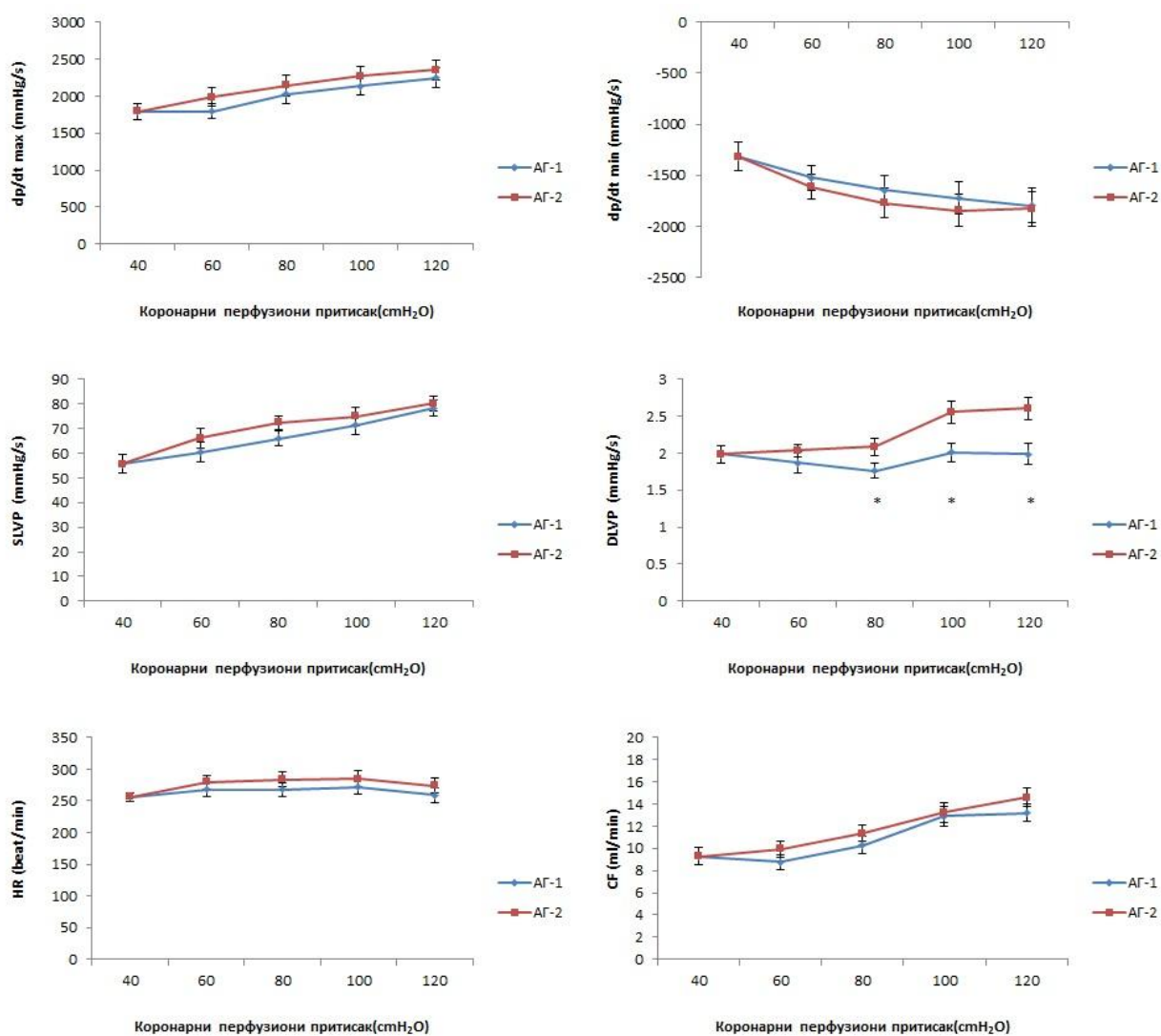




**График 8.** Промене кардиодинамских параметара и коронарног протока изолованог срца пацова методом по Лангендорфу у експерименталној групи пацова без терапије. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

### Експериментална група на третману хипербаричном оксигенацијом (сепса+ХБО)

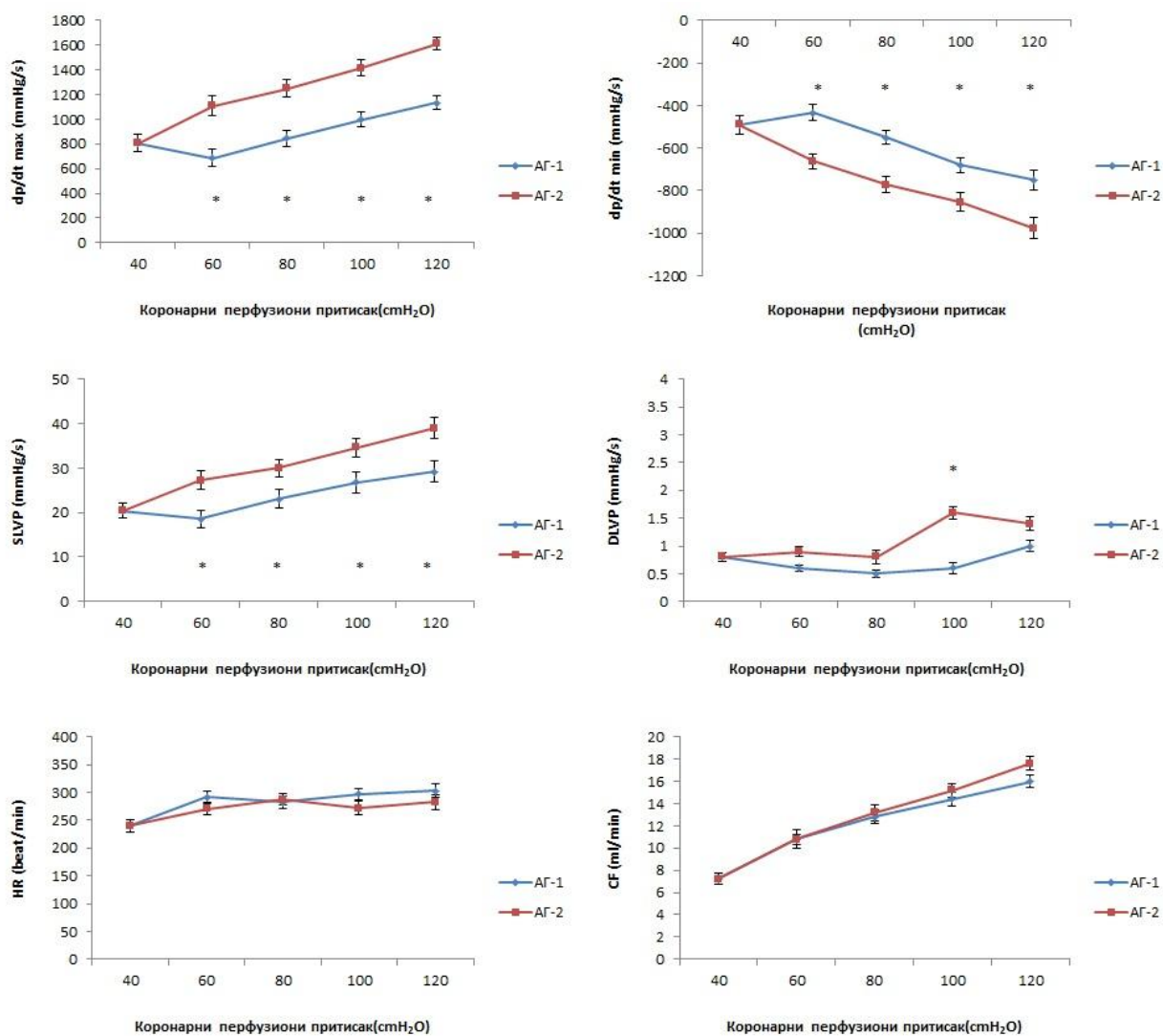
На Графику 9 приказане су средње вредности испитиваних кардиодинамских параметара и коронарног протока у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) која је била изложена тродневном третману хипербаричне оксигенације. Статистички значајно повећање у ауторегулационом периоду 2 у односу на ауторегулациони период 1 при вишим коронарним перфузионим притисцима у опсегу од 80 до 120 cmH<sub>2</sub>O уочено је код параметра DLVP. Није дошло до статистички значајне промене осталих параметара од интереса.



**График 9.** Промене кардиодинамских параметара и коронарног протока изолованог срца пацова методом по Лангендорфу у експерименталној групи пацова, која је на терапији хипербаричном оксигенацијом. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

**Експериментална група на стандардној антибиотској терапији (сепса+антибиотици)**

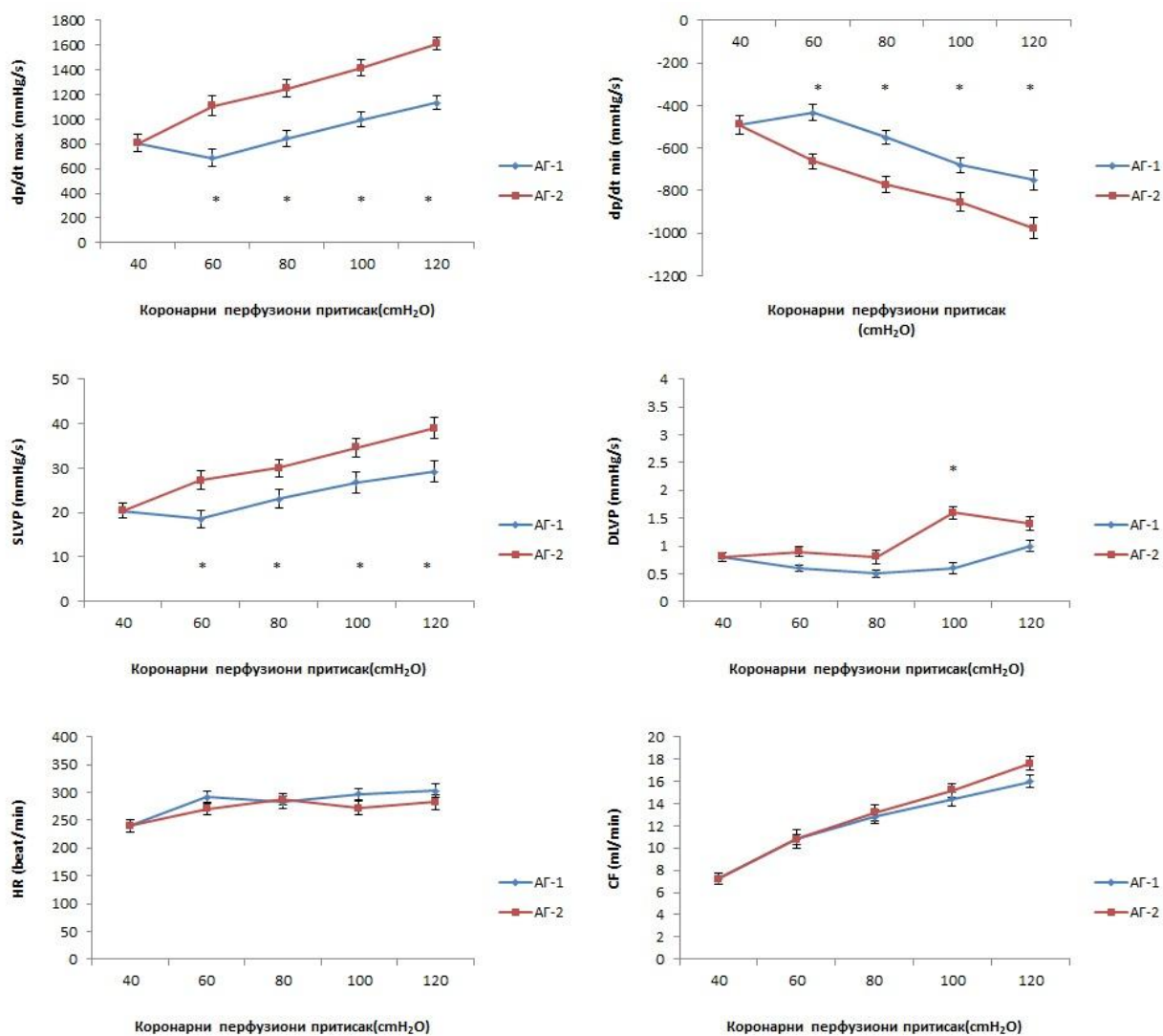
На Графику 10 приказане су средње вредности испитиваних кардиодинамских параметара и коронарног протока у групи пацова са индукованом сепсом на стандардној антибиотској терапији. Примећено је статистички значајно повећање  $dp/dt$  max,  $dp/dt$  min и SLVP у ауторегулационом периоду 2 у односу на ауторегулациони период 1 при вишим коронарно перфузионим притисцима (60-120  $cmH_2O$ ) као и вредности DLVP-а у ауторегулационом периоду 2 при притиску од 120  $cmH_2O$ .



**График 10.** Промене кардиодинамских параметара и коронарног протока изолованог срца пацова методом по Лангендорфу у експерименталној групи пацова, са стандардном антибиотском терапијом. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

### Експериментална група на антибиотској терапији уз хипербарично оксигенациони третман (сепса+антибиотици+ХБО)

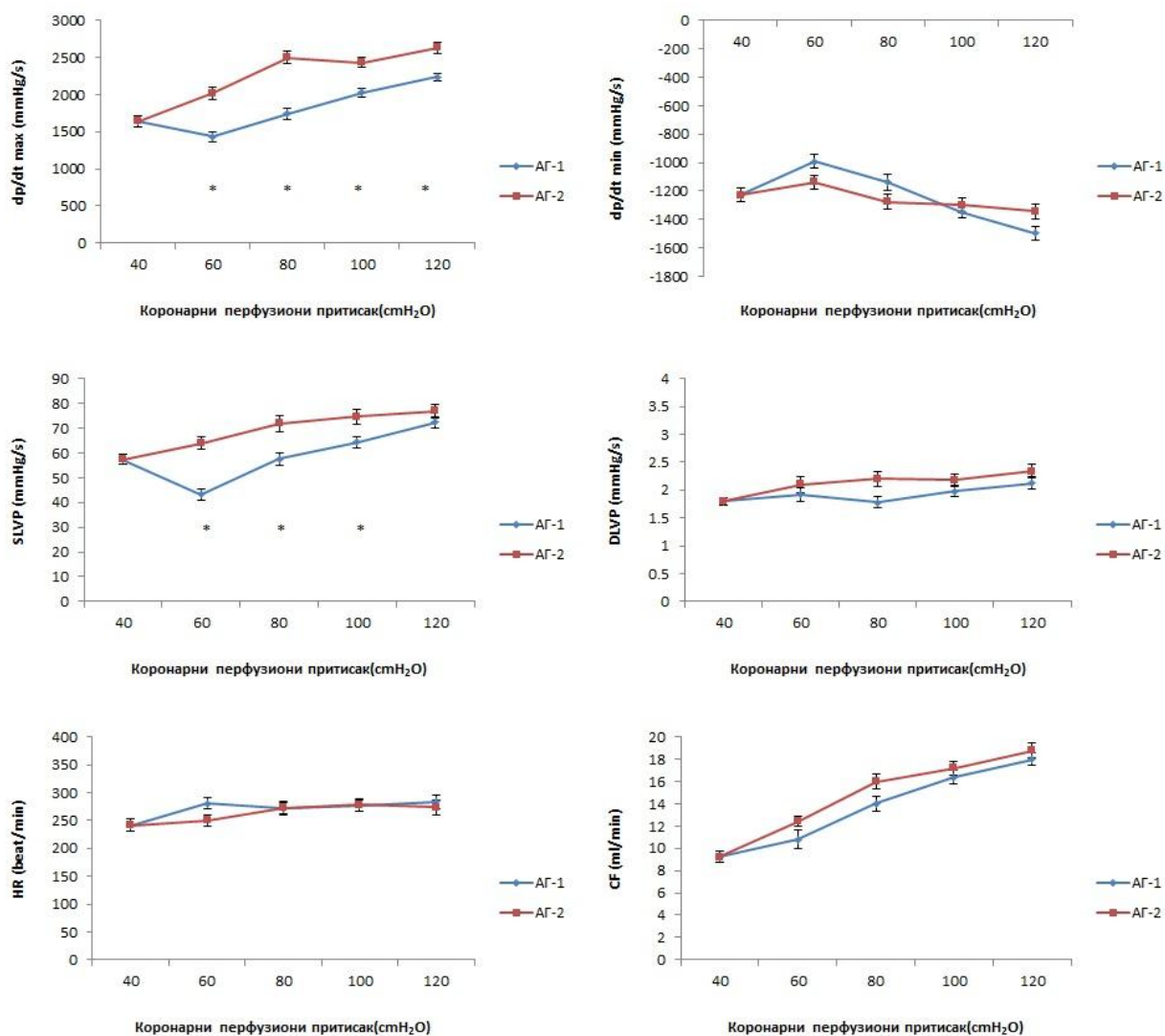
На Графику 11 приказане су средње вредности испитиваних кардиодинамских параметара и коронарног протока у групи пацова са индукованом сепсом на комбинованом третману стандардном антибиотском терапијом и хипербаричном оксигенацијом. Примећено је статистички значајно повећање  $dp/dt \max$ ,  $dp/dt \min$  и SLVP у ауторегулационом периоду 2, при перфузионим притисцима од 60 до 120  $cmH_2O$ , као и DLVP-а при коронарном перфузионом притиску од 100  $cmH_2O$ .



**График 11.** Промене кардиодинамских параметара и коронарног протока изолованог срца пацова методом по Лангендорфу у експерименталној групи пацова, на антибиотској терапији уз хипербарично оксигенациони третман. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

### Експериментална група на третману аторвастатином (сепса+аторвастатин)

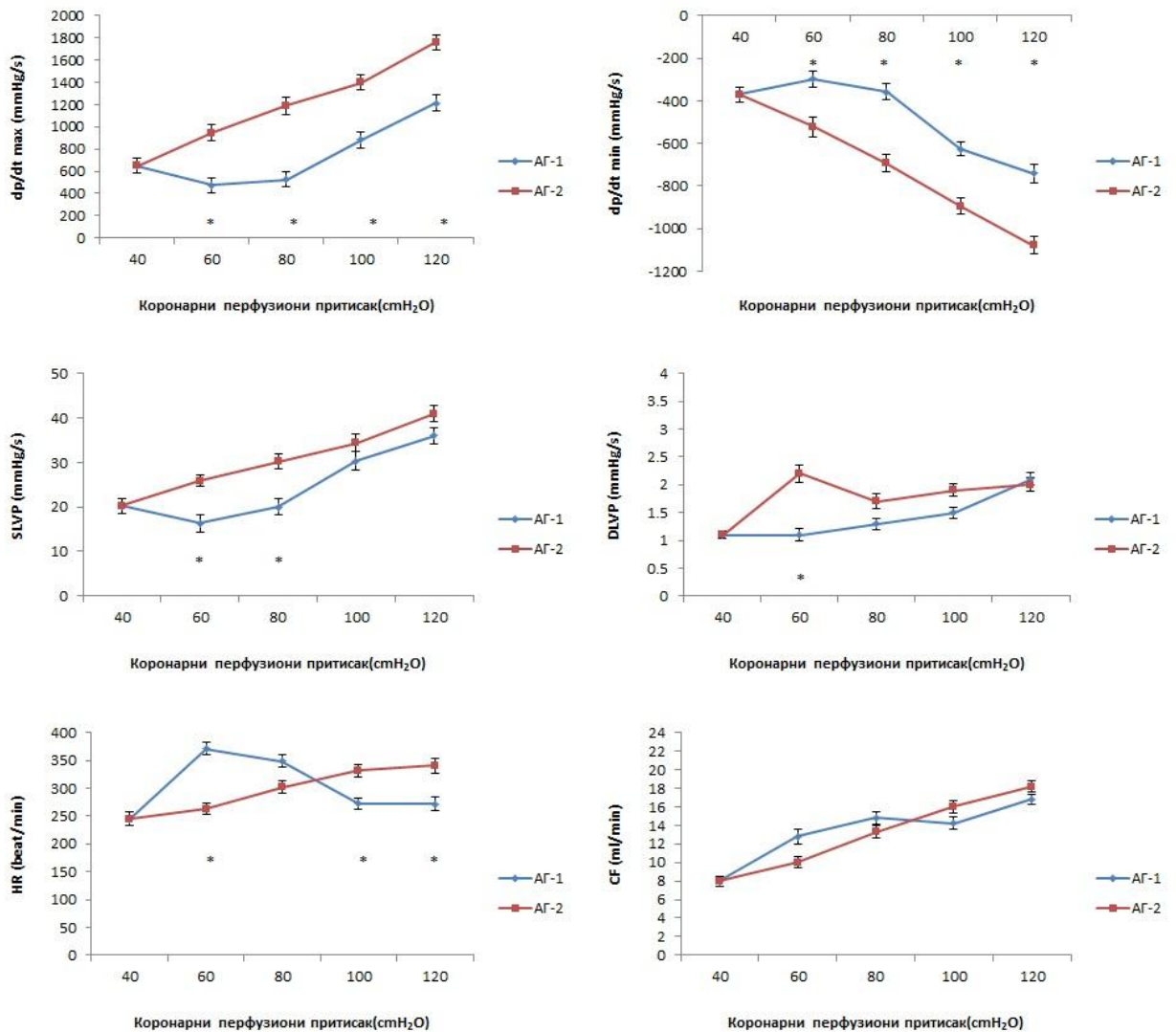
На Графику 12 приказане су средње вредности испитиваних кардиодинамских параметара и коронарног протока у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) која је на третману аторвастатином. Статистички значајне разлике у вредностима  $dp/dt$  max и SLVP између ауторегулационих периода 1 и 2 уочене су при притисцима 60-120  $cmH_2O$  за  $dp/dt$  max, односно при 60-100  $cmH_2O$  за SLVP.



**График 12.** Промене кардиодинамских параметара и коронарног протока изолованог срца пацова методом по Лангендорфу у експерименталној групи пацова на терапији аторвастатином. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

**Експериментална група на третману симвастатином (сепса+симвастатин)**

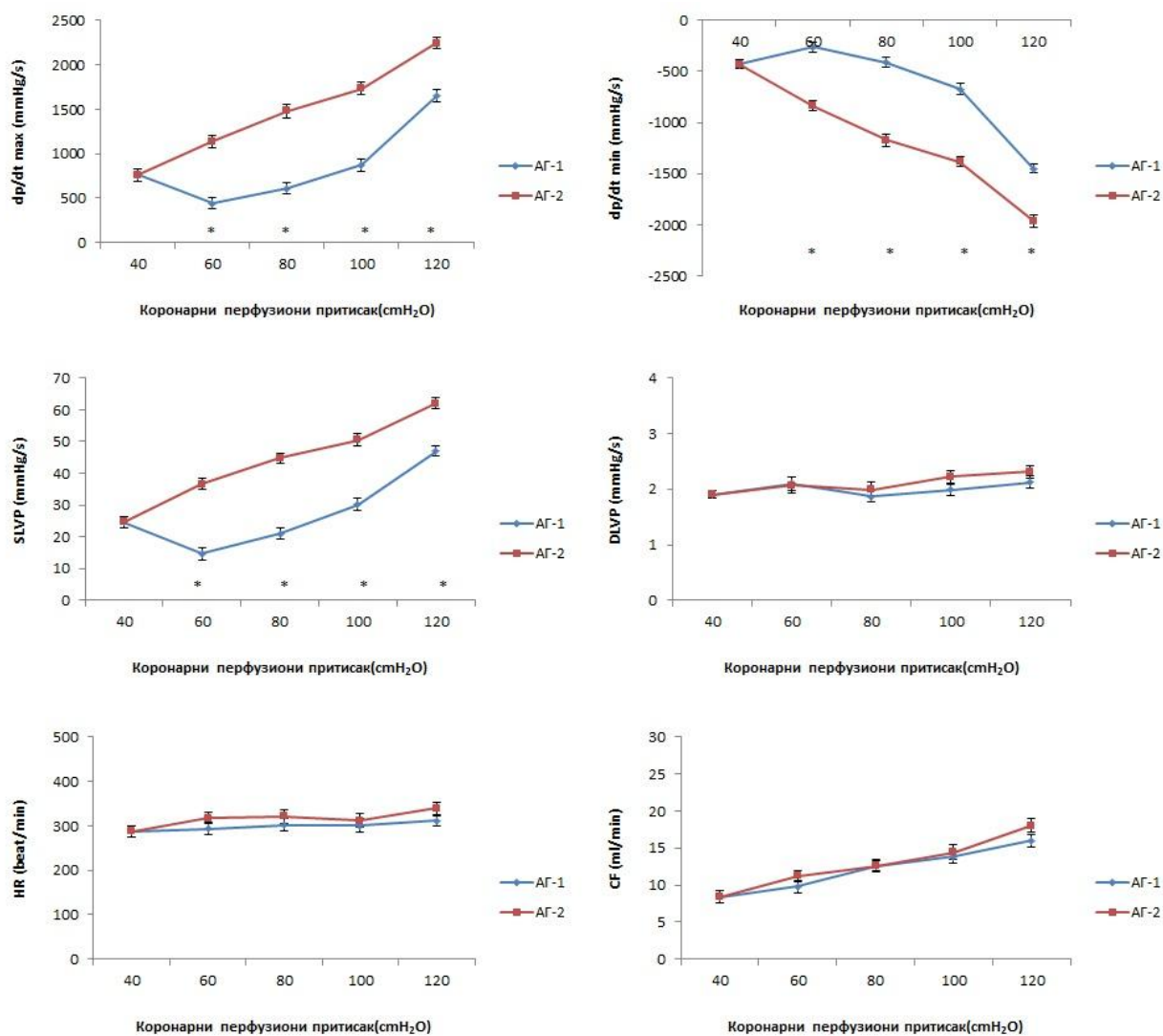
На Графику 13 приказане су средње вредности испитиваних кардиодинамских параметара и коронарног протока у групи пацова са индукованом сепсом која је на третману симвастатином. Примећено је статистички значајно повећање  $dp/dt \max$  и  $dp/dt \min$  у АГ 2 у односу на АГ 1 при CPP 60 до 120  $cmH_2O$ . Повећање SLVP и DLVP примећено је при CPP 60  $cmH_2O$  за SLVP и при 60-80  $cmH_2O$  за DLVP. Примећено је смањење HR при CPP 60  $cmH_2O$ , док при вишим притисцима од 100-120  $cmH_2O$  долази до повећања HR у ауторегулационом периоду 2.



**График 13.** Промене кардиодинамских параметара и коронарног протока изолованог срца пацова методом по Лангендорфу у експерименталној групи пацова на терапији симвастатином. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

### Експериментална група на третману росувастатином (сепса+росувастатин)

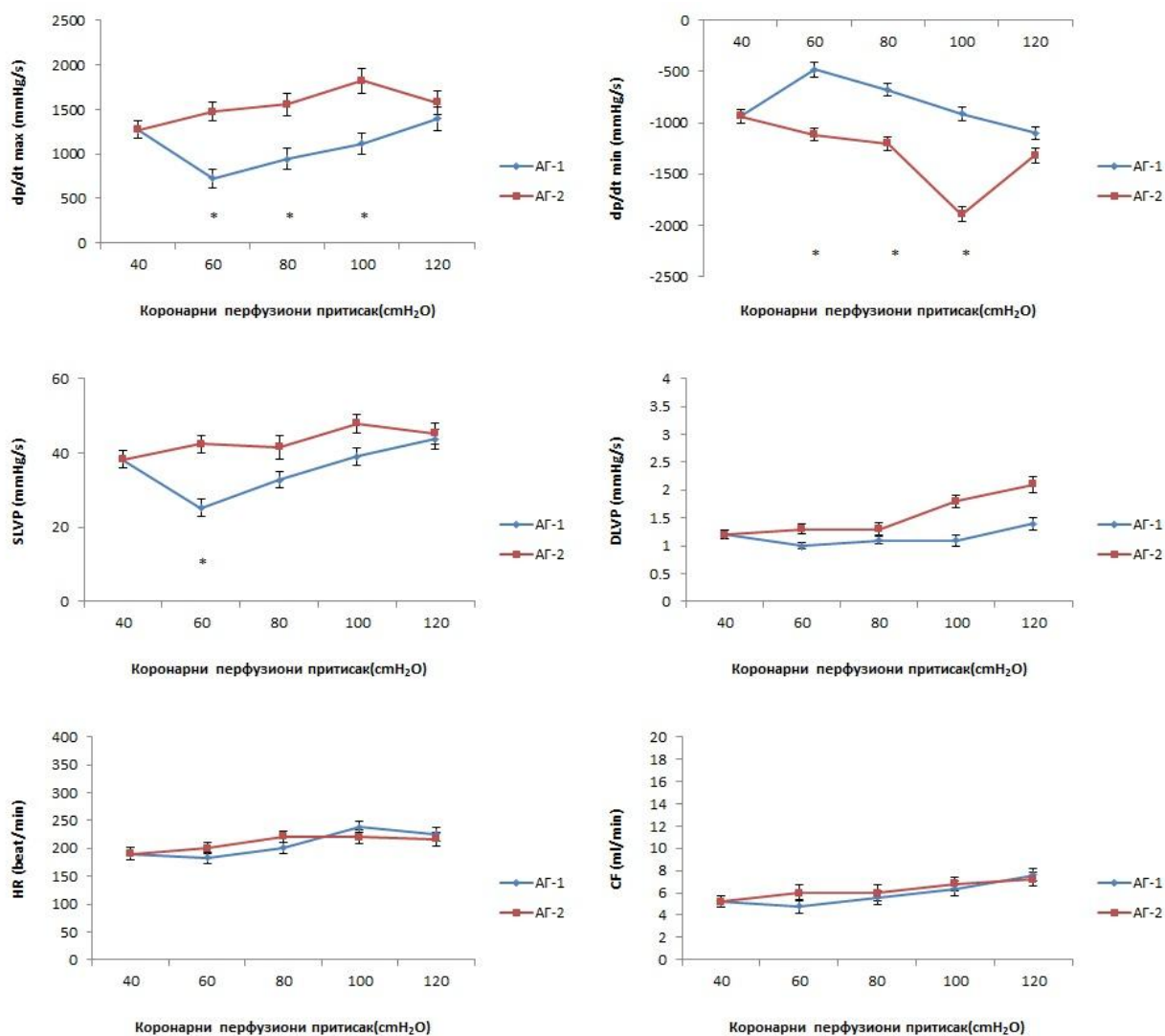
На Графику 14 приказане су средње вредности испитиваних кардиодинамских параметара и коронарног протока у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) која је на третману росувастатином. Статистички значајно повећање  $dp/dt \max$ ,  $dp/dt \min$  и SLVP у ауторегулационом периоду 2 у односу на ауторегулациони период 1 примећено је при вишим коронарно перфузионим притисцима од 60 до 120  $cmH_2O$ . Значајних разлика DLVP, CF и HR између ауторегулационих периода 1 и 2 није било.



**График 14.** Промене кардиодинамских параметара и коронарног протока изолованог срца пацова методом по Лангендорфу у експерименталној групи пацова на терапији росувастатином. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

### Експериментална група на терапији аторвастатином и хипербаричном оксигенацијом (сепса+аторвастатин+ХБО)

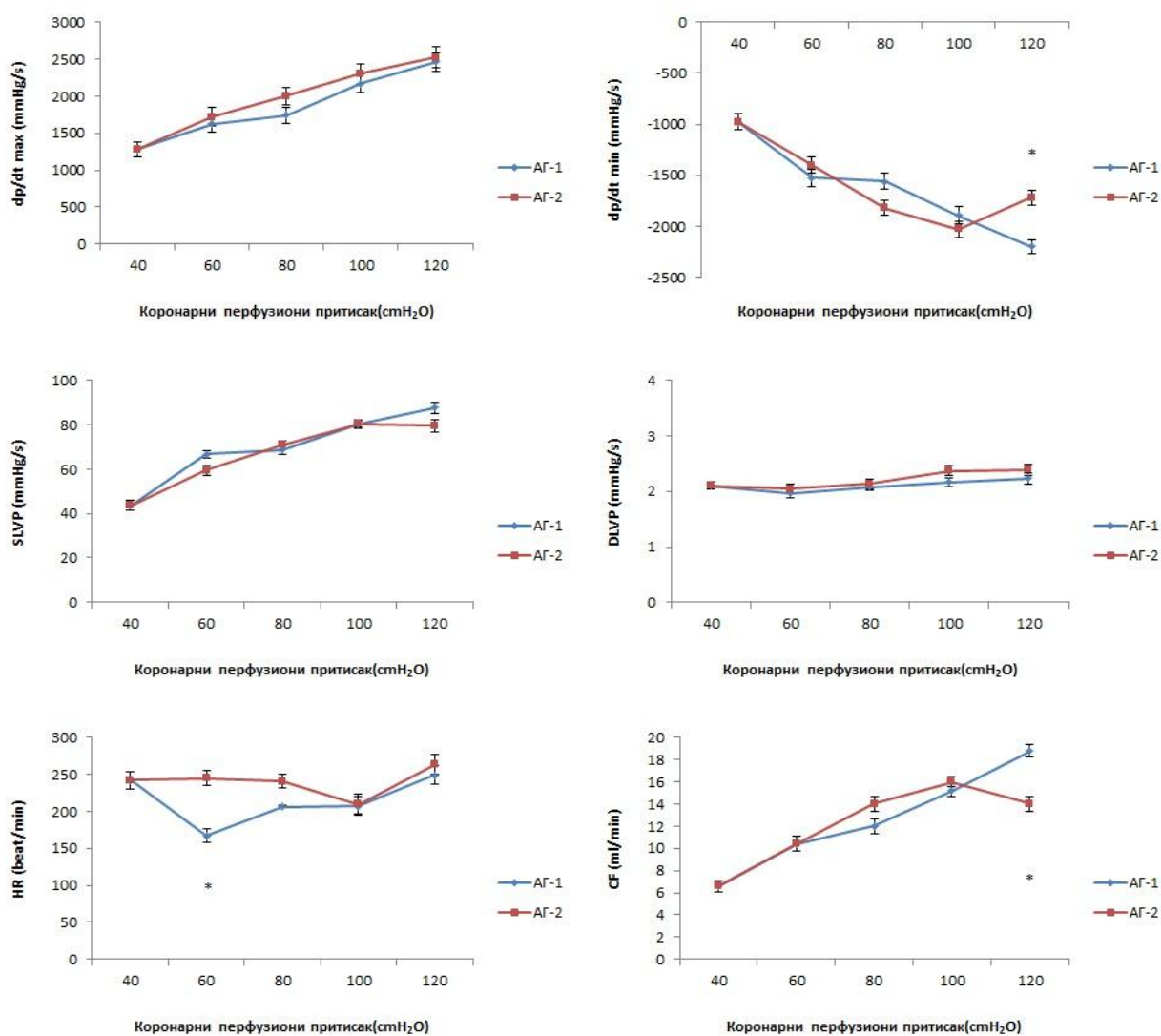
На Графику 15 приказане су средње вредности испитиваних кардиодинамских параметара и коронарног протока у групи пацова са индукованом сепсом која је на терапији аторвастатином у комбинацији са ХБО. Статистички значајно повећање  $dp/dt$  max и  $dp/dt$  min у ауторегулационом периоду 2 примећено је при CPP од 60 до 120  $cmH_2O$ . Повећање SLVP примећено је при CPP од 60  $cmH_2O$  док значајних разлика DLVP, HR и CF између ауторегулационих периода 1 и 2 није било.



**График 15.** Промене кардиодинамских параметара и коронарног протока изолованог срца пацова методом по Лангендорфу у експерименталној групи пацова на терапији аторвастатином уз хипербарично оксигенациони третман. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

### Експериментална група на терапији симвастатином и хипербаричном оксигенацијом (сепса+симвастатин+ХБО)

На Графику 16 приказане су средње вредности испитиваних кардиодинамских параметара и коронарног протока у групи пацова са индукованом сепсом која је на терапији симвастатином у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом. При коронарном перфузионом притиску од 60  $\text{cmH}_2\text{O}$  примећено је статистички значајно повећање HR у ауторегулационом периоду 2, док је при притиску од 120  $\text{cmH}_2\text{O}$  примећено статистички значајно повећање  $dp/dt \text{ min}$  и CF.

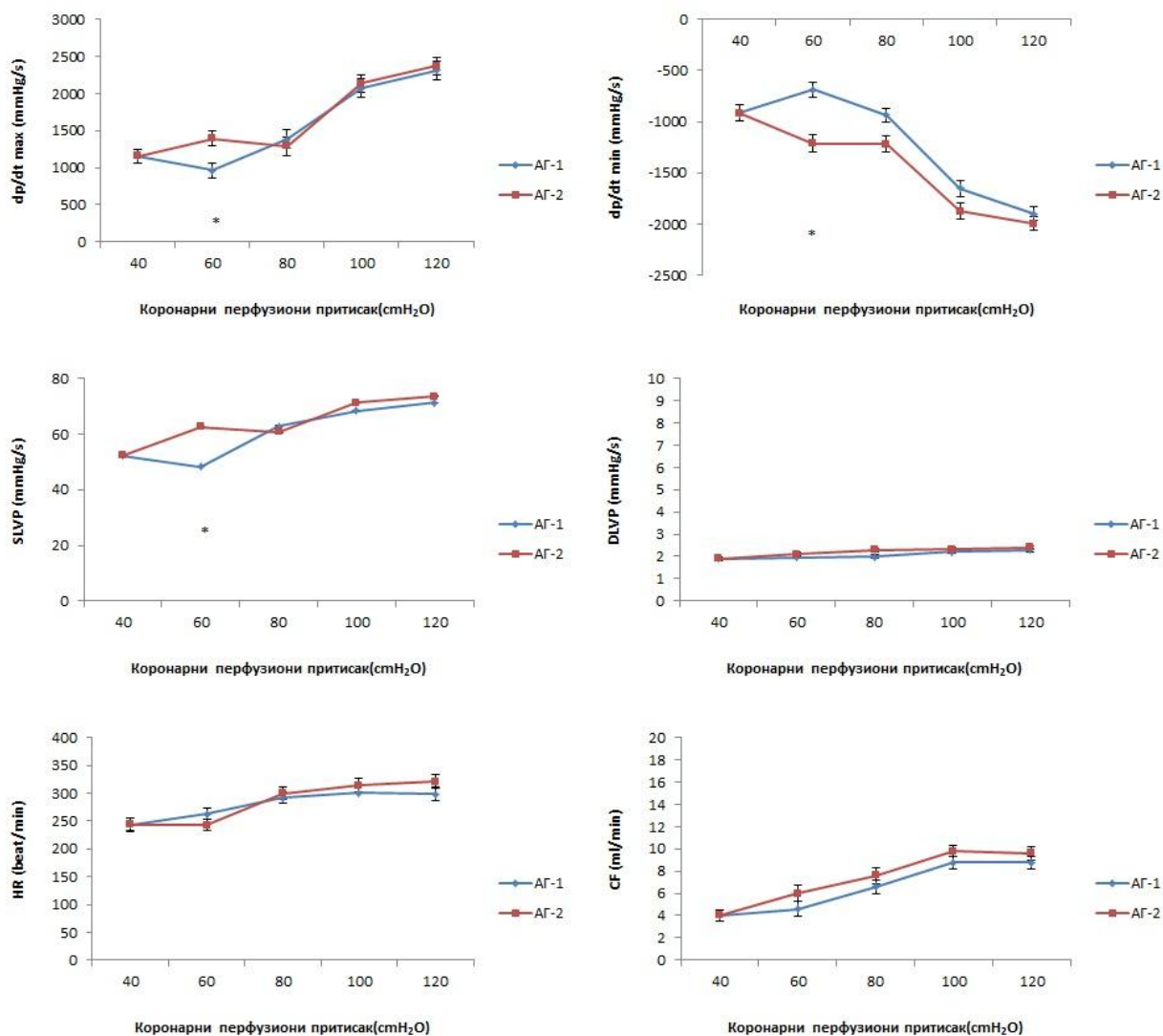




**График 16.** Промене кардиодинамских параметара и коронарног протока изолованог срца пацова методом по Лангендорфу у експерименталној групи пацова на терапији симвастатином уз хипербарично оксигенациони третман. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

### Експериментална група на терапији росувастатином и хипербаричном оксигенацијом (сепса+росувастатин+ХБО)

На Графику 17 приказане су средње вредности испитиваних кардиодинамских параметара и коронарног протока у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) који су на терапији росувастатином у комбинацији са хипербарично оксигенационим третманом. Статистички значајно повећање  $dp/dt$  max,  $dp/dt$  min и SLVP примећено је само при CPP од 60  $cmH_2O$ .

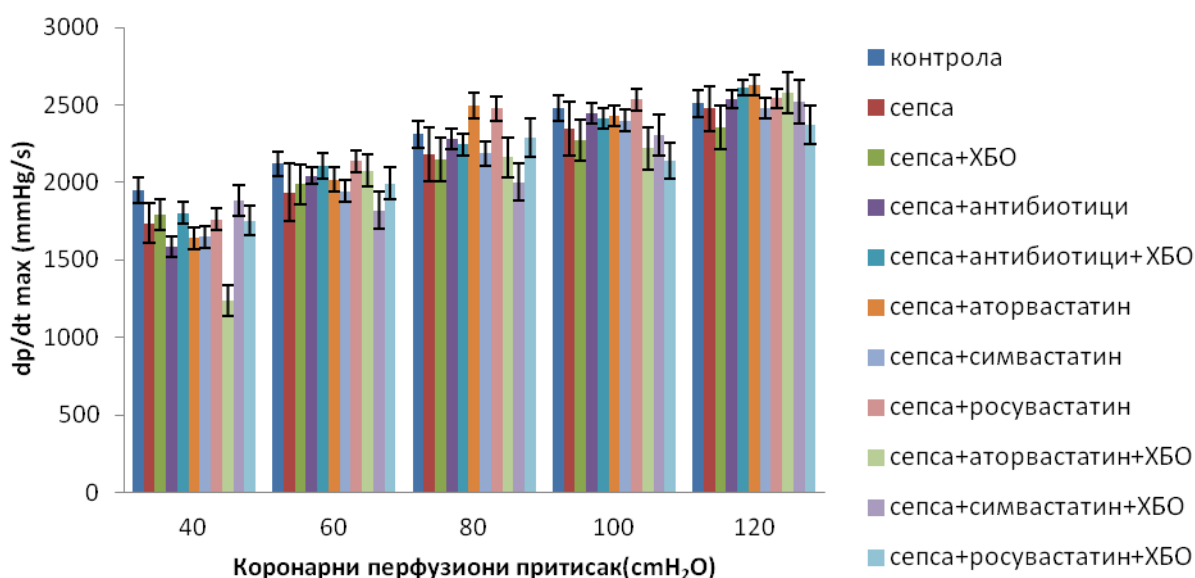


**График 17.** Промене кардиодинамских параметара и коронарног протока изолованог срца пацова методом по Лангендорфу у експерименталној групи пацова на терапији росувастатином уз хипербарично оксигенациони третман. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . CPP-коронарни перфузиони притисак; АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

#### 4.4.2. Ефекти статина и хипербаричне оксигенације на кардиодинамске параметре и коронарни проток (поређење група)

У овом делу истраживања акценат смо ставили на испитивање утицаја самосталне примене статина и хипербаричне оксигенације, као и њихове комбинације на функционалне параметре миокарда. Параметре кардиодинамике као што су  $dp/dt \max$ ,  $dp/dt \min$ , SLVP, DLVP, HR као и CF посматрали смо одвојено и поређењем експерименталних група са контролним групама добили смо следеће резултате.

На Графику 18 приказане су вредности параметра максималне стопе развоја притиска у левој комори изолованог срца пацова методом по Лангендорфу. Није било статистички значајних разлика између контролне и експерименталних група, као ни између експерименталних група.



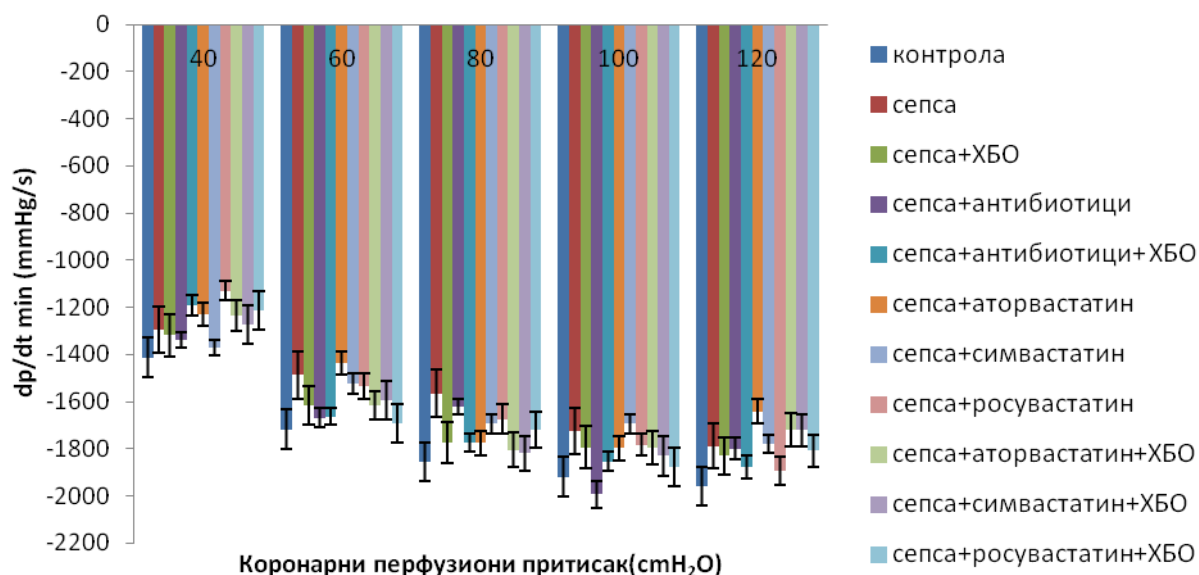
**График 18.** Максимална стопа развоја притиска у левој комори изолованог срца пацова у контролној и експерименталним групама. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО- хипербарична оксигенација

**Табела 10.** Приказ вредности максималне стопе промене притиска у левој комори у контролној и експерименталним групама.

Резултати су приказани у виду средњих вредности  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ), при чему знак \* представља статистички значајно смањење у односу на контролу на нивоу  $p < 0,05$ . ХВО-хипербарична оксигенација

<b>dp/dt max(mm Hg/s)</b>					
<b>СРР(cmH<sub>2</sub>O)</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>120</b>
<b>Контрола</b>	1950,03 $\pm$ 112,12	2120,11 $\pm$ 125,12	2310,01 $\pm$ 180,67	2480,21 $\pm$ 141,44	2550,11 $\pm$ 147,01
<b>Сепса</b>	1736,85 $\pm$ 126,02	1936,18 $\pm$ 186,01	2180,03 $\pm$ 173,65	2345,56 $\pm$ 172,05	2477,02 $\pm$ 145,35
<b>Сепса+ ХВО</b>	1791,03 $\pm$ 102,36	1986,95 $\pm$ 128,36	2146,83 $\pm$ 140,65	2269,16 $\pm$ 132,33	2354,75 $\pm$ 138,74
<b>Сепса+антибиотици</b>	1884,58 $\pm$ 65,32	2044,50 $\pm$ 54,25	2280,70 $\pm$ 67,65	2477,2 $\pm$ 63,33	2539,22 $\pm$ 57,78
<b>Сепса+ антибиотици+ХВО</b>	1803,31 $\pm$ 71,35	2107,8 $\pm$ 82,86	2246,31 $\pm$ 69,87	2425,51 $\pm$ 66,64	2611,25 $\pm$ 51,47
<b>Сепса+аторвастатин</b>	1641,81 $\pm$ 71,33	2019,82 $\pm$ 82,41	2495,9 $\pm$ 82,68	2432,35 $\pm$ 66,87	2628,24 $\pm$ 68,98
<b>Сепса+ симвастатин</b>	1650,2 $\pm$ 71,23	1944,61 $\pm$ 73,68	2188,25 $\pm$ 78,95	2399,2 $\pm$ 71,25	2479,32 $\pm$ 63,37
<b>Сепса+росувастатин</b>	1762,47 $\pm$ 71,68	2137,17 $\pm$ 73,84	2477,7 $\pm$ 78,36	2534,3 $\pm$ 71,58	2543,8 $\pm$ 63,24
<b>Сепса+аторвастатин+ХВО</b>	1869,38 $\pm$ 98,87	2074,91 $\pm$ 104,11	2160,97 $\pm$ 26,32	2220,38 $\pm$ 136,91	2580,47 $\pm$ 134,33
<b>Сепса+ симвастатин+ХВО</b>	1882,36 $\pm$ 102,15	1820,47 $\pm$ 123,02	2002,6 $\pm$ 120,57	2302,2 $\pm$ 131,41	2522,2 $\pm$ 143,27
<b>Сепса+ росувастатин+ХВО</b>	1754,74 $\pm$ 98,02	1992,87 $\pm$ 104,37	2291,39 $\pm$ 126,54	2136,11 $\pm$ 116,98	2368,9 $\pm$ 124,57

На Графику 19 приказане су вредности параметра минималне стопе развоја притиска у левој комори изолованог срца пацова методом по Лангендорфу. Примећене су више вредности dp/dt min у контролној групи у односу на експерименталне групе али та разлика статистички није значајна. Није било ни статистички значајних разлика између експерименталних група.



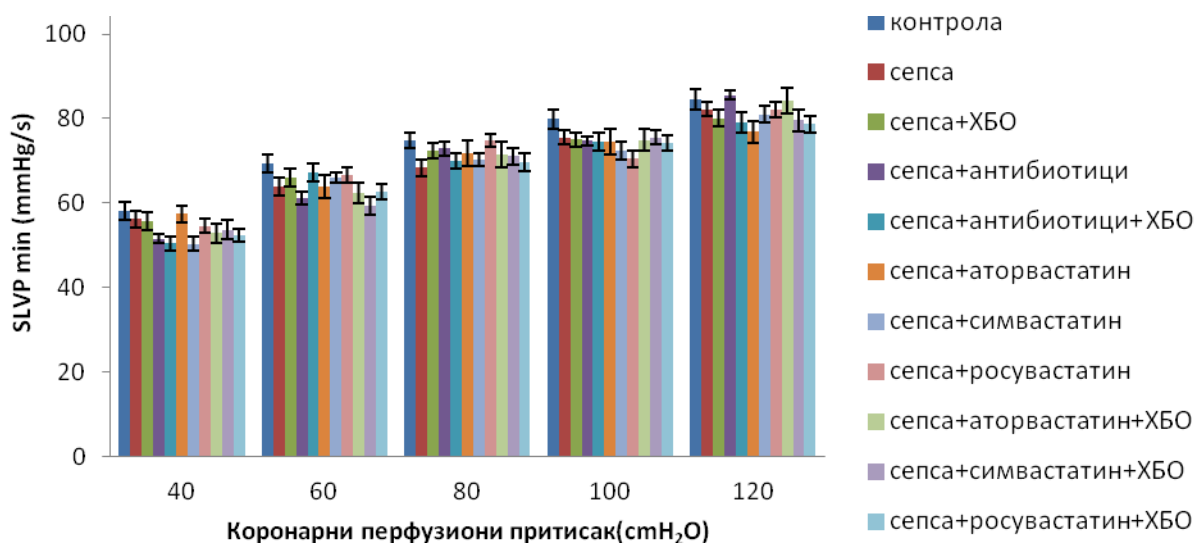
**График 19.** Минимална стопа развоја притиска у левој комори изолованог срца пацова у контролној и експерименталним групама пацова. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО-хипербарична оксигенација

**Табела 11.** Приказ вредности минималне стопе развоја притиска у левој комори у контролној и експерименталним групама.

dp/dt min (mm Hg/s)					
СРР(cmH <sub>2</sub> O)	40	60	80	100	120
Контрола	-1412,14 $\pm$ 85,5	-1718,24 $\pm$ 83,3	-1856,34 $\pm$ 91,7	-1920,17 $\pm$ 87,3	-1960,23 $\pm$ 90,7
Сепса	-1295,58 $\pm$ 91,32	-1485,87 $\pm$ 87,55	-1564,33 $\pm$ 83,23	-1724,39 $\pm$ 79,45	-1788,73 $\pm$ 91,72
Сепса+ ХБО	-1318,37 $\pm$ 92,65	-1616,33 $\pm$ 91,81	-1744,5 $\pm$ 81,26	-1790,17 $\pm$ 76,2	-1829,67 $\pm$ 71,4
Сепса+антибиотици	-1337,60 $\pm$ 33,25	-1669,2 $\pm$ 42,35	-1621,12 $\pm$ 33,25	-1902,90 $\pm$ 58,98	-1799,7 $\pm$ 47,34
Сепса+ антибиотици+ХБО	-1190,21 $\pm$ 43,15*	-1662,9 $\pm$ 36,98	-1772,2 $\pm$ 38,54	-1853,9 $\pm$ 42,14	-1876,64 $\pm$ 51,47
Сепса+аторвастатин	-1230,32 $\pm$ 48,37	-1436,58 $\pm$ 48,98	-1775,35 $\pm$ 51,61	-1798,22 $\pm$ 53,37	-1642,32 $\pm$ 51,26
Сепса+ симвастатин	-1371,41 $\pm$ 33,25	-1522,98 $\pm$ 45,33	-1692,98 $\pm$ 41,37	-1694,6 $\pm$ 39,63	-1778,35 $\pm$ 39,88
Сепса+росувастатин	-1130,71 $\pm$ 41,28	-1535,25 $\pm$ 53,87	-1675,29 $\pm$ 62,38	-1783,27 $\pm$ 47,57	-1893,84 $\pm$ 59,63
Сепса+аторвастатин+ХБО	-1236,34 $\pm$ 65,34	-1616,84 $\pm$ 58,14	-1804,38 $\pm$ 71,32	-1796,74 $\pm$ 73,11	-1719,11 $\pm$ 72,03
Сепса+ симвастатин+ХБО	-1275,65 $\pm$ 82,33	-1595,27 $\pm$ 80,01	-1820,47 $\pm$ 76,31	-1830,17 $\pm$ 83,66	-1722,09 $\pm$ 54,02
Сепса+ росувастатин+ХБО	-1215,11 $\pm$ 82,07	-1892,14 $\pm$ 80,27	-1720,67 $\pm$ 76,98	-1876,15 $\pm$ 83,92	-1809,37 $\pm$ 64,35

Резултати су приказани у виду средње вредности  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ), при чему знак \* представља статистички значајно смањење у односу на контролну групу на нивоу  $p < 0,05$ . ХВО-хипербарична оксигенација.

На Графику 20 приказане су вредности систолног притиска у левој комори изолованог срца пацова методом по Лангендорфу. Није било статистички значајних разлика између контролне и експерименталних група, као ни између експерименталних група.



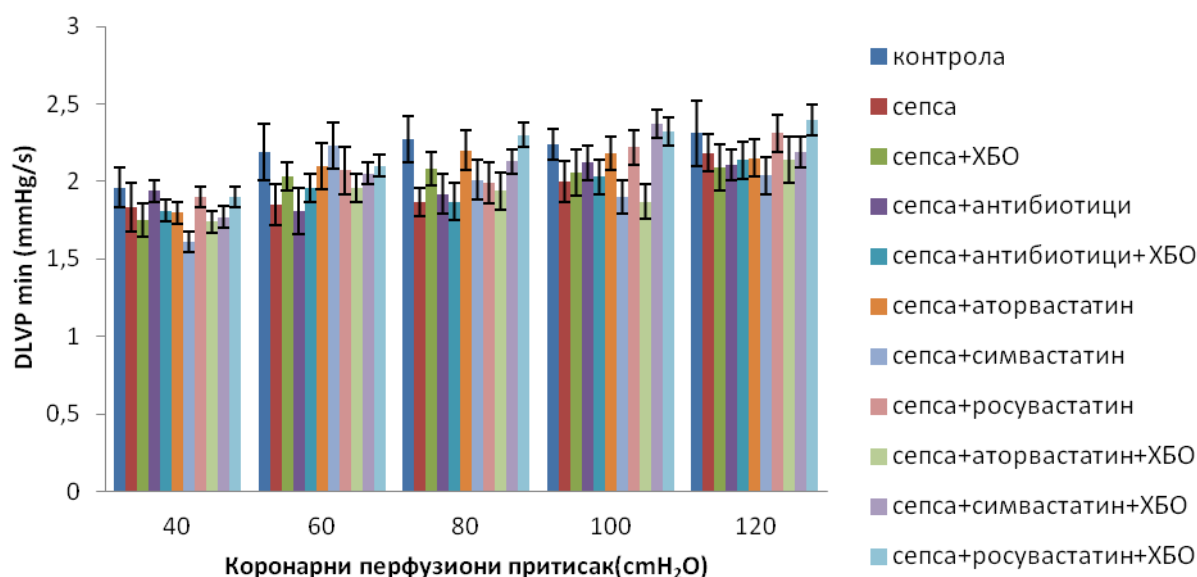
**График 20.** Систолни притисак у левој комори изолованог срца пацова у контролној и експерименталним групама пацова. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХВО-хипербарична оксигенација

**Табела 12.** Приказ вредности систолног притиска у левој комори у контролној и експерименталним групама.

<b>SLVP (mm Hg)</b>					
<b>CPP(cmH<sub>2</sub>O)</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>120</b>
<b>Контрола</b>	58,22±1,31	69,34±1,90	74,81±1,47	79,98±4,82	84,67±4,93
<b>Сепса</b>	56,23±1,42	63,88±2,21	68,47±1,90	75,58±5,34	82,18±4,95
<b>Сепса+ ХБО</b>	55,65±2,11	66,08±1,90	72,33±2,92	75,03±3,84	80,11±3,11
<b>Сепса+антибиотици</b>	51,54±1,43	61,15±1,34	72,87±1,74	74,72±1,84	85,5±1,14
<b>Сепса+ антибиотици+ХБО</b>	50,41±1,74	67,23±2,14	70,04±1,95	74,60±2,22	79,07±2,36
<b>Сепса+аторвастатин</b>	57,47±2,00	64,13±2,71	71,83±3,12	75,60±2,00	76,94±2,61
<b>Сепса+ симвастатин</b>	50,34±1,71	65,96±1,35	70,27±1,65	72,41±2,03	81,02±1,91
<b>Сепса+росувастатин</b>	54,63±1,71	66,65±1,75	74,87±2,63	70,54±2,04	82,17±1,98
<b>Сепса+аторвастатин+ХБО</b>	52,84±2,36	62,47±2,48	71,55±3,14	74,9±2,61	84,23±2,93
<b>Сепса+ симвастатин+ХБО</b>	53,68±2,34	59,47±2,11	71,04±1,94	75,47±1,71	79,58±2,69
<b>Сепса+ росувастатин+ХБО</b>	52,47±1,64	62,72±1,75	69,74±1,88	74,24±1,36	78,69±1,98

Резултати су приказани у виду средњих вредности ± стандардна девијација ( $X \pm SD$ ), при чему знак \* представља статистички значајно смањење у односу на контролну групу, док знак # представља статистички значајно повећање у односу на контролну групу на нивоу  $p < 0,05$ . ХБО-хипербарична оксигенација

На Графику 21 приказане су вредности дијастолног притиска у левој комори изолованог срца пацова методом по Лангендорфу. Статистички значајних разлика између контролне и експерименталне група није било.



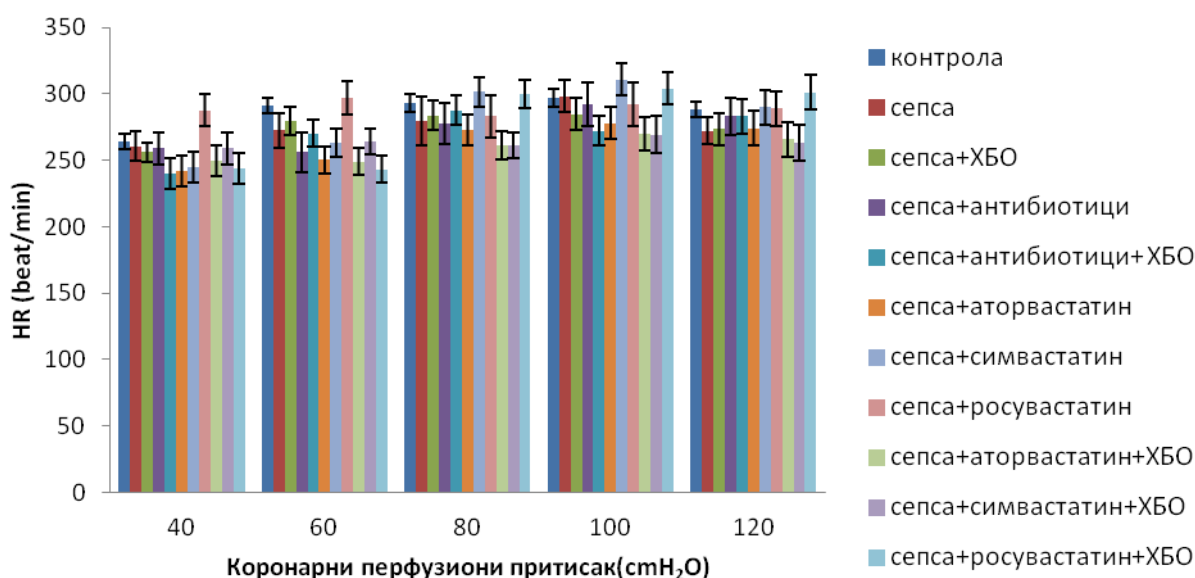
**График 21.** Дијастолни притисак у левој комори изолованог срца пацова у контролној и експерименталним групама пацова. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО- хипербарична оксигенација

**Табела 13.** Приказ вредности дијастолног притиска у левој комори у контролној и експерименталним групама.

DLVP (mm Hg)					
CPP(cmH <sub>2</sub> O)	40	60	80	100	120
Контрола	1,96 $\pm$ 0,13	2,19 $\pm$ 0,18	2,27 $\pm$ 0,15	2,24 $\pm$ 0,11	2,31 $\pm$ 0,21
Сепса	1,83 $\pm$ 0,16	1,85 $\pm$ 0,13*	1,86 $\pm$ 0,09*	2,00 $\pm$ 0,13	2,18 $\pm$ 0,12
Сепса+ ХБО	1,75 $\pm$ 0,11	2,03 $\pm$ 0,09	2,08 $\pm$ 0,11	2,06 $\pm$ 0,15	2,09 $\pm$ 0,15 <sup>#</sup>
Сепса+антибиотици	1,54 $\pm$ 0,07*	1,81 $\pm$ 0,15*	1,92 $\pm$ 0,13*	2,12 $\pm$ 0,11	2,11 $\pm$ 0,14*
Сепса+ антибиотици+ХБО	1,81 $\pm$ 0,07*	1,96 $\pm$ 0,09*	1,87 $\pm$ 0,12*	2,03 $\pm$ 0,11	2,14 $\pm$ 0,12*
Сепса+аторвастатин	1,81 $\pm$ 0,07	2,11 $\pm$ 0,15	2,23 $\pm$ 0,13	2,18 $\pm$ 0,11	2,15 $\pm$ 0,12
Сепса+ симвастатин	1,61 $\pm$ 0,07*	2,23 $\pm$ 0,15	2,01 $\pm$ 0,13*	1,92 $\pm$ 0,11	2,04 $\pm$ 0,12*
Сепса+росувастатин	1,98 $\pm$ 0,07	2,08 $\pm$ 0,15	1,99 $\pm$ 0,13	2,22 $\pm$ 0,11	2,31 $\pm$ 0,12
Сепса+аторвастатин+ХБО	1,74 $\pm$ 0,07*	1,96 $\pm$ 0,09*	1,94 $\pm$ 0,12*	1,87 $\pm$ 0,11	2,14 $\pm$ 0,15
Сепса+ симвастатин+ХБО	1,77 $\pm$ 0,07	2,05 $\pm$ 0,07	2,13 $\pm$ 0,06	2,37 $\pm$ 0,09	2,19 $\pm$ 0,11
Сепса+ росувастатин+ХБО	1,91 $\pm$ 0,07	2,11 $\pm$ 0,07	2,36 $\pm$ 0,06	2,32 $\pm$ 0,09	2,41 $\pm$ 0,11

Резултати су приказани у виду средњих вредности  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ), при чему знак \* представља статистички значајно смањење у односу на контролну групу, док знак # представља статистички значајно повећање у односу на контролну групу на нивоу  $p < 0,05$ . ХБО- хипербарична оксигенација

На Графику 22 приказане су вредности срчане фреквенце изолованог срца пацова методом по Лангендорфу. Иако су више вредности на нижим перфузионим притисцима од 40-60 cmH<sub>2</sub>O примећене код експерименталне групе на третману росувастатином, статистички значајне разлике у поређењу са контролном и осталим експерименталним групама није било.



**График 22.** Срчана фреквенца изолованог срца пацова у контролној и експерименталним групама пацова. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО- хипербарична оксигенација

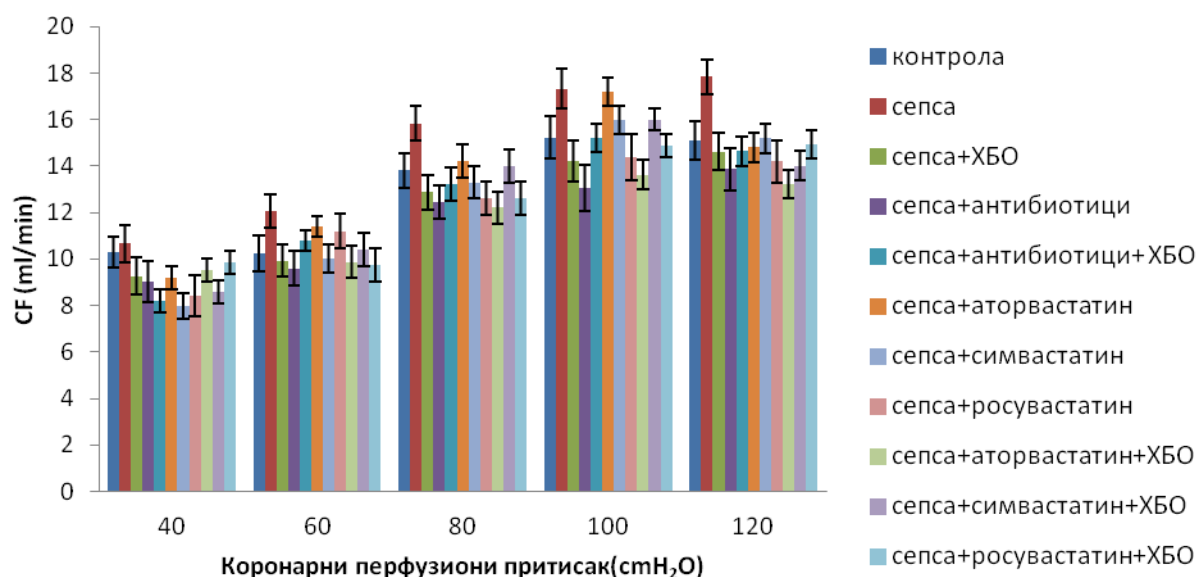


**Табела 14.** Приказ вредности срчане фреквенце у контролној и експерименталним групама.

<b>HR (bpm)</b>					
<b>CPP(cmH<sub>2</sub>O)</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>120</b>
<b>Контрола</b>	264,31±5,62	291,87±6,11	293,81±7,15	297,85±6,82	288,33±5,80
<b>Сепса</b>	260,71±11,31	272,83±13,01	279,61±18,63	298,06±12,07	272,26±10,00
<b>Сепса+ ХБО</b>	256,01±7,16	279,43±10,86	283,78±11,21	284,73±12,30	273,65±11,98
<b>Сепса+антибиотици</b>	259,21±12,01	256,32±15,31	278,47±15,62	292,05±16,34	283,98±14,34
<b>Сепса+ антибиотици+ХБО</b>	240,06±12,04	270,36±10,22	287,88±10,86	272,14±11,36	283,66±13,13
<b>Сепса+аторвастатин</b>	241,98±12,02	250,54±10,25	272,7±11,36	277,85±12,01	274,30±13,07
<b>Сепса+ симвастатин</b>	244,94±12,01	263,24±10,24	301,54±11,36	311,57±12,05	290,98±12,91
<b>Сепса+росувастатин</b>	287,87±12,55	297,12±12,78	283,49±15,61	292,22±16,34	289,64±14,08
<b>Сепса+аторвастатин+ХБО</b>	250,21±11,52	249,77±10,25	261,85±10,84	270,23±12,36	266,47±12,14
<b>Сепса+ симвастатин+ХБО</b>	259,98±12,02	264,96±9,82	261,12±9,87	269,87±14,21	263,24±13,65
<b>Сепса+ росувастатин+ХБО</b>	243,74±11,54	243,66±10,28	300,14±10,87	304,28±12,36	301,47±13,09

Резултати су приказани у виду средњих вредности ± стандардна девијација ( $X \pm SD$ ), при чему знак \* представља статистички значајно смањење у односу на контролну групу, док знак # представља статистички значајно смањење у односу на контролну групу на нивоу  $p < 0.05$ . ХБО- хипербарична оксигенација

На Графику 23 приказане су вредности коронарног протока изолованог срца пацова методом по Лангендорфу. Поредићи контролну са експерименталним групама примећено је статистички значајно повећање CF на свим притисцима (60-120 cmH<sub>2</sub>O) у експерименталној групи без терапије



**График 23.** Коронарни проток изолованог срца пацова у контролној и експерименталним групама пацова. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО- хипербарична оксигенација

**Табела 15.** Приказ вредности коронарног протока у левој комори у контролној и експерименталним групама.

CF (ml/мин)					
СРР(cmH <sub>2</sub> O)	40	60	80	100	120
<b>Контрола</b>	10,31 $\pm$ 0,65	10,25 $\pm$ 0,78	13,80 $\pm$ 0,76	15,23 $\pm$ 0,89	15,11 $\pm$ 0,82
<b>Сепса</b>	10,66 $\pm$ 0,79	12,06 $\pm$ 0,70*	15,83 $\pm$ 0,75*	17,33 $\pm$ 0,88*	17,83 $\pm$ 0,76*
<b>Сепса+ ХБО</b>	9,26 $\pm$ 0,79	9,93 $\pm$ 0,70	12,86 $\pm$ 0,75	14,23 $\pm$ 0,88	14,60 $\pm$ 0,81
<b>Сепса+антибиотици</b>	9,21 $\pm$ 0,89	9,60 $\pm$ 0,14	13,44 $\pm$ 0,71	14,86 $\pm$ 0,89	14,87 $\pm$ 0,97
<b>Сепса+ антибиотици+ХБО</b>	7,22 $\pm$ 0,51	10,82 $\pm$ 45	13,21 $\pm$ 0,71	15,20 $\pm$ 0,61	14,64 $\pm$ 0,63
<b>Сепса+аторвастатин</b>	9,2 $\pm$ 0,55	11,4 $\pm$ 0,45	14,22 $\pm$ 0,73	17,20 $\pm$ 0,61	14,81 $\pm$ 0,56
<b>Сепса+ симвастатин</b>	8,04 $\pm$ 0,55	10,00 $\pm$ 0,61	13,36 $\pm$ 0,71	16,12 $\pm$ 0,66	15,20 $\pm$ 0,76
<b>Сепса+росувастатин</b>	8,41 $\pm$ 0,89	11,20 $\pm$ 0,74	12,60 $\pm$ 0,75	14,40 $\pm$ 0,99	14,20 $\pm$ 0,87
<b>Сепса+аторвастатин+ХБО</b>	9,57 $\pm$ 0,51	9,81 $\pm$ 0,74	12,20 $\pm$ 0,71	13,63 $\pm$ 0,61	13,22 $\pm$ 0,63
<b>Сепса+ симвастатин+ХБО</b>	8,64 $\pm$ 0,50	10,40 $\pm$ 0,74	14,24 $\pm$ 0,71	16,25 $\pm$ 0,56	14,12 $\pm$ 0,47
<b>Сепса+ росувастатин+ХБО</b>	9,84 $\pm$ 0,49	9,74 $\pm$ 0,71	12,63 $\pm$ 0,71	14,88 $\pm$ 0,49	14,93 $\pm$ 0,65

Резултати су приказани у виду средњих вредности  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ), при чему знак \* представља статистички значајно повећање у односу на контролну групу на нивоу  $p < 0,05$ . ХБО- хипербарична оксигенација

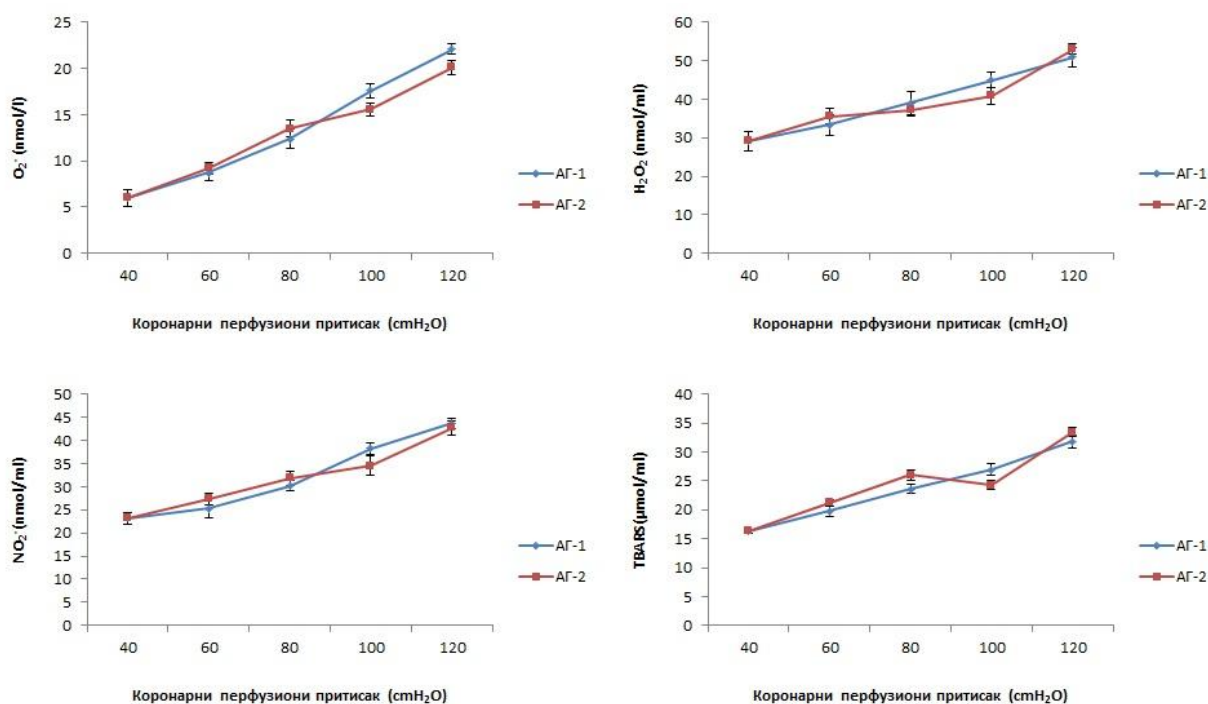
## 4.5. МАРКЕРИ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА У ПЕРФУЗАТУ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА

### 4.5.1. Ефекти статина и хипербаричне оксигенације на прооксидационе параметре у ефлуенту(поређење у групи)

У овом делу истраживања испитивани су ефекти фармаколошких агенаса из групе НМГ-инхибитора (аторвастатин, симвастатин и росувастатин) и хипербаричне оксигенације, самостално и у комбинацији на прооксидационе маркере (супероксид анјон радикал, водоник пероксид, нитрити и индекс липидне пероксидације) који су мерени спектрофотометријски у перфузату током функционалног испитивања изолованог срца пацова на *Langendorff* апарату.

#### Контролна група

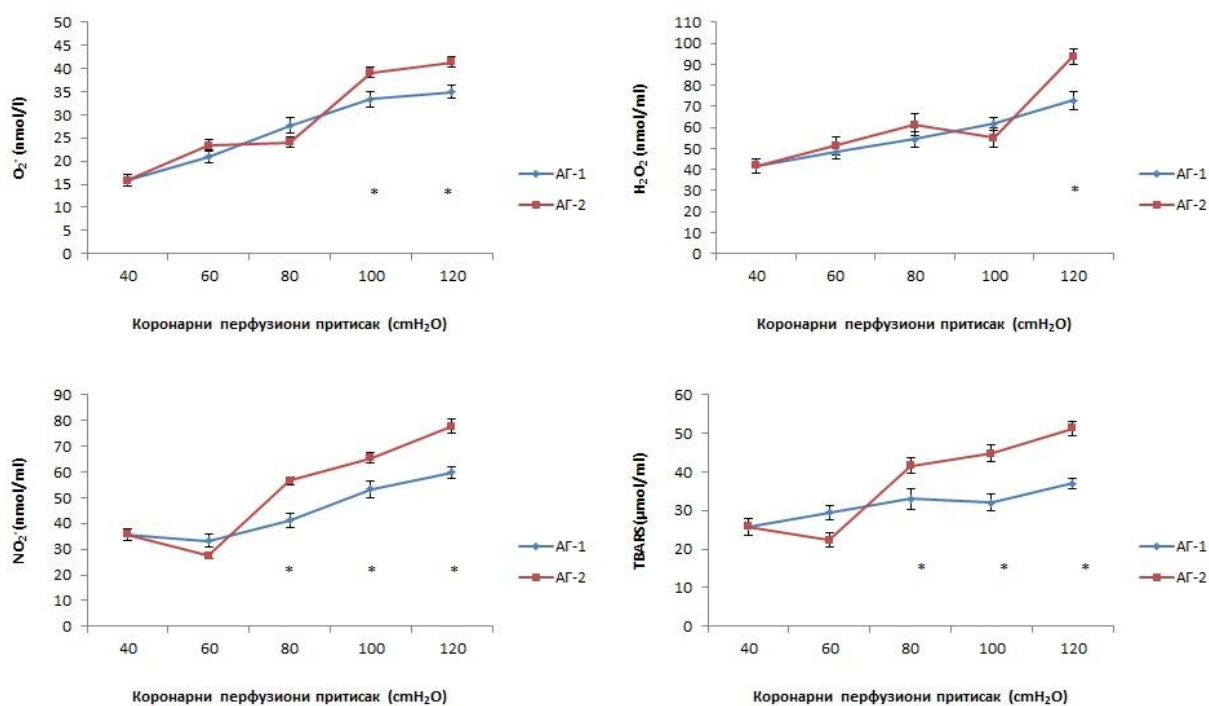
На Графику 24 приказане су средње вредности свих испитиваних прооксидационих параметара ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$ , TBARS) у контролној групи пацова. Није било статистички значајних разлика између ауторегулационих периода при промени коронарног перфузионог притиска у опсегу од 40 до 120  $cmH_2O$ .



**График 24.** Промене нивоа прооксидационих маркера у контролној групи пацова. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

### Експериментална група без терапије (сепса)

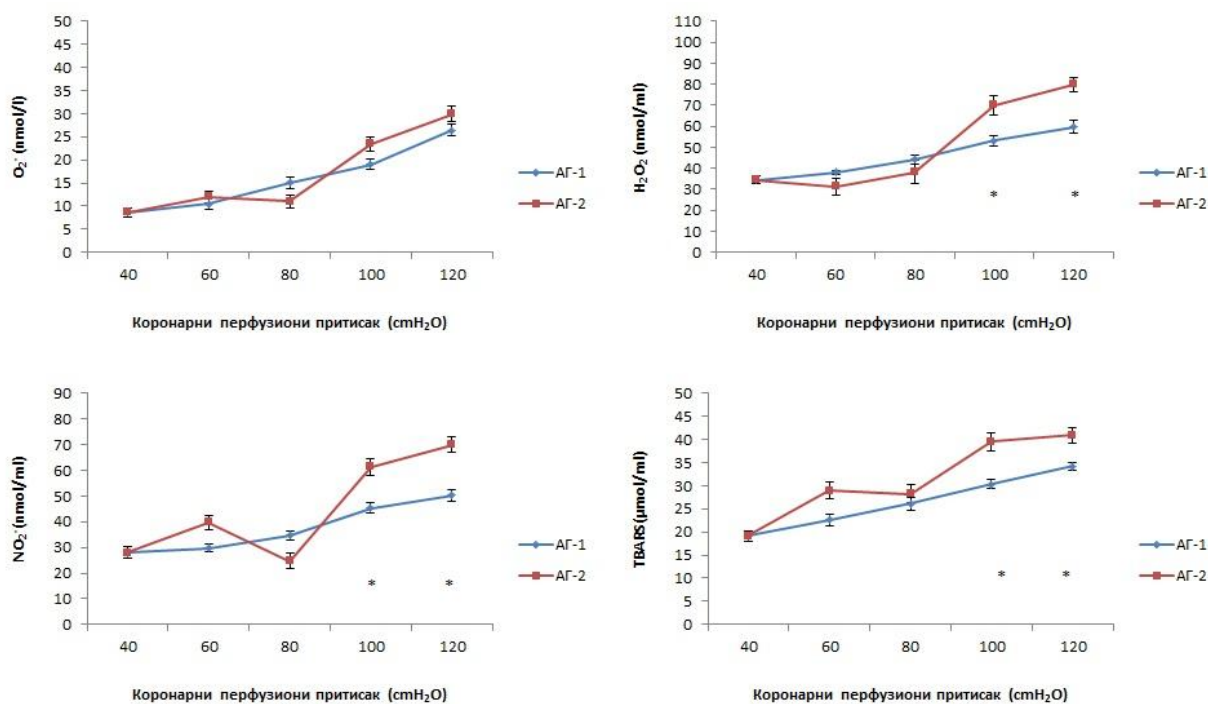
На Графику 25 приказане су средње вредности свих испитиваних прооксидационих параметара ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$ , TBARS) у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) који нису били ни на каквој терапији. Статистички значајна повећање нивоа супероксид анјон радикала, нитрита и индекса липидне пероксидације, мерен као TBARS-а у ауторегулационом периоду 2 у односу на ауторегулациони период 1 примећено је при вишим коронарно перфузионим притисцима (80 - 120  $cmH_2O$ ). Статистички значајно повећање нивоа  $H_2O_2$  у ауторегулационом периоду 2 уочено је притиску од 120  $cmH_2O$ .



**График 25.** Промене нивоа прооксидационих маркера у експерименталној групи пацова, без терапије. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

## Експериментална група на третману хипербаричном оксигенацијом (сепса+ХБО)

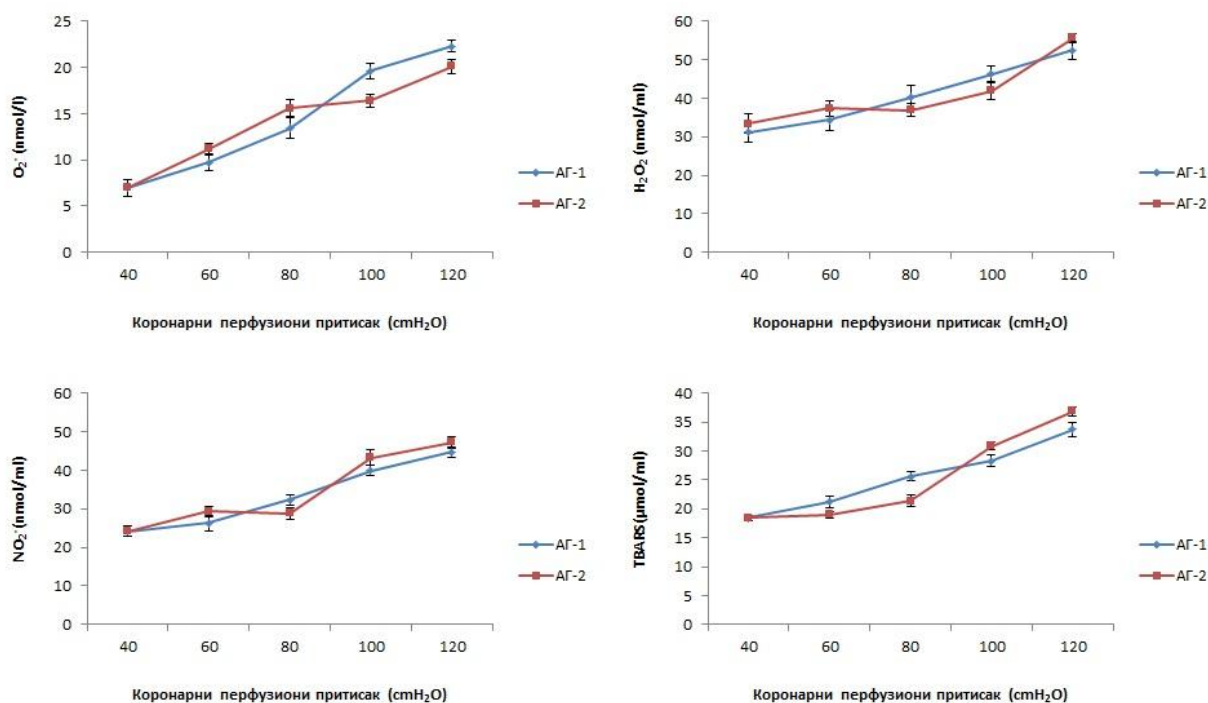
На Графику 26 приказане су средње вредности свих испитиваних прооксидационих параметара ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$ , TBARS) у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) која је била изложена тродневном третману хипербаричном оксигенацијом. Статистички значајан повећање нивоа водоник пероксида, нитрита и индекса липидне пероксидације мерен као TBARS у ауторегулационом периоду 2 у односу на ауторегулациони период 1 примећен је при вишим перфузионим притисцима од 100-120 cmH<sub>2</sub>O. Статистички значајне ослобађања супероксид анјон радикала није било.



**График 26.** Промене нивоа прооксидационих маркера у експерименталној групи пацова, која је на терапији хипербаричном оксигенацијом. Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

## Експериментална група на стандардној антибиотској терапији (сепса+антибиотици)

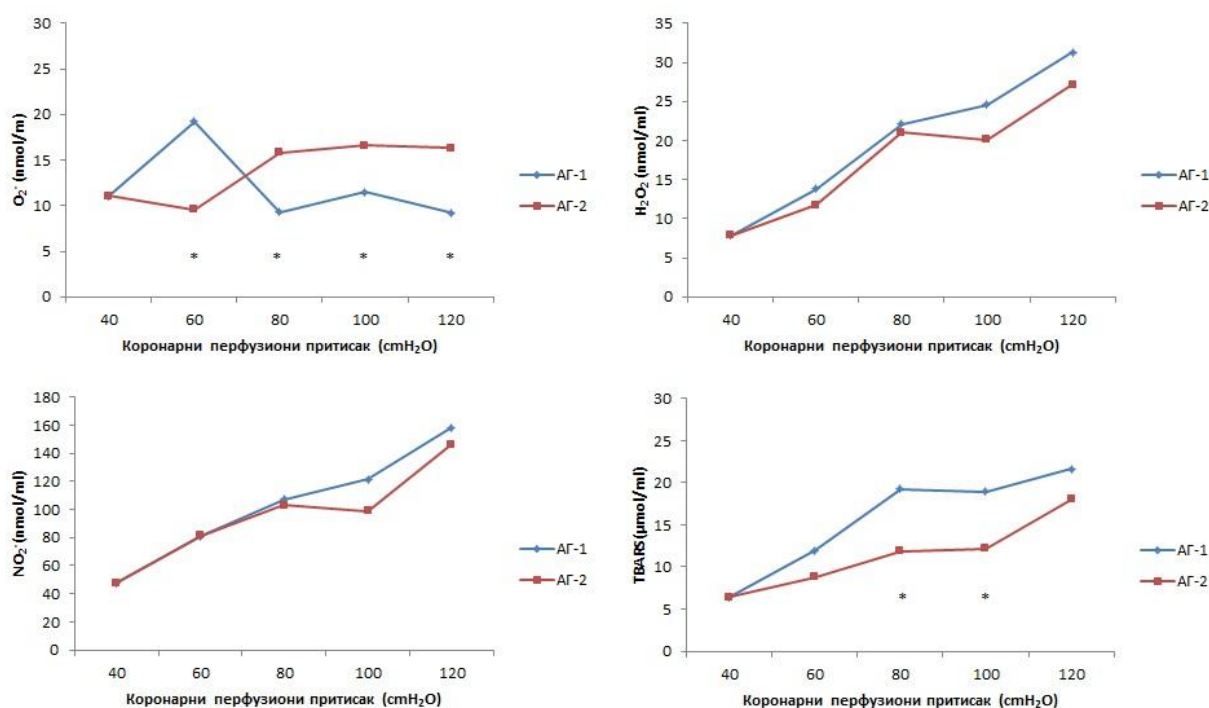
На Графику 27 приказане су средње вредности свих испитиваних прооксидационих параметара ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$ , TBARS) у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) на стандардној антибиотској терапији. Није било статистички значајних разлика између ауторегулационих периода при промени коронарног перфузионог притиска у опсегу од 40 до 120  $cmH_2O$ .



**График 27.** Промене нивоа прооксидационих маркера у експерименталној групи пацова на стандардној антибиотској терапији. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

## Експериментална група на антибиотској терапији уз хипербарично оксигенациони третман (сепса+антибиотици+ХБО)

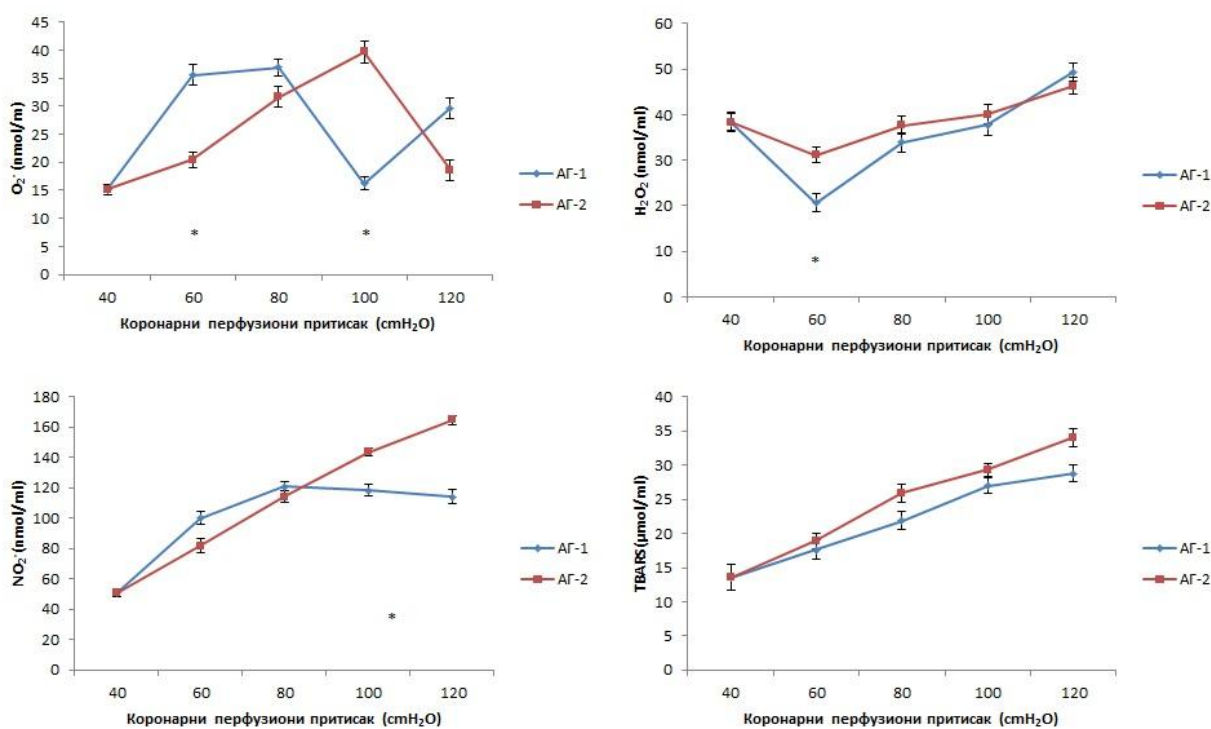
На Графику 28 приказане су средње вредности свих испитиваних прооксидационих параметара ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$ , TBARS) у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) на комбинованом третману стандардном антибиотском терапијом и хипербаричном оксигенацијом. Статистички значајно је промењен супероксид анјон радикал у ауторегулационом периоду 2 у односу на ауторегулациони период 1 при перфузионим притисцима од 80-120  $cmH_2O$ . Индекс липидне пероксидације, мерен као TBARS, значајно је повишен у ауторегулационом периоду 2 при вишим перфузионим притисцима од 80-100  $cmH_2O$ . Значајних промена осталих прооксидационих маркера није било.



**График 28.** Промене нивоа прооксидационих маркера у експерименталној групи пацова, на антибиотској терапији уз хипербарично оксигенациони третман. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2

## Експериментална група на третману аторвастатином (сепса+аторвастатин)

На Графику 29 приказане су средње вредности свих испитиваних прооксидационих параметара ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$ , TBARS) у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) који су на третману аторвастатином. Статистички значајан пораст у ауторегулационом периоду 2 у односу на ауторегулациони период 1 примећен је код водоник пероксида при перфузионом притиску од  $60\text{cmH}_2\text{O}$ . Са друге стране статистички значајно смањење у ауторегулационом периоду 2 примећено је код супероксид анјон радикала при перфузионим притисцима 600 и  $100\text{cmH}_2\text{O}$  и код нитрита при притиску од  $100\text{cmH}_2\text{O}$ .

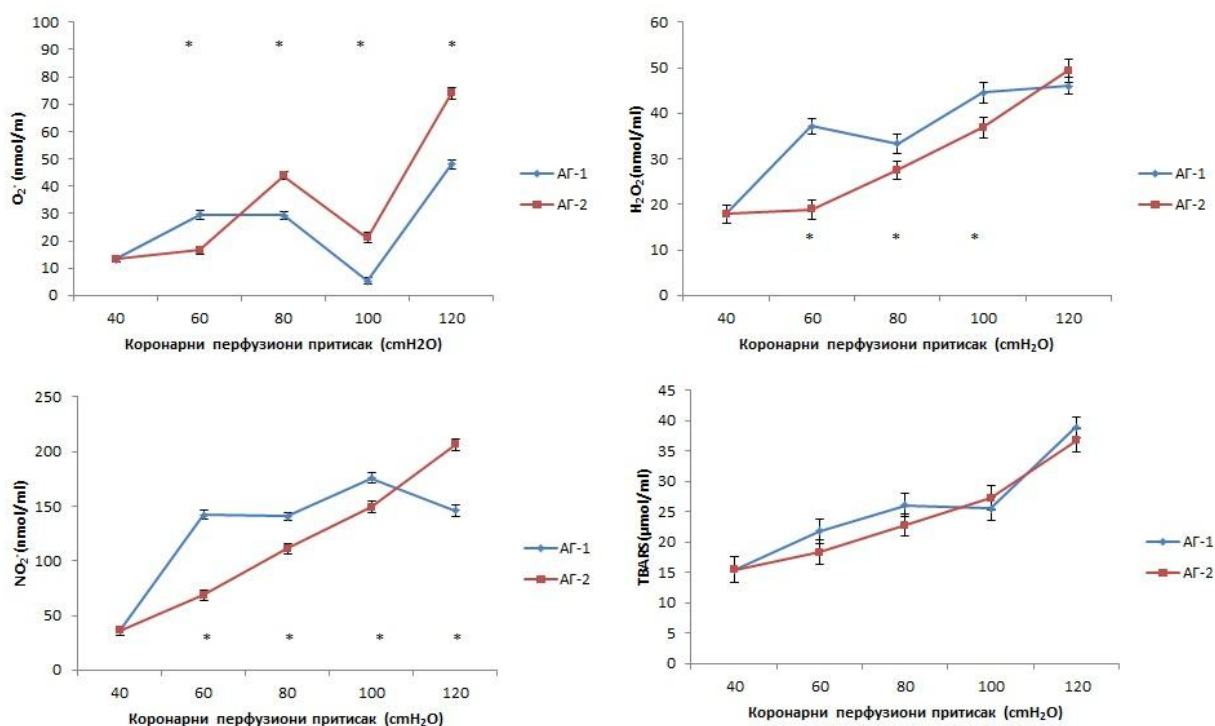


**График 29.** Промене нивоа прооксидационих маркера у експерименталној групи пацова, на третману аторвастатином. Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2



### Експериментална група на третману симвастатином (сепса+симвастатин)

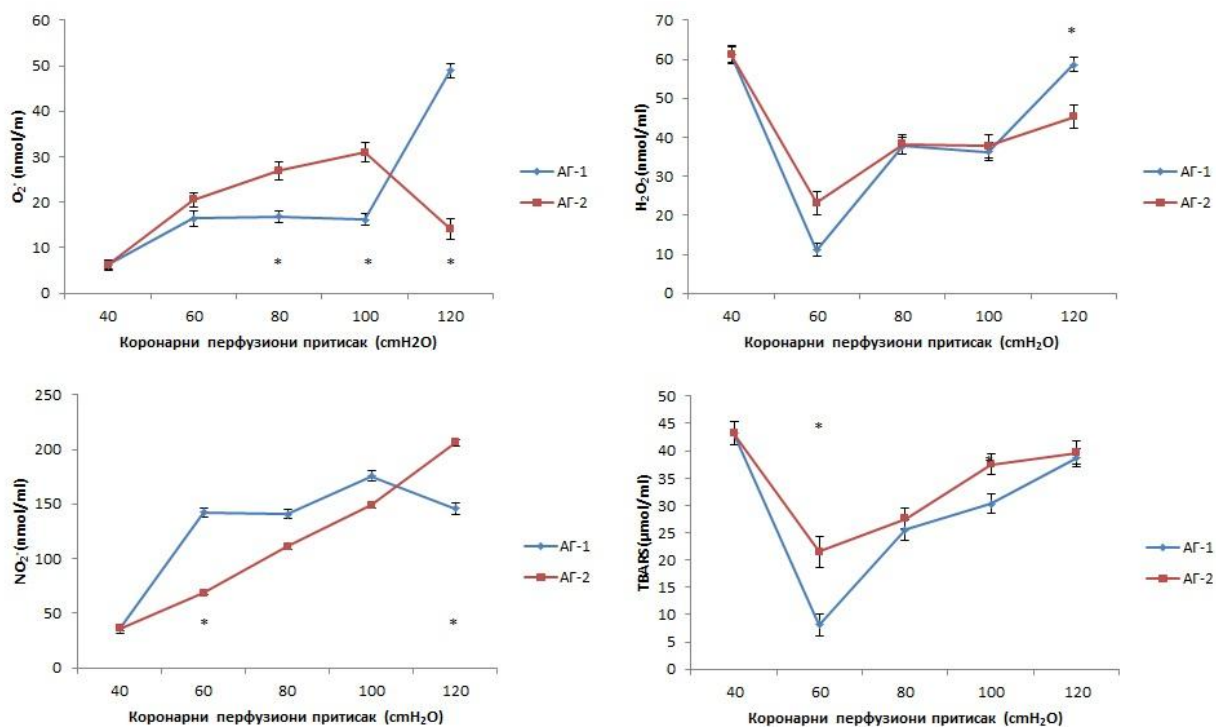
На Графику 30 приказане су средње вредности свих испитиваних прооксидационих параметара ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$ , TBARS) у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) који су на третману симвастатином. Статистички значајан пораст нивоа прооксиданаса у ауторегулационом периоду 2 у односу на ауторегулациони период 1 примећен је код водоник пероксида при перфузионом притиску од 60-100 $cmH_2O$ , супероксид анјон радикала при притиску од 80-120  $cmH_2O$  и код нитрита на 120 $cmH_2O$ . Статистички значајно смањено ослобађање прооксиданаса у ауторегулационом периоду 2 примећено је код супероксид анјон радикала при перфузионом притиску од 60 $cmH_2O$  и код нитрита при притиску од 120 $cmH_2O$ .



**График 30.** Промене нивоа прооксидационих маркера у експерименталној групи пацова, на третману симвастатином. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2

## Експериментална група на третману росувастатином (сепса+росувастатин)

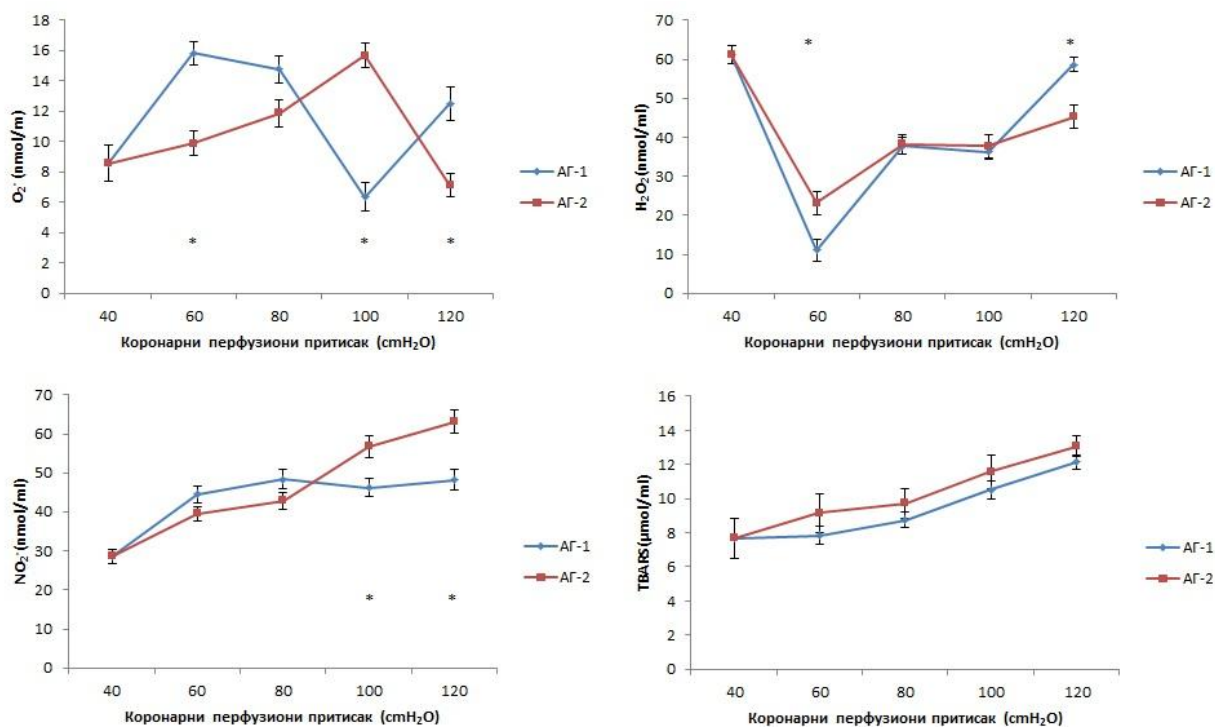
На Графику 31 приказане су средње вредности свих испитиваних прооксидационих параметара ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$ , TBARS) у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) који су на третману росувастатином. Статистички значајан пораст нивоа ослобађања прооксидационих маркера у ауторегулационом периоду 2 у односу на ауторегулациони период 1 примећен је код супероксид анјон радикала при притиску од 80-100  $cmH_2O$ , као и код водоник пероксида и нитрита при перфузионом притиску од 120  $cmH_2O$ . Значајно смањење нивоа прооксиданаса у ауторегулационом периоду 2 примећено је код нитрита и индекса липидне пероксидације при притиску од 60  $cmH_2O$ .



**График 31.** Промене нивоа прооксидационих маркера у експерименталној групи пацова, на третману росувастатином. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

## Експериментална група на терапији аторвастатином и хипербаричном оксигенацијом (сепса+аторвастатин+ХБО)

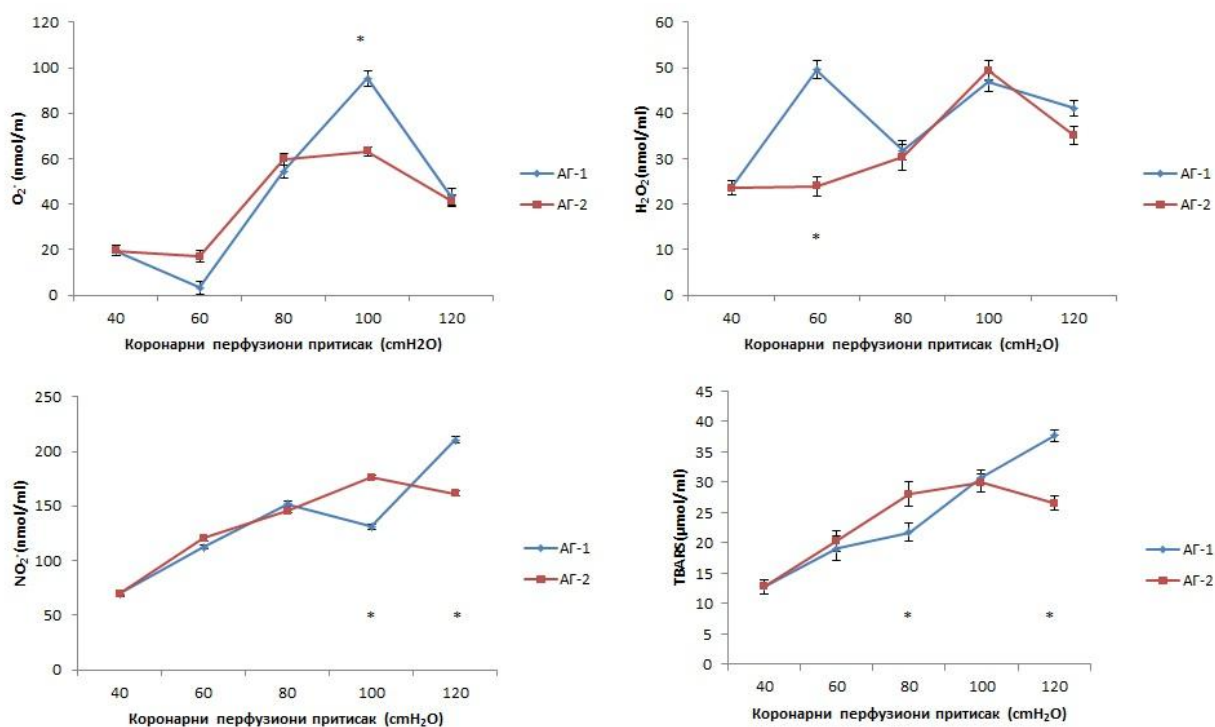
На Графику 32 приказане су средње вредности свих испитиваних прооксидационих параметара ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$ , TBARS) у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) који су на терапији аторвастатином у комбинацији са хипербарично оксигенационим третманом. Статистички значајна промена у нивоу ослобођеног супероксид анјон радикала примећена је при перфузионим притисцима од 60 и 120 cmH<sub>2</sub>O, где је дошло до смањеног ослобађања  $O_2^-$  у ауторегулационом периоду 2 у односу на ауторегулациони период 1. Са друге стране, при притиску од 100 cmH<sub>2</sub>O дошло је до повећаног ослобађања  $O_2^-$ . Ниво водоник пероксида је значајно промењен при притиску од 60 cmH<sub>2</sub>O, где је дошло до повећања, као и при 120 cmH<sub>2</sub>O на коме је забележено смањење нивоа  $H_2O_2$  у ауторегулационом периоду 2 у односу на ауторегулациони период 1. Ниво нитрита је значајно повишен при вишим перфузионим притисцима од 100-120 cmH<sub>2</sub>O.



**График 32.** Промене нивоа прооксидационих маркера у експерименталној групи пацова на терапији аторвастатином уз хипербарично оксигенациони третман. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

## Експериментална група на терапији симвастатином и хипербаричном оксигенацијом (сепса+симвастатин+ХБО)

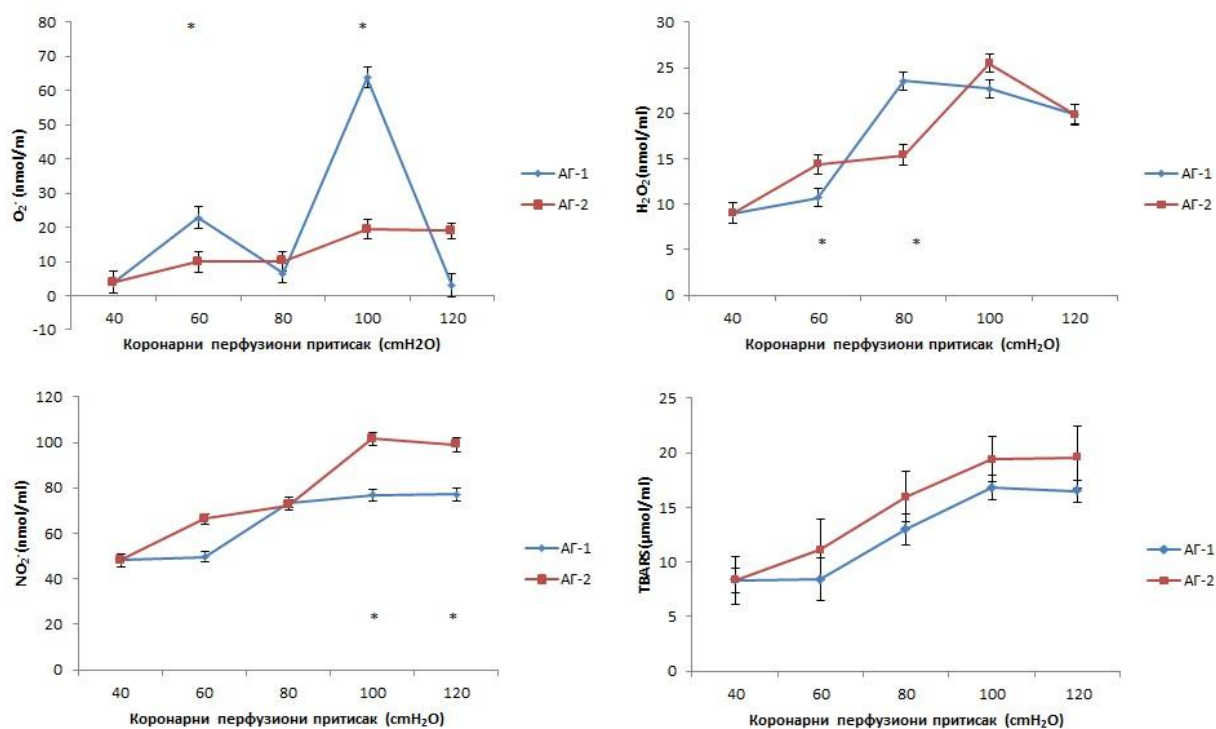
На Графику 33 приказане су средње вредности свих испитиваних прооксидационих параметара ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$ , TBARS) у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) који су на терапији симвастатином у комбинацији са третманом хипербаричне оксигенације. Статистички значајно смањење нивоа прооксидационих маркера у ауторегулационом периоду 2 у односу на ауторегулациони период 1 примећено је при перфузионим притисцима од  $60\text{cmH}_2\text{O}$  за  $H_2O_2$ ,  $100\text{cmH}_2\text{O}$  за  $O_2^-$  и при  $120\text{cmH}_2\text{O}$  са  $NO_2^-$  и TBARS. Значајно повећање TBARS-а уочено је при перфузионом притиску од  $80\text{cmH}_2\text{O}$ , док је повећан ниво ослобођених нитрита у ауторегулационом периоду 2 био при  $100\text{cmH}_2\text{O}$ .



**График 33.** Промене нивоа прооксидационих маркера у експерименталној групи пацова на терапији симвастатином уз хипербарично оксигенациони третман. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

## Експериментална група на терапији росувастатином и хипербаричном оксигенацијом (сепса+росувастатин+ХБО)

На Графику 34 приказане су средње вредности свих испитиваних прооксидационих параметара ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$ , TBARS) у експерименталној групи пацова (група пацова са индукованом сепсом) који су на терапији росувастатином у комбинацији са третманом хипербаричне оксигенације. Статистички значајно смањење нивоа супероксид анјон радикала у ауторегулационом периоду 2 је примећено при притиску од 60 и 100  $cmH_2O$ . Ниво водоник пероксида у ауторегулационом периоду 2 у односу на ауторегулациони период 1 је значајно повишен при притиску од 60 $cmH_2O$ , док је при притиску од 80 $cmH_2O$  значајно снижен. Ниво нитрита је значајно снижен при вишим перфузионим притисцима од 100-120 $cmH_2O$ .

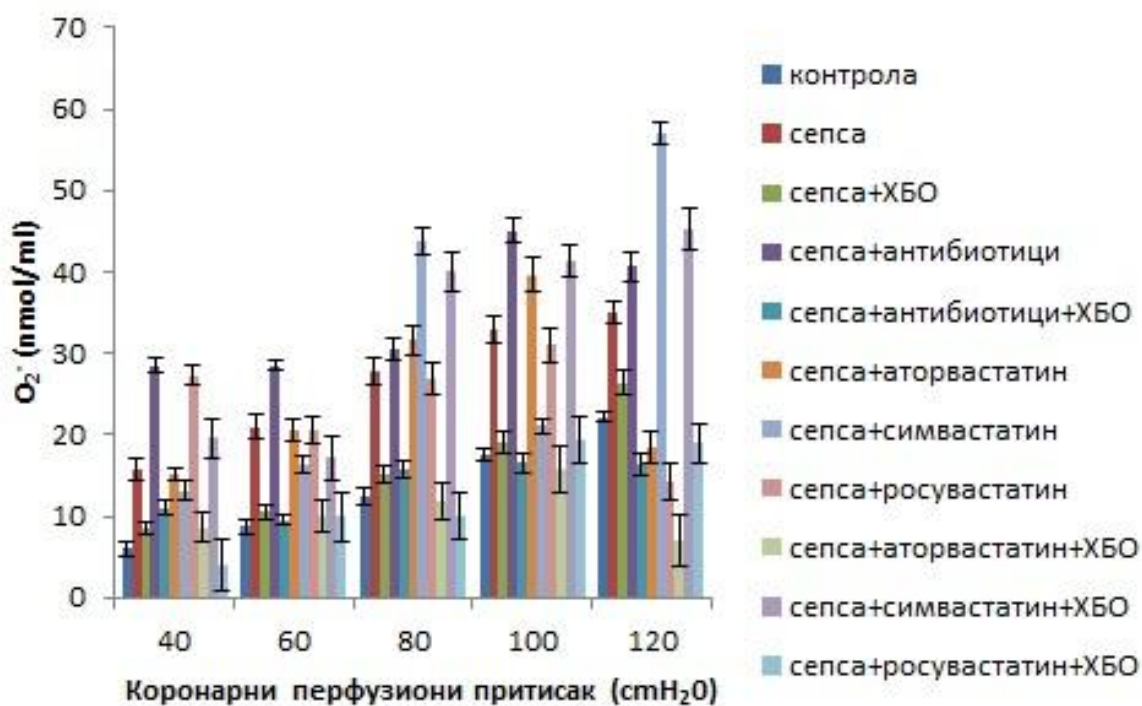


**График 34.** Промене нивоа прооксидационих маркера у експерименталној групи пацова на терапији росувастатином уз хипербарично оксигенациони третман. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$ . АГ 1- ауторегулациони период 1; АГ 2- ауторегулациони период 2.

#### 4.5.2. Ефекти статина и хипербаричне оксигенације на прооксидационе параметре у ефлуенту (поређење група)

У овом делу истраживања акценат смо ставили на испитивање утицаја самосталне примене статина и хипербаричне оксигенације, као и њихове комбинације на прооксидационе параметре у ефлуенту. Прооксидационе параметре као што су  $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ ,  $NO_2^-$  и TBARS посматрали смо одвојено и поређењем експерименталних група са контролном групом добили смо следеће резултате.

На Графику 35 приказане су средње вредности супероксид анјон радикала у контролној и експерименталним групама. Поредећи контролну групу са експерименталним групама примећено је статистички значајно повећање нивоа ослобођеног супероксид анјон радикала у готово свим експерименталним групама у односу на контролну групу при перфузионим притисцима од 40-120cm  $H_2O$ . Једино у групи која је третирана аторвастатином ниво  $O_2^-$  се статистички није значајно променио у односу на контролну групу при притисцима од 40-120cm  $H_2O$ . Комбинована примена антибиотика и хипербаричне оксигенације је остварила најбољи антиоксидациони ефекат, који се примећује на основу најнижег нивоа ослобођеног  $O_2^-$ .



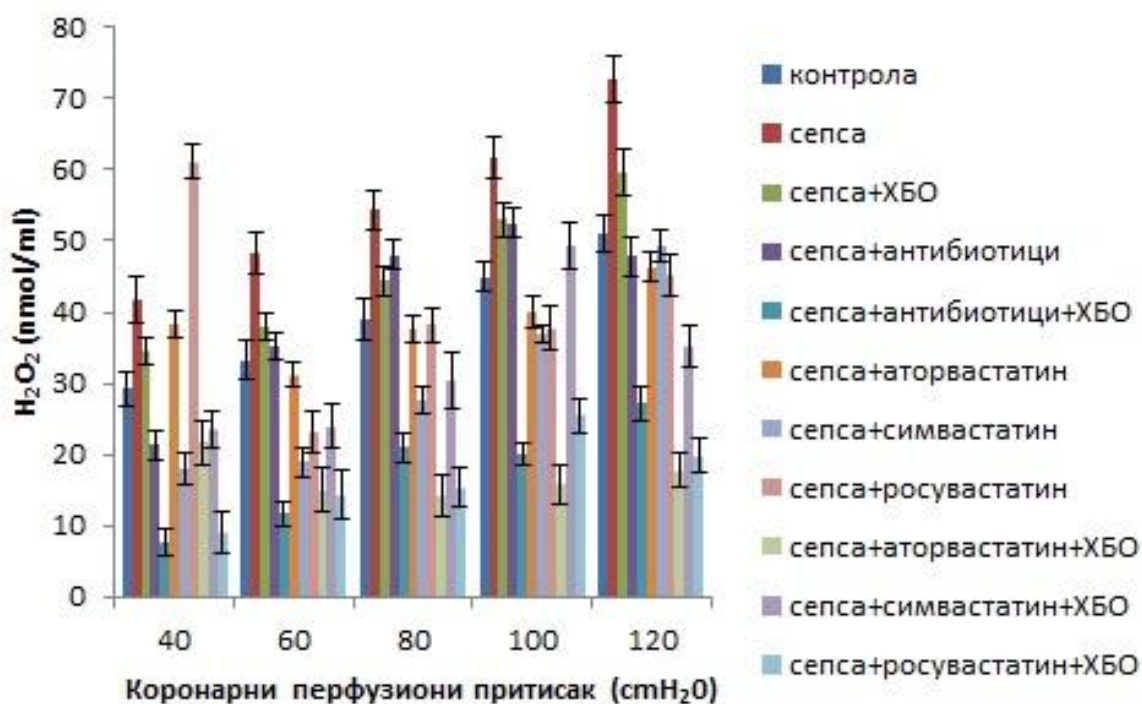
**График 35.** Вредности супероксид ањон радикала у контролној и експерименталним групама пацова. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО-хипербарична оксигенација

**Табела 16.** Приказ вредности супероксид ањон радикала у контролној и експерименталним групама.

<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup> (nmol/ml)</b>					
<b>СРР (cmH<sub>2</sub>O)</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>120</b>
<b>Контрола</b>	6,01 $\pm$ 0,9	8,71 $\pm$ 0,87	12,40 $\pm$ 1,11	17,61 $\pm$ 1,32	22,10 $\pm$ 1,65
<b>Сепса</b>	15,81 $\pm$ 1,27 <sup>#</sup>	20,98 $\pm$ 1,45 <sup>#</sup>	27,71 $\pm$ 1,65 <sup>#</sup>	32,82 $\pm$ 1,71 <sup>#</sup>	34,92 $\pm$ 1,35 <sup>#</sup>
<b>Сепса+ ХБО</b>	8,61 $\pm$ 0,81	10,51 $\pm$ 0,93	15,06 $\pm$ 1,11	19,01 $\pm$ 1,35	26,38 $\pm$ 1,45
<b>Сепса+антибиотици</b>	28,46 $\pm$ 0,93 <sup>#</sup>	28,47 $\pm$ 0,65 <sup>#</sup>	30,44 $\pm$ 1,34 <sup>#</sup>	45,07 $\pm$ 1,48 <sup>#</sup>	40,59 $\pm$ 1,86 <sup>#</sup>
<b>Сепса+ антибиотици+ХБО</b>	11,07 $\pm$ 0,84	9,55 $\pm$ 0,67	15,81 $\pm$ 1,14	16,60 $\pm$ 1,23 <sup>*</sup>	16,34 $\pm$ 1,36 <sup>*</sup>
<b>Сепса+аторвастатин</b>	15,15 $\pm$ 0,87 <sup>#</sup>	20,42 $\pm$ 1,35 <sup>#</sup>	31,63 $\pm$ 1,87 <sup>#</sup>	39,67 $\pm$ 2,01 <sup>#</sup>	18,58 $\pm$ 1,93
<b>Сепса+ симвастатин</b>	13,18 $\pm$ 1,12 <sup>#</sup>	16,47 $\pm$ 1,03 <sup>#</sup>	43,82 $\pm$ 1,58 <sup>#</sup>	21,08 $\pm$ 0,98 <sup>#</sup>	56,99 $\pm$ 1,24 <sup>#</sup>
<b>Сепса+росувастатин</b>	27,32 $\pm$ 1,17 <sup>#</sup>	20,56 $\pm$ 1,59 <sup>#</sup>	26,88 $\pm$ 1,87 <sup>#</sup>	30,97 $\pm$ 2,15 <sup>#</sup>	14,23 $\pm$ 2,26 <sup>*</sup>
<b>Сепса+аторвастатин+ХБО</b>	8,56 $\pm$ 1,78	9,88 $\pm$ 1,96	11,86 $\pm$ 2,15	15,68 $\pm$ 2,78	7,11 $\pm$ 3,14 <sup>*</sup>
<b>Сепса+ симвастатин+ХБО</b>	19,57 $\pm$ 2,37 <sup>#</sup>	17,13 $\pm$ 2,69 <sup>#</sup>	39,99 $\pm$ 2,55 <sup>#</sup>	41,36 $\pm$ 1,97 <sup>#</sup>	45,24 $\pm$ 2,43 <sup>#</sup>
<b>Сепса+ росувастатин+ХБО</b>	3,95 $\pm$ 3,12 <sup>*</sup>	9,88 $\pm$ 3,14	10,01 $\pm$ 2,95	19,37 $\pm$ 2,74 <sup>#</sup>	18,97 $\pm$ 2,36

Резултати су приказане у виду средњих вредности  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ), при чему знак \* представља статистички значајно смањење у односу на контролну групу на нивоу  $p < 0,05$ , док знак # представља статистички значајно повећање у односу на контролну групу за вредност на нивоу  $p < 0,05$

На Графику 36 приказане су средње вредности водоник пероксида у контролној и експерименталним групама. Поређећи контролну групу са експерименталним групама примећено је статистички значајно смањење нивоа ослобођеног водоник пероксида у експерименталним групама које су биле на третману симвастатином као и на третману антибиотицима, аторвастатином и росустатином у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом. Доминантно, највише вредности су примећене су код пацова којима је изазвана сепса а нису били на фармаколошком или нефармаколошком третману.



**График 36.** Приказ вредности водоник пероксида у контролној и експерименталним групама пацова. Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација ( $X \pm SD$ ).

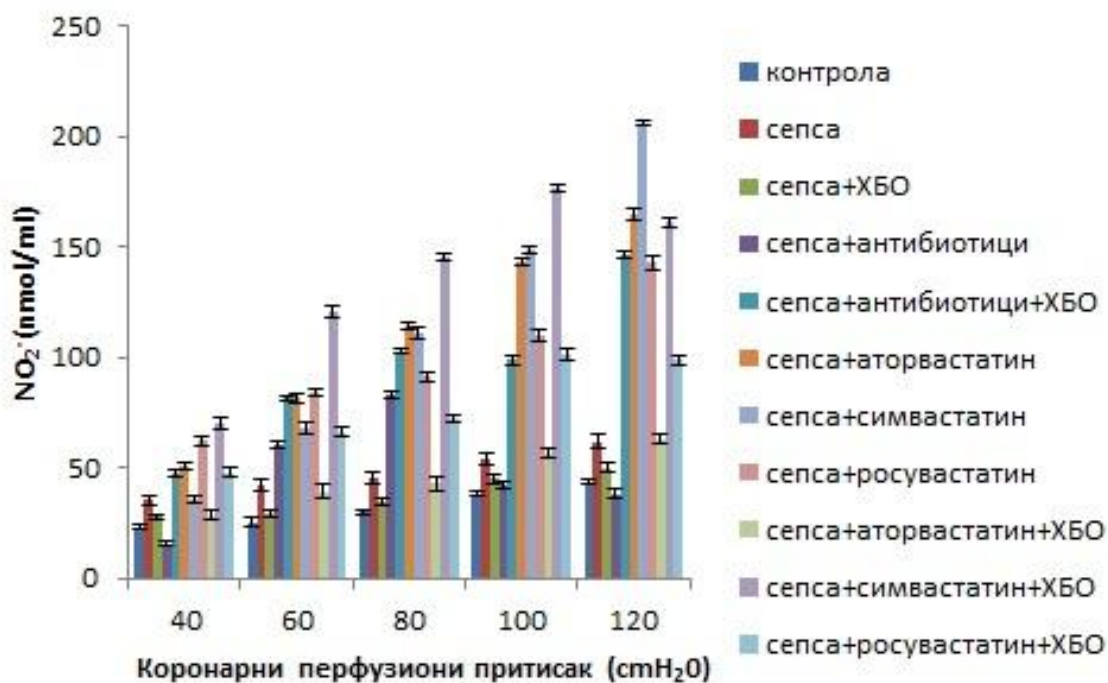


**Табела 17.** Приказ вредности водоник пероксида у контролној и експерименталним групама.

<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (nmol/ml)</b>					
<b>СРР(смH<sub>2</sub>O)</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>120</b>
<b>Контрола</b>	29,23±3,61	33,36±4,24	39,31±3,00	48,02±2,45	51,07±2,54
<b>Сепса</b>	41,84±3,32 <sup>#</sup>	48,39±2,98 <sup>#</sup>	54,37±2,75 <sup>#</sup>	61,66±3,01 <sup>#</sup>	72,77±3,36 <sup>#</sup>
<b>Сепса+ ХБО</b>	34,53±1,87 <sup>#</sup>	37,98±1,80	44,35±2,25 <sup>#</sup>	53,05±2,47	59,63±3,11 <sup>#</sup>
<b>Сепса+антибиотици</b>	21,38±2,14 <sup>*</sup>	35,06±1,95	48,02±2,04 <sup>#</sup>	52,49±1,99	47,81±2,75
<b>Сепса+ антибиотици+ХБО</b>	7,83±1,93 <sup>*</sup>	11,75±1,74 <sup>*</sup>	20,99±2,03 <sup>*</sup>	20,11±1,45 <sup>*</sup>	27,12±2,35 <sup>*</sup>
<b>Сепса+аторвастатин</b>	38,34±1,97 <sup>#</sup>	31,12±1,75	37,57±2,01	40,01±2,12	46,31±1,97
<b>Сепса+ симвастатин</b>	17,86±2,21 <sup>*</sup>	18,88±2,18 <sup>*</sup>	27,56±1,97 <sup>*</sup>	36,84±1,25 <sup>*</sup>	49,32±2,36
<b>Сепса+росувастатин</b>	61,10±2,36 <sup>#</sup>	23,22±2,98 <sup>*</sup>	38,20±2,47	37,66±3,12 <sup>*</sup>	45,25±3,02
<b>Сепса+аторвастатин+ХБО</b>	21,67±3,15 <sup>*</sup>	15,05±3,01 <sup>*</sup>	14,09±2,97 <sup>*</sup>	15,81±2,65 <sup>*</sup>	17,73±2,47 <sup>*</sup>
<b>Сепса+ симвастатин+ХБО</b>	23,55±2,58	23,94±3,12	30,30±3,95	49,36±3,17	35,13±2,94 <sup>*</sup>
<b>Сепса+ росувастатин+ХБО</b>	9,02±3,01 <sup>*</sup>	14,36±3,36 <sup>*</sup>	15,39±2,86 <sup>*</sup>	25,49±2,47 <sup>*</sup>	19,89±1,93 <sup>*</sup>

Резултати су приказане у виду средњих вредности ± стандардна девијација (X ± SD), при чему знак \* представља статистички значајно смањење у односу на контролну групу, док знак # представља статистички значајно повећање у односу на контролну групу за вредност p < 0,05.

На Графику 37 приказане су средње вредности нитрита у контролној и експерименталним групама. Поредећи контролну групу са експерименталним групама примећено је статистички значајно повећање нивоа нитрита у готово свим експерименталним групама у односу на контролну групу при перфузионим притисцима од 40-120cm H<sub>2</sub>O. Једино у групи која је третирана аторвастатином и хипербаричном оксигенацијом ниво нитрита се статистички није значајно променио у односу на контролну групу. Доминантно веће вредност у односу на остале групе примећена је у групи пацова која је третирана комбинацијом симвастатина и хипербаричне оксигенације.



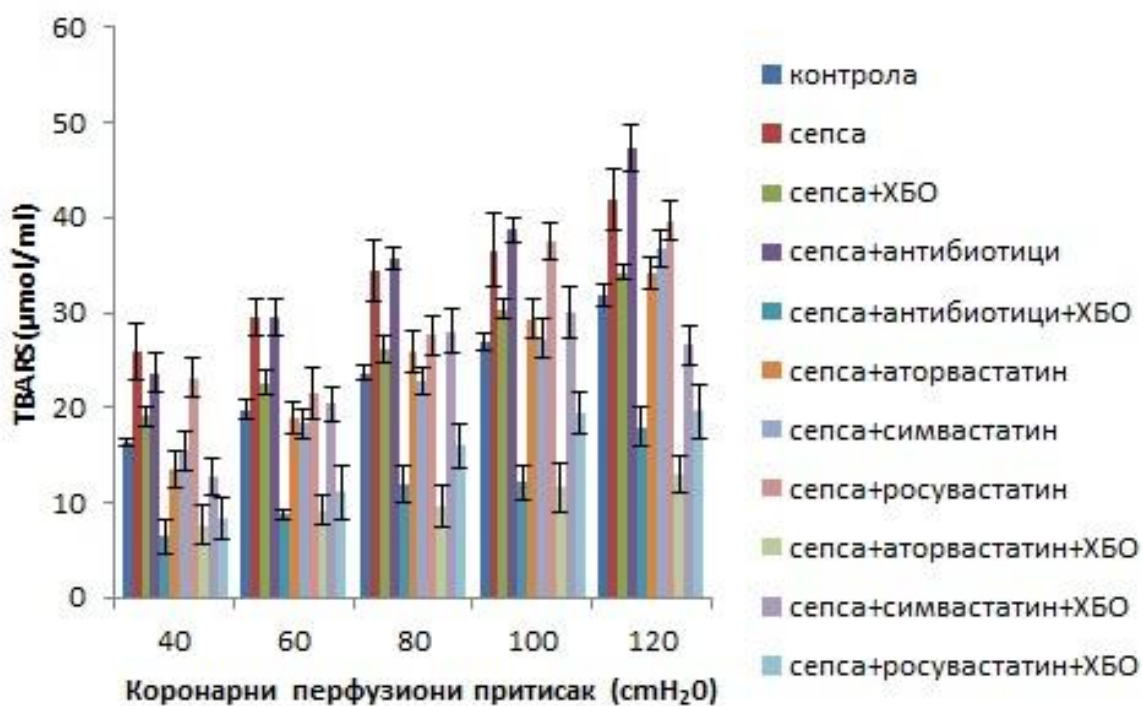
**График 37.** Приказ вредности нитрита у контролној и експерименталним групама пацова. Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО-хипербарична оксигенација

**Табела 18.** Приказ вредности нитрита у контролној и експерименталним групама.

<b>NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (nmol/ml)</b>					
<b>СРР(cmH<sub>2</sub>O)</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>120</b>
<b>Контрола</b>	23,27±1,33	25,36±2,11	30,25±1,27	38,34±1,32	43,78±1,26
<b>Сепса</b>	35,62±2,31 <sup>#</sup>	41,99±2,56 <sup>#</sup>	45,74±2,87 <sup>#</sup>	54,08±3,10 <sup>#</sup>	62,13±3,31 <sup>#</sup>
<b>Сепса+ ХБО</b>	27,98±1,14	29,70±1,63	34,66±1,82	45,32±2,19	50,17±2,36
<b>Сепса+антибиотици</b>	15,93±1,22 <sup>*</sup>	60,42±1,36 <sup>#</sup>	83,22±1,67 <sup>#</sup>	42,52±1,85	38,21±1,99 <sup>*</sup>
<b>Сепса+ антибиотици+ХБО</b>	47,87±1,56 <sup>#</sup>	81,61±1,47 <sup>#</sup>	102,88±1,36 <sup>#</sup>	98,90±2,02 <sup>#</sup>	146,52±1,97 <sup>#</sup>
<b>Сепса+аторвастатин</b>	50,70±1,95 <sup>#</sup>	81,80±2,01 <sup>#</sup>	114,23±1,74 <sup>#</sup>	143,63±1,56 <sup>#</sup>	164,84±2,16 <sup>#</sup>
<b>Сепса+ симвастатин</b>	36,07±1,58 <sup>#</sup>	68,47±1,69 <sup>#</sup>	111,06±2,87 <sup>#</sup>	148,97±1,82 <sup>#</sup>	206,12±2,36 <sup>#</sup>
<b>Сепса+росувастатин</b>	62,23±1,85 <sup>#</sup>	84,36±1,78 <sup>#</sup>	91,58±2,26 <sup>#</sup>	110,36±2,87 <sup>#</sup>	142,87±3,01 <sup>#</sup>
<b>Сепса+аторвастатин+ХБО</b>	28,65±2,36	39,58±3,04	42,83±2,87	56,78±2,14	63,13±2,22
<b>Сепса+ симвастатин+ХБО</b>	69,99±2,59 <sup>#</sup>	120,28±2,74 <sup>#</sup>	145,55±1,96 <sup>#</sup>	176,36±1,67 <sup>#</sup>	161,33±2,28 <sup>#</sup>
<b>Сепса+ росувастатин+ХБО</b>	48,10±2,23 <sup>#</sup>	66,38±1,95 <sup>#</sup>	72,35±1,87 <sup>#</sup>	101,47±2,88 <sup>#</sup>	99,00±1,93 <sup>#</sup>

Резултати су приказане у виду средњих вредности ± стандардна девијација (X ± SD), при чему знак \* представља статистички значајно смањење у односу на контролну групу, док знак # представља статистички значајно повећање у односу на контролну групу за вредност p < 0,05.

На Графику 38 приказане су средње вредности индекса липидне пероксидације (TBARS) у контролној и експерименталним групама. Поређећи контролну групу са експерименталним групама примећено је статистички значајно смањење индекса липидне проксидације (мерен као TBARS), у експерименталним групама које су биле на комбинованом третману антибиотицима, аторвастатином и росувастином са хипербаричном оксигенацијом.



**График 38.** Приказ вредности индекса липидне пероксидације(TBARS) у контролној и експерименталним групама пацова. Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација ( $X \pm SD$ ).

**Табела 19.** Приказ вредности индекса липидне пероксидације (TBARS) у контролној и експерименталним групама.

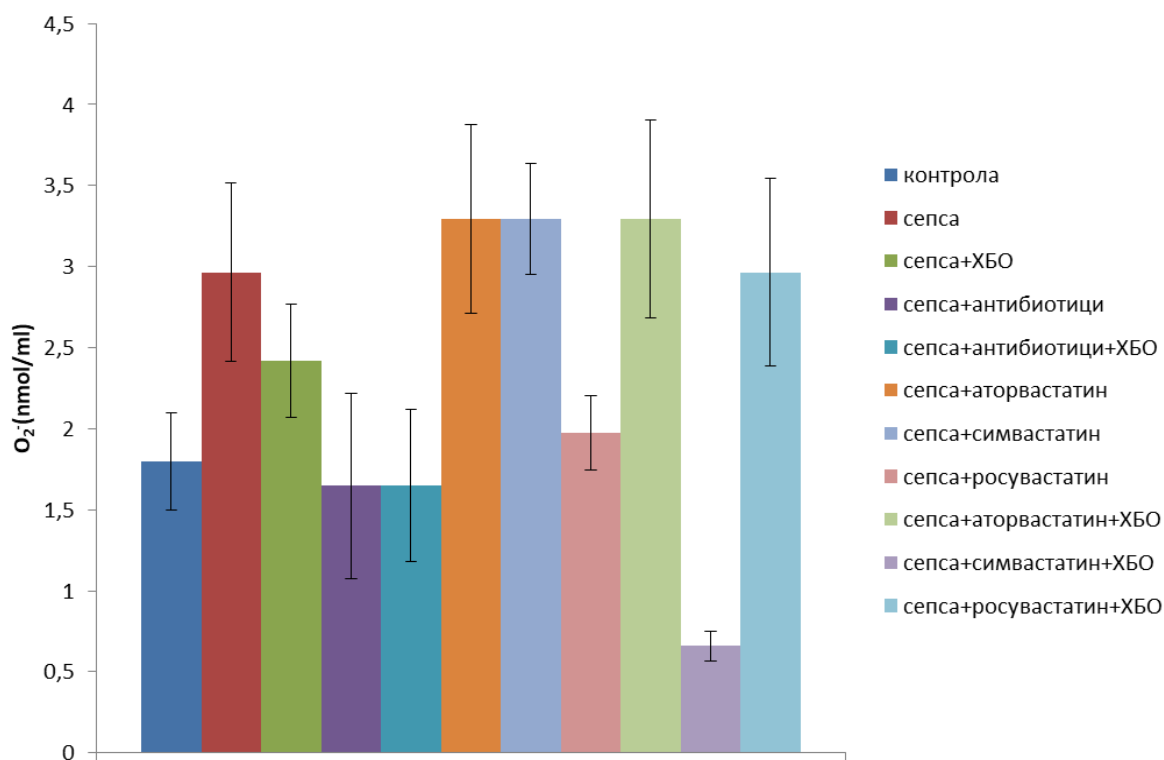
TBARS( $\mu\text{mol/ml}$ )					
CPP( $\text{cmH}_2\text{O}$ )	40	60	80	100	120
<b>Контрола</b>	16,36 $\pm$ 0,87	19,88 $\pm$ 0,93	23,61 $\pm$ 0,78	26,97 $\pm$ 0,99	31,84 $\pm$ 1,12
<b>Сепса</b>	25,86 $\pm$ 2,87 <sup>#</sup>	29,43 $\pm$ 1,92 <sup>#</sup>	34,42 $\pm$ 3,19 <sup>#</sup>	36,57 $\pm$ 3,88 <sup>#</sup>	41,93 $\pm$ 3,18 <sup>#</sup>
<b>Сепса+ ХБО</b>	19,11 $\pm$ 1,07	22,59 $\pm$ 1,26	26,16 $\pm$ 1,41	30,34 $\pm$ 1,04	34,25 $\pm$ 0,80
<b>Сепса+антибиотици</b>	23,67 $\pm$ 1,98 <sup>#</sup>	29,54 $\pm$ 1,87 <sup>#</sup>	35,68 $\pm$ 1,25 <sup>#</sup>	38,71 $\pm$ 1,36 <sup>#</sup>	47,30 $\pm$ 2,45 <sup>#</sup>
<b>Сепса+ антибиотици+ХБО</b>	6,45 $\pm$ 1,87 <sup>*</sup>	8,76 $\pm$ 0,59 <sup>*</sup>	11,90 $\pm$ 1,96 <sup>*</sup>	12,19 $\pm$ 1,82 <sup>*</sup>	18,04 $\pm$ 2,15 <sup>*</sup>
<b>Сепса+аторвастатин</b>	13,57 $\pm$ 1,98	18,89 $\pm$ 1,59	25,92 $\pm$ 2,18	29,30 $\pm$ 2,07	34,06 $\pm$ 1,68
<b>Сепса+ симвастатин</b>	15,45 $\pm$ 1,97	18,36 $\pm$ 1,97	22,82 $\pm$ 1,39	27,2 $\pm$ 2,14	36,72 $\pm$ 2,02
<b>Сепса+росувастатин</b>	23,15 $\pm$ 2,15 <sup>#</sup>	24,16 $\pm$ 2,78 <sup>#</sup>	27,58 $\pm$ 1,98	37,44 $\pm$ 1,88 <sup>#</sup>	39,65 $\pm$ 2,15
<b>Сепса+аторвастатин+ХБО</b>	7,67 $\pm$ 1,97 <sup>*</sup>	9,14 $\pm$ 1,52 <sup>*</sup>	9,72 $\pm$ 2,17 <sup>*</sup>	11,58 $\pm$ 2,62 <sup>*</sup>	13,14 $\pm$ 1,98 <sup>*</sup>
<b>Сепса+ симвастатин+ХБО</b>	12,75 $\pm$ 1,92	20,34 $\pm$ 1,84	28,05 $\pm$ 2,39 <sup>#</sup>	29,95 $\pm$ 2,72	26,54 $\pm$ 1,99
<b>Сепса+ росувастатин+ХБО</b>	8,34 $\pm$ 2,15 <sup>*</sup>	11,08 $\pm$ 2,78 <sup>*</sup>	15,96 $\pm$ 2,31 <sup>*</sup>	19,40 $\pm$ 2,14 <sup>*</sup>	19,57 $\pm$ 2,87 <sup>*</sup>

Резултати су приказане у виду средњих вредности  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ), при чему знак \* представља статистички значајно смањење у односу на контролну групу, док знак # представља статистички значајно повећање у односу на контролну групу за вредност  $p < 0,05$ .

## 4.6. МАРКЕРИ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА У КРВИ ПАЦОВА

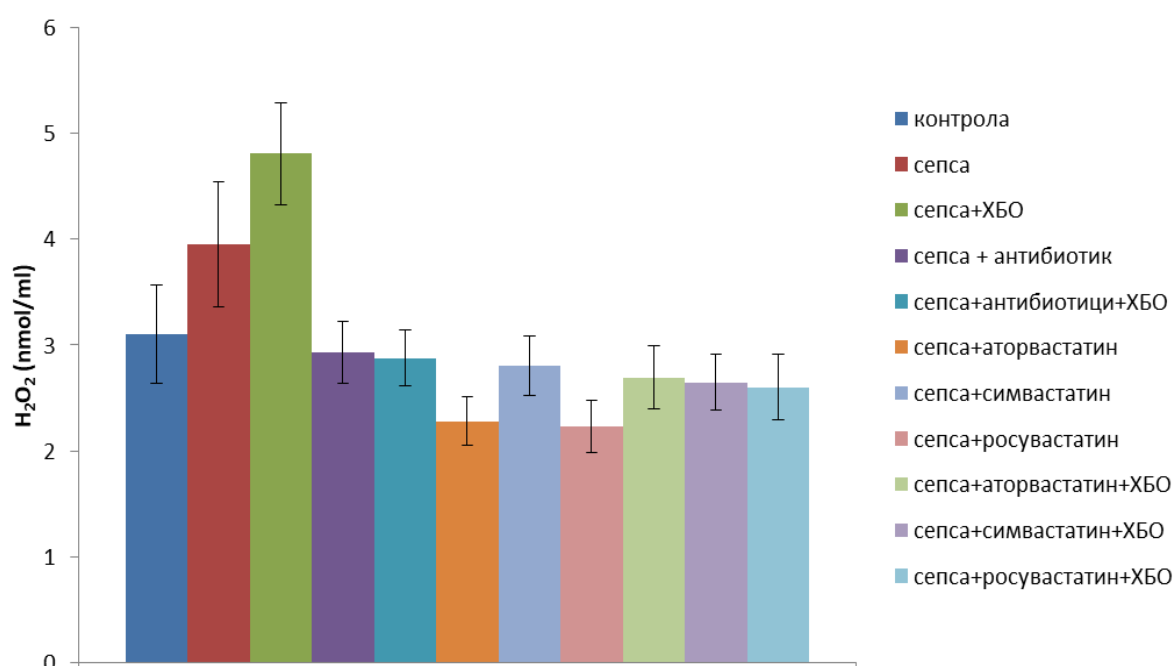
### 4.6.1. Ефекти статина и хипербаричне оксигенације на прооксидационе параметре у плазми (поређење група)

На графику 39. приказане су средње вредности супероксид анјон радикала у свим испитиваним групама. Доминантно ниже вредности наведеног параметра измерене су искључиво у групи пацова третираних комбинацијом симвастатина и хипербаричне оксигенације. Третман аторвастатином, симвастатином, као и комбинација ХБО са аторвастатином или росувастатином довели су до значајно повећаног ослобађања  $O_2^-$  у односу на контролну групу.



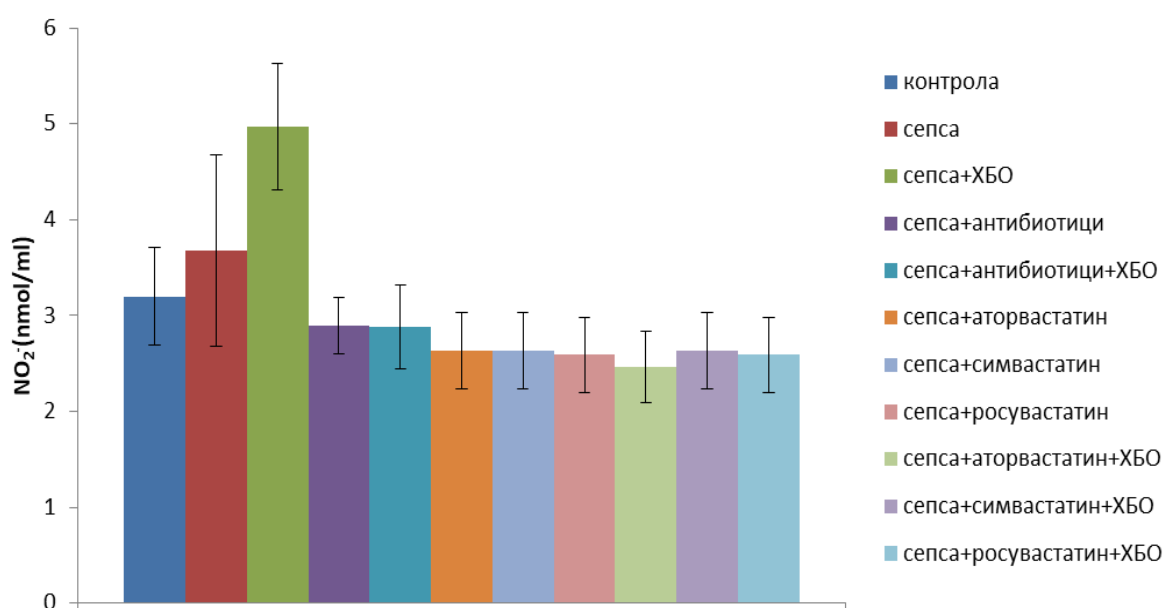
**График 39.** Приказ вредности супероксид анјон радикала у контролној и експерименталним групама. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО-хипербарична оксигенација.

На Графику 40 приказане су средње вредности водоник-пероксида у свим испитиваним групама. Значајно повећање концентрације ослобођеног водоник-пероксида уочено је у групи пацова оболелих од сепсе третираних хипербаричном оксигенацијом и групи пацова оболелих од сепсе, без третмана, у односу на контролну групу здравих пацова. Третман аторвастатином и росувастатином довео је до статистички значајног пада нивоа водоник-пероксида у односу на контролну групу.



**График 40.** Приказ вредности водоник пероксида у контролној и експерименталним групама. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО-хипербарична оксигенација.

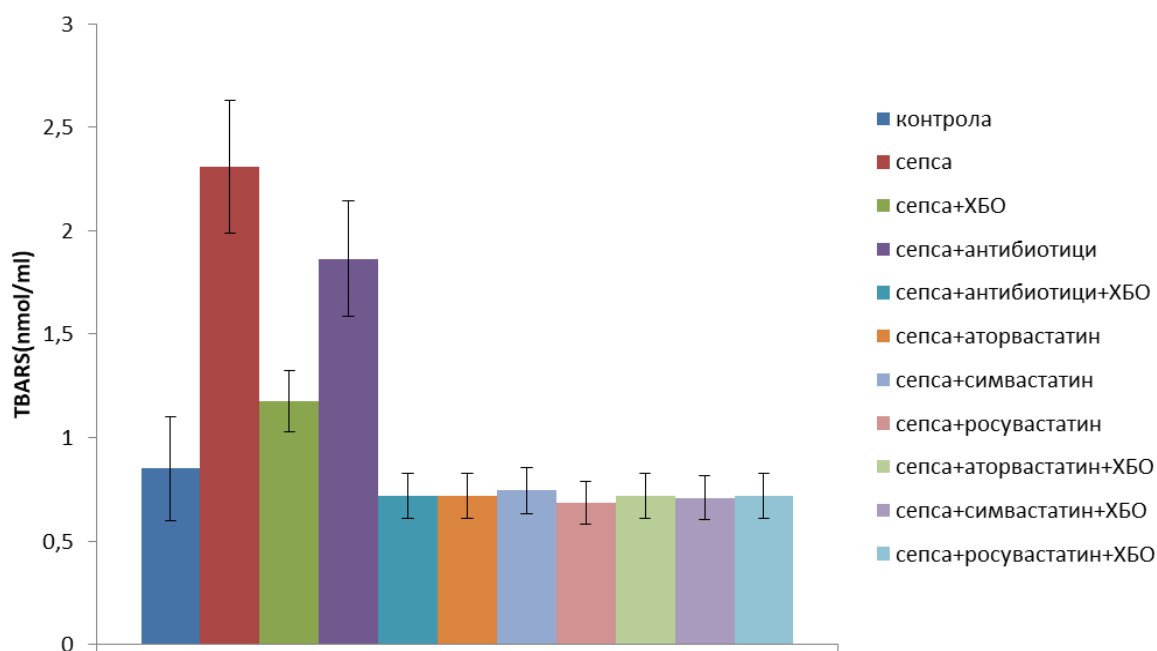
На Графику 41 приказане су средње вредности нитрити у свим испитиваним групама. Значајно више концентрације  $\text{NO}_2^-$  измерене су у групи пацова оболелих од сепсе, као и у групи пацова оболелих од сепсе третираних хипербаричном оксигенацијом у односу на контролну групу здравих животиња. Третман статинима самостално или у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом довео је до значајног пада нивоа нитрита у односу на контролу, док у групи пацова третираних антибиотцима самостално или у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом није примећена статистички значајна промена нивоа нитрита у односу на контролу.



**График 41.** Приказ вредности нитрита у контролној и експерименталним групама. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО-хипербарична оксигенација.



На Графику 42 приказане су средње вредности индекса липидне пероксидације мерен као TBARS у свим испитиваним групама. Значајно више вредности индекса липидне пероксидације у односу на контролну групу измерене су у групи пацова оболелих од сепсе, као и оних који су третирани антибиотицима или хипербаричном оксигенацијом самостално. Код осталих експерименталних група нису уочене статистички значајне промене у односу на здраве животиње.



**График 42.** Приказ индекса липидне пероксидације (TBARS) у контролној и експерименталним групама. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО-хипербарична оксигенација.

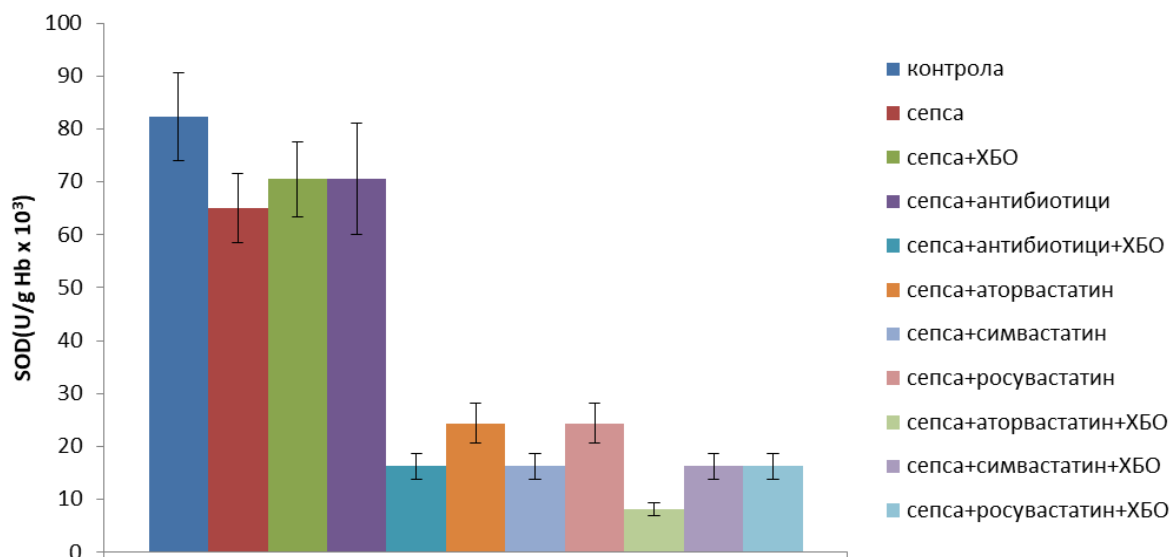
**Табела 20.** Приказ вредности прооксидационих параметара у контролној и експерименталним групама.

Група	Параметар			
	O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (nmol/ml)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (nmol/ml)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (nmol/ml)	TBARS (nmol/ml)
<b>Контрола</b>	1,80±0,30 <sup>#</sup>	3,10± 0,35	3,20±0,51	0,85±0,25
<b>Сепса</b>	2,96±0,55 <sup>#</sup>	3,95±0,27 <sup>#</sup>	3,67±0,63 <sup>#</sup>	2,31±0,32 <sup>#</sup>
<b>Сепса+ХБО</b>	2,42±0,35	4,80± 0,45 <sup>#</sup>	4,97±0,66 <sup>#</sup>	1,18±0,15 <sup>#</sup>
<b>Сепса+антибиотици</b>	1,65±0,57	2,93±0,29	2,89±0,43	1,86±0,28 <sup>#</sup>
<b>Сепса+антибиотици+ХБО</b>	1,65±0,47	2,88±0,26	2,88±0,42	0,72±0,12
<b>Сепса+аторвастатин</b>	3,29±0,58 <sup>#</sup>	2,28±0,23 <sup>*</sup>	2,63±0,39 <sup>*</sup>	0,72±0,11
<b>Сепса+симвастатин</b>	3,30±0,34 <sup>#</sup>	2,81±0,28	2,63±0,39 <sup>*</sup>	0,74±0,11
<b>Сепса+росувастатин</b>	1,98±0,23	2,23±0,24 <sup>*</sup>	2,59±0,38 <sup>*</sup>	0,68±0,10
<b>Сепса+аторвастатин+ХБО</b>	3,29±0,61 <sup>#</sup>	2,69±0,30	2,46±0,37 <sup>*</sup>	0,72±0,11
<b>Сепса+симвастатин+ХБО</b>	0,66±0,09 <sup>*</sup>	2,65±0,26	2,63±0,39 <sup>*</sup>	0,71±0,10
<b>Сепса+росувастатин+ХБО</b>	2,97±0,58 <sup>#</sup>	2,60±0,31	2,59±0,38 <sup>*</sup>	0,72±0,11

Резултати су приказани у виду средњих вредности ± стандардна девијација (X±SD), при чему знак \* представља статистички значајно смањење вредности параметра у односу на контролну групу, док знак # представља статистички значајно повећање у односу на контролну групу.

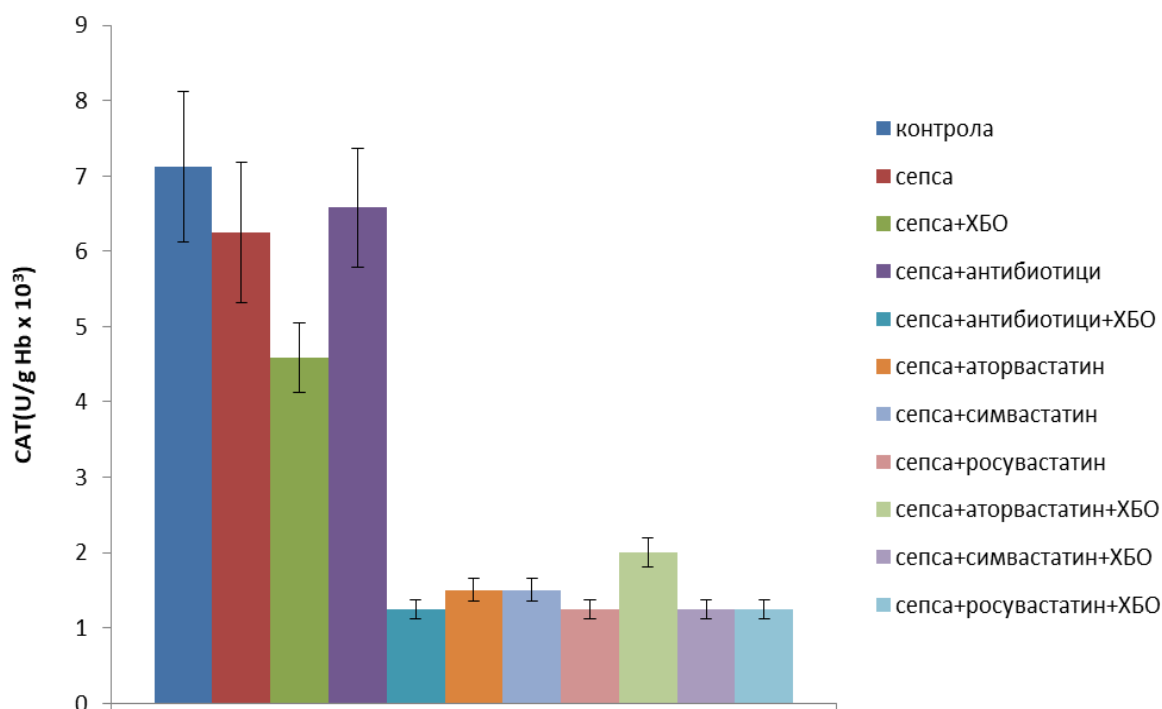
#### 4.6.2. Ефекти статина и хипербаричне оксигенације на антиоксидационе параметре у лизату еритроцита (поређење група)

На Графику 43 приказане су средње вредности супероксид дизмутазе у свим испитиваним групама. Доминантно ниже вредности овог маркера измерене су у групама пацова третираних аторвастатином, симвастатином и росувастатином, самостално или у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом, као и у групи пацова третираних комбинацијом антибиотика и хиперабаричне оксигенације ( $p < 0,01$ ). Извесно смањење активности овог ензима измерено је и у групи пацова оболелих од сепсе без третмана, док у осталим групама није дошло до значајних промена.



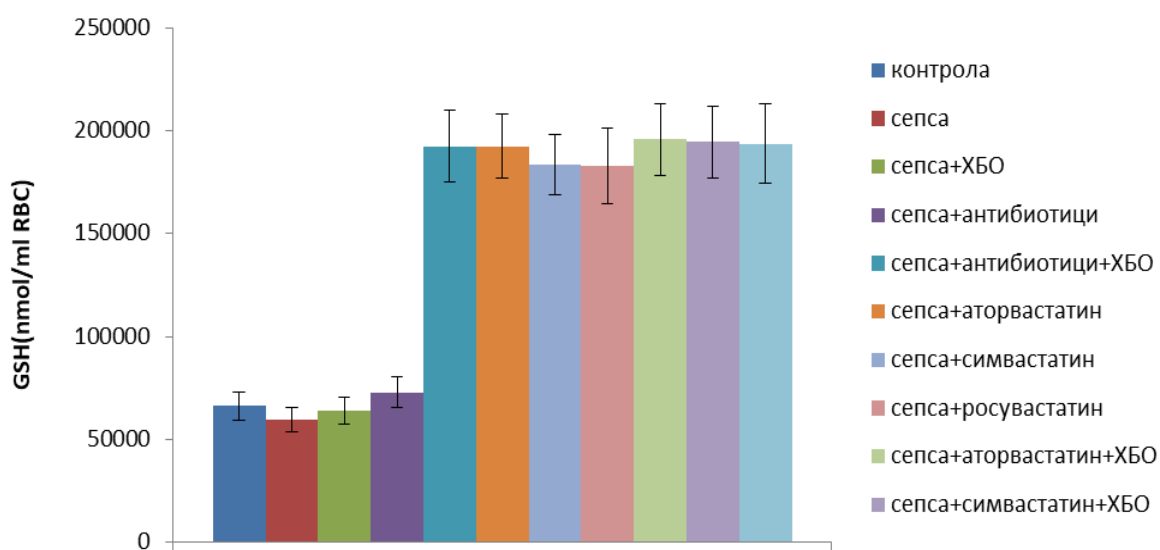
**График 43.** Приказ вредности супероксид дизмутазе у контролној и експерименталним групама. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО-хипербарична оксигенација

На Графику 44 приказане су средње вредности каталазе у свим испитиваним групама. Статистички значајно смањење активности каталазе у односу на контролну групу измерено је у групи животиња оболелих од сепсе, као и у групама оболелих од сепсе третираних хипербаричном оксигенацијом ( $p < 0,05$ ). Још израженији пад активности каталазе уочен је у групама пацова третираних аторвастатином, симавастатином и росувастатином, самостално и у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом ( $p < 0,01$ ).



**График 44.** Приказ вредности каталазе у контролној и експерименталним групама. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО-хипербарична оксигенација

На Графику 45 приказане су средње вредности редукованог глутатиона у свим испитиваним групама. Третман аторвастатином, симвастатином, росувастатином, као и комбинација истих са хипербаричном оксигенацијом довео је до статистички значајног повећања измерених концентрација редукованог глутатиона у односу на контролну групу. Значајно повећање уочено је у групи пацова третираних антибиотицима и хипербаричном оксигенацијом, док самостални третман антибиотицима или хипербаричном оксигенацијом није индуковао промене нивоа редукованог глутатиона.



**График 45.** Приказ вредности редукованог глутатиона у контролној и експерименталним групама. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). ХБО-хипербарична оксигенација

**Табела 21.** Приказ вредности антиоксидационих параметара у контролној и експерименталним групама.

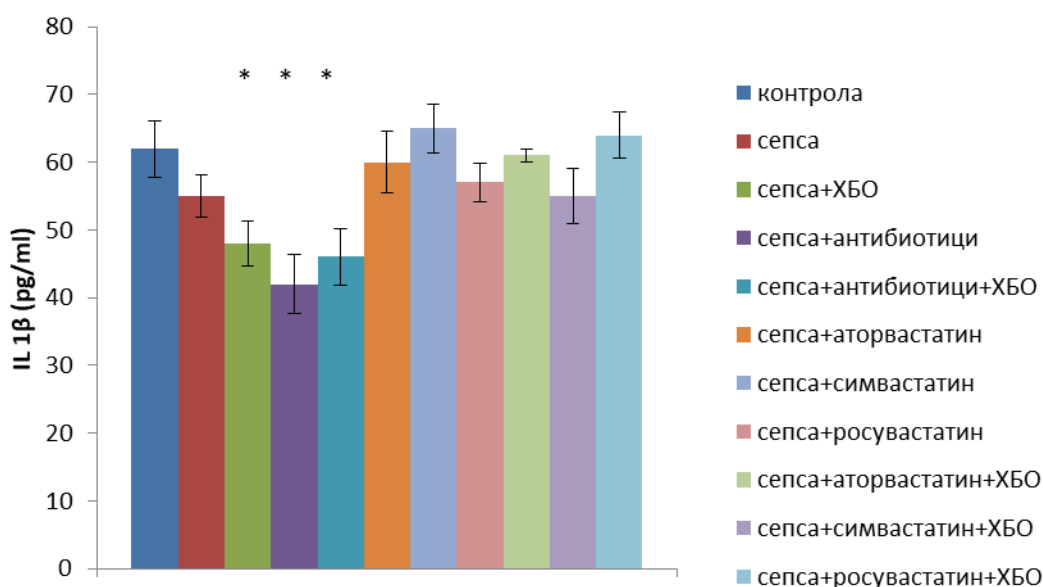
Група	Параметар		
	SOD	CAT	GSH
	(U/g Hb x 10 <sup>3</sup> )	(U/g Hb x 10 <sup>3</sup> )	(U/g Hb x 10 <sup>3</sup> )
<b>Контрола</b>	82,30±11,3	7,12±0,65	66230,00±5000,00
<b>Сепса</b>	65,12±12,8*	6,25±0,86*	59389,05±4898,33*
<b>Сепса+ХБО</b>	70,55±13,6	4,58±0,83*	64161,38±5135,58
<b>Сепса+антибиотици</b>	70,55±10,58	6,60±0,79	72910,66±7291,66
<b>Сепса+антибиотици+ХБО</b>	16,28±2,44*	1,25±0,12*	192452,30±17320,70 <sup>#</sup>
<b>Сепса+аторвастатин</b>	24,42±3,66*	1,25±0,12*	183349,82±14667,98 <sup>#</sup>
<b>Сепса+симвастатин</b>	16,28±2,44*	1,50±0,15*	182699,65±14615,97 <sup>#</sup>
<b>Сепса+росувастатин</b>	24,42±3,66*	1,50±0,15*	184650,18±18465,01 <sup>#</sup>
<b>Сепса+аторвастатин+ХБО</b>	8,14±1,22*	2,00±0,20*	195703,18±17613,28 <sup>#</sup>
<b>Сепса+симвастатин+ХБО</b>	16,28±2,44*	1,25±0,12*	194402,83±17496,25 <sup>#</sup>
<b>Сепса+росувастатин+ХБО</b>	16,28±2,44*	1,25±0,12*	193752,65±19375,27 <sup>#</sup>

Резултати су приказани у виду средњих вредности ± стандардна девијација (X±SD), при чему знак \* представља статистички значајно смањење вредности параметра у односу на контролну групу, док знак # представља статистички значајно повећање у односу на контролну групу на нивоу p<0.05

## 4.7. ЭФЕКАТ СТАТИНА И ХИПЕРБАРИЧНЕ ОКСИГЕНАЦИЈЕ НА БИОМАРКЕРЕ ИНФЛАМАЦИЈЕ

### 4.7.1. Интерлеукин 1 $\beta$ (IL1 $\beta$ )

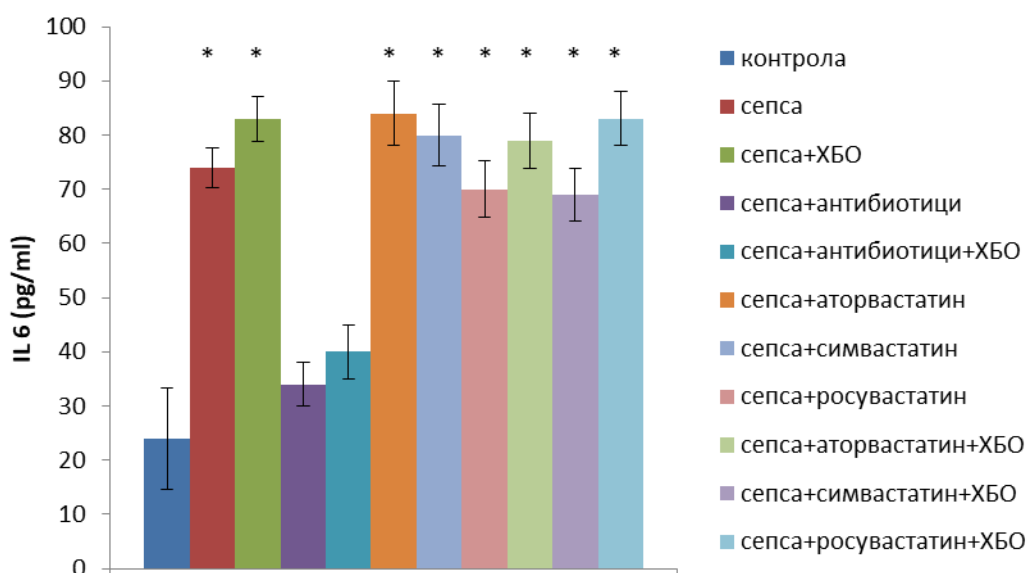
Значајно ниже вредности интерлеукина 1 $\beta$  у односу на контролну групу здравих нетретираних животиња примећене су у експерименталним групама животиња третираних антибиотицима, хипербаричном оксигенацијом, као и комбинацијом ова два третмана. У осталим експерименталним групама није дошло до значајних промена.



**График 46.** Просечне вредности интерлеукина 1бета (IL1 $\beta$ ) у испитиваним групама. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$  у односу на контролну групу. ХБО-хипербарична оксигенација.

#### 4.7.2. Интерлеукин 6 (IL 6)

Значајан пораст измерене концентрације интерлеукина 6 у односу на контролну групу забележен је у експерименталним групама оболелих од сепсе без третмана, третираним хипербаричном оксигенацијом, као и код животиња третираних аторвастатином, симвастатином и росувастатином, самостално или у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом. Са друге стране, третман антибиотцима самостално или у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом није довео до значајних промена овог параметра.

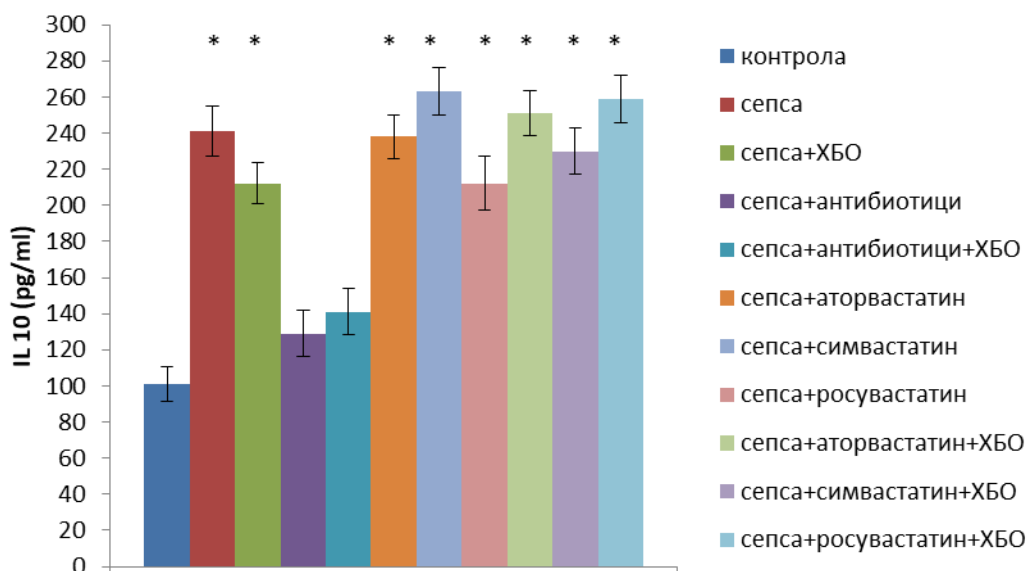


**График 47.** Просечне вредности интерлеукина 6 (IL6) у испитиваним групама. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$  у односу на контролну групу. ХБО-хипербарична оксигенација.



### 4.7.3. Интерлеукин 10 (IL 10)

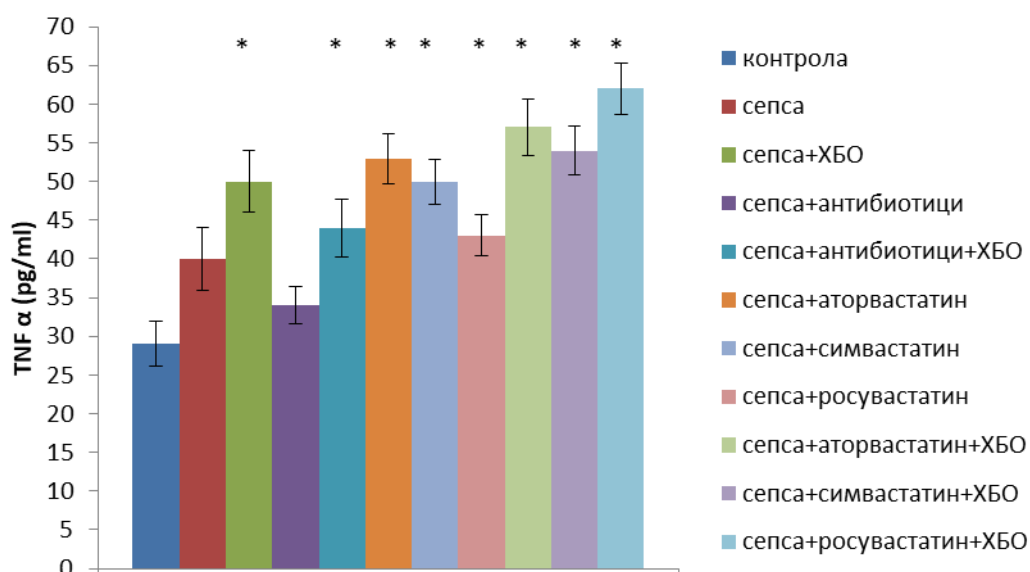
Значајан скок измерене концентрације интерлеукина 10 у односу на контролну групу забележен је у експерименталним групама оболелих од сепсе без третмана, третираним хипербаричном оксигенацијом, као и код животиња третираних аторвастатином, симвастатином и росувастатином, самостално или у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом. Супротно, третман антибиотцима самостално или у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом није индуковао значајне промене овог параметра.



**График 48.** Просечне вредности интерлеукина 10 (IL10) у испитиваним групама. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$  у односу на контролну групу. ХБО-хипербарична оксигенација.

#### 4.7.4. Фактор некрозе тумора алфа (TNF $\alpha$ )

У свим експерименталним групама изузев групе пацова третираних антибиотицима, забележен је статистички значајан пораст измерене концентрације фактора некрозе тумора у односу на контролну групу здравих животиња.



**График 49.** Просечне вредности фактора некрозе тумора (TNF $\alpha$ ) у испитиваним групама. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација ( $X \pm SD$ ). \*Статистички значајна разлика на нивоу  $p < 0,05$  у односу на контролну групу. ХБО- хипербарична оксигенација.

**V**

# **ДИСКУСИЈА**

## 5. ДИСКУСИЈА

Главни циљ спроведеног истраживања је био да утврди и испита утицај третмана хипербаричим кисеоником и лековима из групе статина (самостално или у комбинацији) на биохемијске и клиничке параметре сепсе код адултних пацова.

Примарна идеја за дизајнирање ове студије је била чињеница да се упркос великом напретку у открићу фактора укључених у патогенезу сепсе као и постављању савремених критеријума за њену дијагнозу, те идентификацији нових маркера њеног настанка и прогресије, још увек није много одмакло у успеху терапијских модалитета који су укључени у лечење овог стања поготово тежих облика.

Анимални модели сепсе зато могу послужити као најбоља опција за проналажење нових терапијских праваца и оруђа, и тако бити изванредна основа за креирање клиничких студија које би проучавале ову проблематику. У том смислу одлучили смо се да одаберемо модел сепсе који корелира са хуманом популацијом у погледу патогенетске основе и клиничког тока а заснива се на изазивању фекалног перитонитиса који врло брзо покреће снажан системски имунски одговор карактеристичан за сепсу са високим процентом смртности у прва 72 сата, чиме симулира тешке облике сепсе који су најзахтевнији за лечење (207).

У циљу потврде настанка и тежине сепсе одабрани су најчешћи и релевантни критеријуми који се користе у литератури за овај модел болести. Поред скале за процену тежине сепсе и мерења ректалне температуре, употребљавани су и различити биохемијски параметри као што су укупан број леукоцита, релативна леукоцитарна формула, С реактивни протеин и прокалцитонин.

Међу бројним терапијским агенсима и средствима који се последњих година помињу и истражују хипербарична оксигенација (ХБО) представља нову и веома обећавајућу процедуру чији се бенефит употребе чини оправданим на основу ретких студија које су испитивале ову тематику.

Са друге стране, постоје извесни подаци да од фармаколошких агенаса, лекови из групе статина такође могу бити од користи приликом употребе у овом стању. Осим тога, комбинована употреба ХБО и статина до сада није испитивана што свакако даје оригиналност спроведеној студији. У прилог новим информацијама које пружа ово истраживање иде и испитивање функције срца и коронарне циркулације током сепсе као и улоге срчаног и системског оксидационог стреса и различитих

интерлеукина као потенцијалних чинилаца укључених у механизме добијених ефеката.

## 5.1. ПРОЦЕНА ТЕЖИНЕ СЕПСЕ И СТОПЕ ПРЕЖИВЉАВАЊА

Као што је поменуто у претходном делу излагања најважнији задатак првог дела истраживања је био да процени и испита какви су ефекти самосталне и комбиноване примене хипербаричне оксигенације и различитих лекова из групе статина на стопу преживљавања и тежину сепсе код пацова. У ову сврху је коришћена скала за процену тежине сепсе односно њених клиничких показатеља код пацова као и читав сет биохемијских показатеља сепсе који је иначе користе и у хуманој популацији.

Наведени клинички систем бодовања за пацове представља поуздан показатељ тежине сепсе код ових анималних модела и користи се рутински у већине истраживања која проучавају овај патофизиолошки процес (198, 207). У том смислу, на основу наших резултата можемо изнети бројна запажања. Најпре се уочава да је код свих група са индукованом сепсом просечни скор на скали потврдио постојање сепсе умереног до тешког степена што нам је било од почетног великог значаја са аспекта потврде успешности модела и могућности да онда применимо испитиване терапијске модалитете.

Даље, јасно се примећује да је вредност скорa опадала а самим тим и тежина сепсе током периода праћења од 72 сата (до жртвовања) у групама које су третиране комбинацијом антибиотика као и удруженом применом антибиотика и хипербаричне оксигенације за разлику од свих осталих група животиња. Ове вредности су на крају евалуације (пред жртвовање) по својим вредностима на скали одговарале благој сепси односно предсептичном стању.

Када је реч о осталим групама, осим тренда пада вредности који се примећује у групи са самосталном применом ХБО, очигледно је да ниједан од примењених статина нису самостално или у комбинацији са хипербаричним кисеоником изазвали значајно померање вредности скорa односно на овај начин утицали на развој сепсе код пацова.

Да би добијени налази могли валидно да се узму у обзир морају се ставити у конотацију са осталим биохемијским показатељима сепсе о чему ће бити речи у наставку дискусије.

Објашњење за овакве налазе који се односе на скор сепсе се може добити из више углова посматрања. Наиме, најмање вредности скор на крају периода праћења након третмана комбинацијом антибиотика је, са аспекта досадашњих сазнања и клиничких искустава, очекиван и логичан резултат, будући да су употребљени антибиотици који покривају широк спектар бактеријских узрочника (*Escherichia coli*, *Streptococcus sp.*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas stutzeri* исл.) од који се већина налази у фецесу пацова који је коришћен за изазивање сепсе (208).

Са друге стране, иако самостална употреба кисеоника под високим притиском није донела значајне позитивне ефекте, комбинована примена ХБО и антибиотика је имала за последицу побољшање клиничких знакова сепсе пацова односно померање скале сепсе са вредности које одговарају тешкој сепси ка онима који указују на лакши облик сепсе. Узевши у обзир садашње резултате као и досадашња, додуше оскудна сазнања, ипак се може претпоставити да је овај удружени ефекат више био последица дејства антибиотика тј. позитивних услова у којима је хипербарични кисеоник могао лакше да оствари свој утицај.

За разлику од ових налаза примена статина како самостално тако и у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом није узроковала никакве промене у току сепсе ових животиња. Литератури подаци који се односе на профилактички и терапијски утицај статина код сепсе су малобројни и неусаглашени. Тако је у једној од студија показано да симвастатин може да умањи оштећења плућа код пацова којима је сепса изазвана липополисахаридом (209). Ипак у овом истраживању, осим разлике у моделу изазивања сепсе, симвастатин је примењен пре индукције и у дози од 40 mg/kg током четири дана (209). Протективни утицај симвастатина је био посредован повишеном експресијом iNOS ензима.

Осим базичних студија постоје и клиничка истраживања која су покушала да испитају протективни утицај статина код сепсе. Ови ефекти статин се заснивају пре свега на плејотропним дејствима ових агенса као што су анти-инфламаторно, анти-апоптотско, анти-пролиферативно и анти-тромботско (210). Међутим за испољавање ових ефеката очигледно је потребно да се статин примене као профилакса пре настанка септичног стања. У том смислу, није било студија које су показале позитивна дејства статина на терену већ настале сепсе већ искључиво као пре-третман (210) што је у корелацији са налазима ове студије.

На овом месту је важно напоменути да је готово у већини случајева једини испитивани лек из поменуте групе био симвастатин, док се од другим у пракси често коришћеним статинима као што су аторвастатин и росувастатин мало зна. Зато смо се у садашњем истраживању и одлучили да испитамо три различита статина.

Ипак, резултати које смо добили указују да ниједан од испитиваних лекова из ове групе није имао битнији утицај на ток и тежину сепсе код пацова. Узевши у обзир сазнања поменутих студија можемо претпоставити да би статини остварили ефикасније дејство у случају примене пре индукције сепсе.

Додатно, употреба хипербаричне оксигенације у комбинацији са статинима такође није довела до умањења тока и тежине клиничке слике код ових животиња. Ове резултате је тешко компарирати и објаснити у светлу других студија будући да у релевантним базама података нема радова који су проучавали удружени ефекат ова два типа терапијског приступа у лечењу сепсе код животиња или људи. Такође има само пар студија које су се бавиле утицајем ХБО на сепсу у оквиру како анималних тако и хуманих испитивања. У једној од ових студија Yamanel и сарадници су проучавали утицај ХБО на сепсу код пацова која је изазвана инокулацијом *E.coli* (211). Хипербарична оксигенација је примењена на сличан начин као у нашој студији, два пута дневно, на 2,8 АТА, али током пет дана од индукције сепсе (211). Добијени резултати су показали да је ХБО била повезана са смањењем оштећења плућаног ткива као и инфламације код ових пацова (211). Аутори су међутим сугерисали да би ефекат ХБО могао бити још бољи у случају комбинације ове процедуре као помоћне терапије уз каузалну антибиотску терапију (211).

Сумарно посматрано, на основу овог дела нашег истраживања се може закључити да је на примењеном моделу сепсе и у оквиру постављеног експерименталног дизајна једино антибиотска терапија самостално или у комбинацији са ХБО била повезана са редукцијом сепса скора односно ремисијом клиничког тока сепсе код испитиваних пацова. Добијени налази даље указују да се оправданост употребе ХБО у третману сепсе може разматрати пре свега у склопу адјувантног терапијског приступа са каузалном антибиотском терапијом. За потврду ових резултата су међутим потребна даља и комплекснија истраживања.

За разлику од ових налаза статини самостално или удружени са ХБО нису успели да ублаже ток и тежину сепсе код ових пацова. У том смислу остварени ефекти потврђују да је корисност употребе статина везана пре свега за пре-третман сепсе.

Сва изнесена опажања везана за скалу тежине сепсе налазе потврду у процентима преживљавања који су били највећи приликом примене антибиотика самостално или у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом. Наиме, највећи број животиња је доживео време жртвовања управо у овим групама.

Осим стопе преживљавања као још један од клинички аналогних параметара који допуњује резултате скале за бодовање тежине сепсе се користила и ректална температура пацова. За разлику од здравих пацова у свим групама са индукованом сепсом је дошло до промене телесне температуре пре свега у смислу њеног пада до краја периода праћења на хипотермалне вредности што нам је било од значаја за доказивање успешности коришћеног модела (са свим осталим клиничким и биохемијским анализама). Хипотермија као један од дијагностичких знакова сепсе (36, 37) није била промењена након примене било ког од терапијских модалитета, с тим што је овај тренд пада телесне температуре био најмањи у групама третираним антибиотцима и комбинацијом антибиотика и хипербаричне коморе. Овакви налази говоре у прилог претходних резултата који се односе на процену тежине сепсе и стопе преживљавања.

## **5.2. БИОХЕМИЈСКИ ПОКАЗАТЕЉИ СЕПСЕ**

Поред скале за анализу настанка и тежине сепсе, затим стопе преживљавања те ректалне температуре, биохемијски показатељи сепсе су употребљавани као важно дијагностичко средство у процени развоја сепсе, озбиљности њеног тока и успешности деловања испитиваних терапијских процедура и њених комбинација.

У нашем истраживању смо се одлучили за одређивање оних биохемијских параметара сепсе који су до сада клинички најсигурнији односно који се најчешће користе у пракси – Ц реактивни протеин, прокалцитонин и укупан број леукоцита са релативном леукоцитарном формулом (45-50).

Први биохемијски маркер односно Ц реактивни протеин (CRP) је сасвим очекивано био повишен у свим групама са изазваном сепсом са различитом динамиком током периода праћења у експерименталним групама у зависности од примењеног терапијског модалитета.

Наиме, антибиотска терапија самостално и у комбинацији са хипербаричним кисеоником је била повезана са редукцијом вредности CRP-а које су се непосредно



пред жртвовање приближиле контролној групи. За разлику од тога примена лекова из групе статина као и њихов удружен третман са хипербаричном оксигенацијом није узроковао битније промене у вредностима овог раног маркера запаљенског одговора карактеристичног за сепсу.

Прокалцитонин представља други, новији маркер сепсе који се последњих година показао као сензитивнији маркер сепсе од Ц реактивног протеина али заједно са њим и даље чини биохемијски стандард за процену тежине сепсе (48-50). У садашњој студији је такође коришћен у ове сврхе али и ради праћења ефикасности примењених терапијских режима. Можемо уочити да је за разлику од здравих животиња, у свим групама са изазваном сепсом забележено значајно повећање вредности прокалцитонина што нам је било такође важно у потврди валидности примењеног модела. Идентично као CRP, прокалцитонин се, осим након примене антибиотика и комбинације антибиотика и хипербаричне коморе, није битније мењао током периода праћења без обзира на употребљену врсту терапије.

Осим поменутих маркера укупан број леукоцита са релативном или апсолутном леукоцитарном формулом је такође рутински биохемијски показатељ сепсе који се деценијама користи у клиници (212). Интересантно је да је као и код претходно поменутих биохемијских параметара сепсе, укупан број леукоцита у групама са индукованом сепсом је био знатно нижи, међутим и даље без промене до жртвовања осим код пацова третираних антибиотцима и комбинацијом антибиотика и ХБО.

Када је реч о релативној леукоцитарној формули може се уочити да је непосредно након индукције сепсе проценат неутрофила био виши а лимфоцита нижи у односу на здраве животиње, док међу осталим врстама леукоцита није било важнијих промена приликом компарације са контролом. Овај тренд вредности се током периода праћења наставио у свим експерименталним групама изузев већ поменута два случаја – самостална употреба антибиотика и њихова комбинација са ХБО.

Овакав резултат свих наведених биохемијских маркера сепсе може бити последица очекиваног и добро познатог позитивног дејства антибиотика на клинички ток и тежину сепсе и наслања се на остале претходне резултате који су до сада поменути. Такође, чињеница да ХБО, за разлику од самосталне примене, као и у претходним случајевима остварује корисне ефекте само у комбинацији са антибиотском терапијом поново потврђује оправданост примене ове процедуре најпре у склопу поменутог терапијског приступа као доминантног.

Са друге стране, одсуство ефекта статина било самостално било удруженог са хипербаричном оксигенацијом још једном индикује да је за испољавање њихових протективних дејстава потребна профилактичка примена односно да у условима већ развијене сепсе њихов ефекат остаје миноран.

Претрагом литературе у релевантним базама података нису пронађени радови који су фокус истраживања ставили на поменуте биохемијске маркере сепсе у конотацији са ХБО и статинима. Иако се у овоме огледа оригиналност садашње студије, компарација и сагледавање наших налаза у светлу постојећих сазнања је отежана.

Генерално узевши, на основу ових резултата нашег истраживања се може закључити да је примена антибиотске терапије као и њено удружено дејство са ХБО било повезано са смањеним вредностима свих испитиваних биохемијских показатеља сепсе што је у корелацији са претходним клиничким показатељима.

За потврду свих наведних тврдњи неопходна су будућа истраживања са екстензивнијим дизајном.

### **5.3. ИСПИТИВАЊЕ *IN VIVO* И *EX VIVO* ФУНКЦИЈЕ СРЦА**

Проучавање функције срца *in vivo* и *ex vivo* и комбиновање добијених налаза представља још једну од оригиналности садашњег истраживања, будући да употреба обе методе за испитивање рада срца на моделу сепсе животиња до сада није изведена. Такође је мало познато понашање миокарда и коронарне циркулације у септичним условима (194) иако је одговор кардиоваскуларног система веома важан у савладавању системске инфламаторне реакције током сепсе и спречавању мултиорганске дисфункције која води у летални исход.

У циљу процене морфолошких и функционалних карактеристика срца живих животиња након инкдуције сепсе користили смо ултрасонографски преглед непосредно пред жртвовање. Резултати које смо добили су показали да индукција сепсе није била повезана са функционалним и морфолошким ултразвучним променама срца. Осим тога примена било ког терапијског режима такође није битније утицао на посматране параметре.

Ови налази очигледно указују да је за настанак проминентнијих промена у структури и раду срца потребно да сепса буде веома тешког облика односно да системски инфламаторни одговор буде веома екстензиван. Одсуство било каквих поремећаја морфо-функционалног типа након изазивања сепсе у садашњем моделу објашњава и немогућност ефикасног дејства испитиваних терспијских процедура и њихових комбинација.

Занимљиво је да су све студије које су проучавале сепсу са аспекта срчаних промена регистрованих на ултразвуку спроведене на хуманој популацији. Овај податак и не чуди јер ултразвучна дијагностика у јединицама интензивне неге представља поуздан, брз и неинвазиван приступ у регистровању хемодинамских поремећаја током сепсе који настају услед хиповолемије, вазоплегије и инсуфицијенције обе коморе срца (стање познато као септична кардиомиопатија) (213). У том смислу, попуштање кардиоваскуларног система са циркулаторном и срчаном дисфункцијом се заиста срећу код људи али пре свега код изразито тешких облика сепсе односно лошег одговора организма на терапију.

Поремећаји функције срца током сепсе су примећени код пацијената са септичним шоком у виду смањене ејекционе фракције и повећаног индекса енд-дијастолног волумена (214). Такође је уочено да настали поремећаји могу бити и реверзибилне природе односно могу се повратити у физиолошке вредности након десет дана од успешног третмана сепсе (214).

Други подаци показују да је код људи са септичним шоком за очекивати настанак срчаних аномалија као што су промене дијаметра обе коморе, задебљање зида десне коморе те поремећаји параметара који су индикатори систолне и дијастолне функције (215). Ипак добијени подаци потичу из хумане популације односно из јединица интензивне неге где су смештене особе са тешким облицима сепсе и септичним шоком уз присуство многобројних коморбидитета.

Претклиничке студије које су испитивале ову тематику су такође малобројне. Morisaki и коаутори су испитивали структуралне промене срчног мишића код оваца којима је сепса изазвана лигатуром и последичном пункцијом слепог црева након настанка перитонинитса (216). Аутори су показали да у овом моделу сепсе постоји едем кардиомиоцита и ендотелних ћелија крвних судова што је допринело поремећеној грађи и функцији срца (216).

Поред изнетог значајно је и напоменути да ехокардиографски налази често могу имати одличну предиктивну вредност код особа са сепсом односно могу изврсно

корелирати са тежином сепсе и стопом преживљавања тј. настанком смртног исхода код пацијената са забележеним ултразвучним абнормалностима. Тако је показано да дијастолна дисфункција регистрована ултразвучно може високо позитивно да корелира са АРАСНЕ-II скором и са тежином сепсе и септичног шока као и смртним исходом (217). Ипак треба имати на уму да у поменутиим клиничким студијама постоји велики број збуњујућих варијабли тј. фактора који могу да утичу на налазе што отвара могућност за спровођење управо студија на анималним моделима у којима су услови извођења експерименталних процедура строго контролисани.

Као што је поменито, поред ултразвучног испитивања морфологије и функције срца, након жртвовања срца животиња су се изоловала и постављала на Лангендорф апарат ради *ex vivo* процене рада миокарда и реактивности коронарне циркулације. На овај начин смо желели да што комплетније испитамо понашање срца и коронарне васкулатуре у условима трајања сепсе, што представља још један од куриозитета садашњег истраживања.

Резултати који се односе на промене у раду срца током ауторегулаторних кретњи коронарних перфузионих притисака указују да сепса није битније утицала на функцију изолованог срца током мењања коронарног перфузионог притиска. Такође ниједан од примењених терапијских маневара није био повезан са било каквим променама током оба периода ауторегулације.

Ови налази показују да је функционални капацитет кардиомиоцита као и коронарна реактивност током промене ауторегулаторног ранга била неоштећена након настанка сепсе, што објашњава не постојање ефективног дејства било ког третмана односно примењених комбинација.

Много важнији резултати са аспекта дискусије се односе на компарацију испитиваних кардиодинамских варијабли између здравих и пацова се сепсом односно између испитиваних терапијских модалитета. Након анализе ових резултата смо генерално уочили да, изузев изолованих случајева, у односу на здраве животиње, пацови са индукованом сепсом нису имали значајнија одступања у систолној и дијастолној функцији срца као и одговору коронарне циркулације (перфузији срца). Даље, сумарно посматрано, осим спорадичних одступања, није забележена разлика у функцији изолованог срца без обзира на примењену терапију.

Разматрањем добијених налаза могу се изнети различита запажања. Најпре се уочава да у овом експерименталном моделу сепса није узроковала промене у функцији и перфузији изолованог срца пацова. Поред тога, примењени терапијски маневри

(антибиотици, хипербарична оксигенација, статини или њихова комбинација) нису остварили значајан ефекат на рад срца који иначе није одступао од вредности код здравих животиња. На крају, постигнути резултати из *ex vivo* експеримената су у потпуној корелацији са ултразучним налазима и потврђују их.

Објашњење за оваква сазнања се морају потражити у литератури која је као и у претходним случајевима веома оскудна када је реч о овом делу истраживања.

Функција срчаног мишића током сепсе је мало изучавана, поготово у претклиничким строго контролисаним студијама. Досадашња сазнања показују да се поремећаји срчаног рада па и настанак исхемијских епизода током сепсе могу очекивати пре свега код особа са коронарном артеријском болешћу или другим срчаним болестима (218). Ово потврђује наше резултате и стваља утицај сепсе *per se* као периферни у овом случају.

У једној од малобројних студија које су се бавиле овом проблематиком је показано да хипербарична оксигенација не утиче на кардиодинамику изолованог срца пацова са индукованом сепсом на моделу фекалног перитонитиса (194). У поменутој студији је коронарна перфузија била чак боља код септичних у односу на здраве животиње (194) што још једном потврђује са испитивани модел сепсе не утиче на функцију и исхрану срчаног мишића.

Друго истраживање сличног дизајна (219) је испитивало функцију изолованог срца пацова 24 сата након сепсе изазване лигатуром и пункцијом цекума. Користећи исте параметре које смо ми употребљавали аутори су уочили да је контрактилна способност срца а самим тим и систолна функција оштећена код ових животиња (219). Као што се може приметити ови налази се разликују у односу на нашу студију и могу бити последица другачијег модела индукције сепсе и чињенице да су пацови жртвовани 24 сата по индукцији. Ослабљена функција срца која је забележена у овом тренутку може да буде почетни компензаторни одговор срчаног мишића на сепсу који се кроз штедљивији рад чува од могуће исхемијско/реперфузионе повреде (220).

#### 5.4. МАРКЕРИ СРЧАНОГ И СИСТЕМСКОГ ОКСИДАЦИОНОГ СТАТУСА

У следећем делу студије је испитиван срчани и системски оксидациони статус пацова током сепсе са циљем да се утврди улога оксидационог стреса у ефектима примењених терапијских процедура и тиме објаснио један од потенцијалних механизма путем кога хипербарична оксигенација или статини делују на организам пацова којима је индукована сепсе. На овај начин, садашње истраживање је једно од ретких који комбинују локални (у срцу) са системским оксидационим стањем. Идеја водила за овакав приступ је била хипотеза да уколико се докажу поремећаји редокс хомеостазе може се указати на значај употребе антиоксидационе терапије као адјувантне код ових стања.

Оксидациони статус изолованог срца пацова је процењиван из узорак коронарног венског ефлуента који је пролазио кроз ендокард и ендотел. Резултати које смо добили најпре показују да су вредности свих испитиваних про-оксиданаса биле више код пацова са сепсом у односу на здраве животиње. Осим тога, примена хипербаричне оксигенације довела до сниженог ослобађања ових биомаркера до вредности које су блиске здравим пацовима. Појединачно посматрано супероксид анион радикал као најштетнији мерени слободни радикал у срцу се најмање ослобађао приликом истовремене примене антибиотика и ХБО терапије. За разлику од њега водоник пероксид је имао најниже вредности након комбинованог третмана хипербаричном оксигенацијом и статинима, док је исту динамику имао и индекс липидне пероксидације.

Механизми путем којих ХБО остварује свој бенефитни ефекат оксидациони статус изолованог срца пацова није лако објаснити. Може се претпоставити да у срцу пацова егзогено унети хипербарични кисеоник успева да на неки начин супримира производњу ендогених реактивних врста кисеоника (194), мада је ову је тврдњу тешко експериментално доказати.

Садашњи налази указују да сепса у нашем дизајну изазивања може да буде повезана са повишеним оксидационим стресом у срцу што повећава ризик од микро оксидационих оштећења. Ипак узевши у обзир резултате функционалних-кардиодинамских параметара срца може се претпоставити да пораст производње мерених про-оксиданаса није био довољног степена да изазове структурална оштећења која би пореметила функцију срца.

У том смислу можемо генерално закључити да је у нашем моделу сепсе срце изложено повишеном оксидационом стресу који није повезан са његовим функционалним променама. Са друге стране од свих примењених терапијских средстава једино је хипербарична оксигенација остварила позитивне ефекте у смислу смањеног ослобађања молекула који у срцу могу изазвати оксидациона оштећења.

Поред одређивања оксидационог статуса срца, као што је поменуто, непосредно пре жртвовања из сакупљених узорака крви је мерењем различитих про- и анти-оксиданаса процењивана и системска редокс равнотежа. На основу резултата које смо добили може се уочити да је септично стање било повезано са већим системским ослобађањем свих мерених про-оксиданаса што је оправдало улогу оксидационог стреса у патогенези сепсе (221) и у корелацији је са налазима истих биомаркера у срцу.

Уколико појединачно посматрамо мерене про-оксидационе молекуле можемо запазити да је већина примењених терапијских протокола ублажила ослобађање водоник пероксида, нитрита и индекса липидне пероксидације, док је у случају супероксид анион радикала овакав позитиван ефекат имала једино комбинација симвастатина и ХБО.

Када је реч о ензимима антиоксидационе заштите, може се уочити да је активност свих одређиваних ензима била снижена код животиња са сепсом што је у сагласности са повишеним ослобађањем про-оксиданаса и може бити разлог за поменути резултат. Појединачном анализом можемо приметити да је примена већине терапијских средстава била повезана са умањеном активношћу супероксид дизмутазе и каталазе, док је најмањи поремећај у мобилизацији ових ензима уочен приликом самосталне апликације антибиотика и ХБО.

Са друге стране редуковани глутатион је имао потпуно супротну динамику и за разлику од претходна два ензима, ова компонента глутатионског циклуса је била у септичним условима снижена да би укључењем статина и њихове комбинације са ХБО дошло да значајног пораста у његовим вредностима. Ови налази сугеришу да испитивани терапијски агенси очигледно другачије делују на прву (супероксид дизмутаза и каталаза) и другу (редуковани глутатион) линију одбране од оксидационог стреса.

Већина истраживања која проучавају утицај ХБО на оксидациона оштећења током сепсе су базирана на анималним моделима који обухватају јетру и бубреге. Тако је раније је документовано да хипербарични кисеоник (2 АТА током 60 минута) примењен 1, 4, 9 и 24 сата након индукције сепсе има протективни односно антиоксидациони ефекат кроз стимулацију смањене синтезе слободних радикала и смртности код пацова (222). Разлика у поређењу с резултатима наше студије могла би бити чињеница да су аутори у поменутој студији користили липополисахаридни модел сепсе и другачији протокол терапије ХБО. Штавише у нашем истраживању смо пратили животиње 72 сата након индукције сепсе док су ХБО сесије биле интензивне (2,8 АТА током 90 минута) и спроведене на 12 сати по дану.

У наредној студији је испитиван ефекат хипербаричне оксигенације на оштећење бубрега и маркере оксидационог стреса пацова након индукције сепсе интраперитонеалном инјекцијом *Escherichia coli* ( $2,1 \times 10^9$ ). Аутори су применили третман ХБО кроз пет сесија са 2 апсолутне атмосфере у интервалима од 6 сати (223). Откривено је да хипербарични кисеоник повећава активност супероксид дизмутазе (SOD) и каталазе (CAT) и тиме последично смањује оксидациона оштећења бубрега изазвана сепсом (223).

Oter и сарадници су испитивали утицај ХБО на функционалне и мофолошке промене јетре, као и оксидациони статус пацова са сепсом која је изазвана интраперитонеалном применом ћелија *Escherichia coli* у истој концентрацији као у претходном истраживању (224). У овој студији је ХБО апликован путем шест сесија од 2 АТА током 90 минута у интервалима од 6 сати у комбинацији са цефепимом. Добијени налази су показали да удружена примена ХБО и наведеног антибиотика може ублажити хистопатолошке и функционалне промене јетре изазване сепсом. Предложени механизам ових позитивних дејстава обухвата мобилизацију антиоксидационих система заштите (224).

Очигледно је да већина истраживања указује да је за најбоље антиоксидационе ефекте у сепси ХБО потребно применити заједно са антибиотском терапијом (225). Све ове студије су самим тим делимично у сагласности са садашњим истраживањем уз ограду да се студије разликују у моделима индукције сепсе и ХБО протоколима.

Када је реч о утицају статина на оксидациони стрес који је обично повишен у условима сепсе у литератури можемо пронаћи различита сазнања. Тако истраживања на анималним моделима сугерисала да због анти-оксидационих својстава лекови из ове групе могу путем супресије продукције реактивних кисеоничних врста повећати стопу



морталитета од сепсе (226). Ипак са аспекта компарације са нашом студијом неопходно је истаћи да су у овим протоколима статини примењени непосредно пре индукције сепсе. У том смислу може се претпоставити да се позитивни/антиоксидациони ефекте статина током сепсе могу очекивати у условима када се примене пре развоја овог патофизиолошког стања, што објашњава и одсуство ових ефеката у садашњој студији.

Са друге стране, резултати хуманих и анималних студија су углавном усаглашени да је примена статина корисна у сепси. Наиме, код пацијената са тешким облицима сепсе је примењено да употреба аторвастатина може да побољша клиничку слику и смањи стопу смртности (227), док је на животињама уочено да престанак апликације истог лека изазива оксидациони стрес у кортексу пацова којима је изазвана сепса (228). Обе групе истраживања такође истичу да је мајоритетни механизам позитивних дејстава статина заправо њихов анти-оксидациони и анти-инфламаторни ефекат.

Приликом сумације свих добијених резултата можемо закључити да је у сепси присутан поремећај срчане и системске оксидационе равнотеже чиме се повећава ризик од настанка оксидационих оштећења. Најефикацији терапијски протокол у смислу корекције оксидационог налаза је била самостална или удружена примена ХБО и антибиотика будући да је у овим случајевима забележена најмања продукција мерених про-оксиданаса и најбоља активност ензима антиоксидационе заштите.

## **5.5. БИОМАРКЕРИ ИНФЛАМАЦИЈЕ**

С обзиром на значај инфламације у патогенези сепсе у последњем делу студије смо се одлучили да испитамо каква је улога различитих биомаркера запаљења (интерлеукина) у нашем моделу сепсе односно да утврдимо да ли остварени ефекти примењених терапијских средстава могу да буду посредовани механизмима који укључују промене инфламаторног статуса.

Први интерлеукин кога смо одређивали је леукоцитни пироген познат и као IL 1 $\beta$ . Реч је о цитокину кога секретују углавном макрофаги уз помоћ каспазе 1 током инфламаторног одговора и поред важне улоге у запаљењу, учествује у ћелијској пролиферацији и диференцијацији те апоптози (229). IL 1 $\beta$  се сматра једним од најважнијих про-инфламаторних цитокина задужених за покретање и одржавање инфламације током акутних и хроничних оштећења ткива (229).

У литератури постоје подаци да је IL 1 $\beta$  повишен у септичним условима али не корелира са тежином болести и смртним исходом (229). Резултати садашње студије су интересантни и показују да у нашем моделу сепсе вредности овог цитокина нису повишене у односу на здраве животиње као и да самостални и удружени третман хипербаричном оксигенацијом и антибиотикима значајно смањује његово ослобађање током сепсе.

Интерлеукин 6 (IL 6) је други про-инфламаторни цитокин кога смо мерили код испитиваних животиња и такође је важан медијатор иницијалне фазе запаљења будући да стимулише акутни имунски одговор домаћина на инфекцију и оштећење ткива (230). Студије указују да је овај цитокин снажан независни фактор ризика за морталитет пацијената са сепсом као и да високо корелира са тежином сепсе односно разликовањем сепсе од септичног шока (231). Наши налази су у сагласности са овим сазнањима и показују да је IL 6 значајно повишен код свих група са изазваном сепсом. Ово секретија IL 6 остаје повишена у свим групама са различитим терапијским протоколима осим у случају примене антибиотика и антибиотика и ХБО када се продукција овог цитокина није битније мењала у односу на контролу.

Уколико компарирамо резултате претходна два цитокина можемо претпоставити да је садашњи модел сепсе био довољан да покрене продукцију IL 6 али не и IL 1 $\beta$  који се јавља касније и у обично најтежим облицима сепсе (231-233).

За разлику од поменута два цитокина, трећи испитивани инфламаторни биомаркер кога смо одређивали интерлеукин (IL 10) припада анти-инфламаторним интерлеукинима. Његова улога је у инхибицији експресије Th1 и других цитокина, МНС класе 2 као и макрофага (234). На овај начин смо желели да створимо комплетну слику најважнијих цитокина укључених у инфламаторни одговор током сепсе. Сазнања анималних истраживања су сугерисала да интерлеукин 6 може имати значај у развоју септичног шока код пацова са сепсом изазваном липополисахаридом (234).

Резултати садашњег истраживања су били слични као и у случају интерлеукина 6 и показали су да је синтеза овог цитокина била повишена након изазивања сепсе. Овакав тренд је остао без обзира на примењену терапијску процедуру изузев након примене антибиотика и њихове комбинације са хипербаричном комором. Повишена синтеза овог цитокина иако анти-инфламаторног може се објаснити као компензаторни регулаторни одговор организма током јаких инфламаторних процеса у сепси.

Последњи мерени цитокин у нашем истраживању је био фактор некрозе тумора алфа (TNF $\alpha$ ). Ради се о цитокину кога доминантно продукују макрофаги али и неутрофили, лимфоцити и остале ћелије имунског система. Његова главна улога је такође у покретању акутне фазе инфламације и снажно корелира са тежином сепсе и, за разлику од интерлеукина 1, може бити добар прогностички маркер смртог исхода (229).

Као и у претходним случајевима, садашњи налази указују да је након индукције сепсе дошло до пораста производње овог цитокина који настављен и поред свих терапијских протокола осим антибиотске терапије која је значајно супримирала његово ослобађање.

Студије на пацовима које би послужиле за компарацију добијених резултата са садашњим истраживањем су малобројне и са неконзистентним резултатима. Једно од ретких истраживања на ову тематику је недавно спроведно на моделу сепсе изазване лигатуром цекума код Sprague-Dawley пацова (235). Након спроведене хируршке интервенције пацови су подвргнути третманом хипербаричном оксигенацијом током трајања од 72 сата односно сваког дана до жртвовања (2,5 АТА током 90 минута). Продукција интерлеукина 6, интерлеукина 10 и фактора некрозе тумора алфа је такође била повишена након индукције сепсе што је било у сагласности са нашим налазима. Међутим, примена ХБО је била повезана са већом производњом анти-инфламаторног интерлеукина 10, док је динамика продукције осталих цитокина била слична (235) као и у нашој студији.

Уколико сумарно анализирамо резултате из овог дела нашег истраживања можемо увидети да је испитивани модел сепсе био повезан са повишеном продукцијом свих испитиваних цитокина чиме је потврђен значај инфламације у овом патофизиолошком процесу. Поред тога, најделотворнији терапијски утицај у смислу редуције производње ових инфламаторних биомаркера је показала антибиотска терапија примењена самостално или у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом.

**VI**

**ЗАКЉУЧЦИ**

На основу резултата спроведног истраживања можемо извести следеће закључке:

1. На примењеном моделу сепсе једино је антибиотска терапија самостално или у комбинацији са ХБО била повезана са редукцијом сепса скора односно ремисијом клиничког тока сепсе код испитиваних пацова.
2. Примена антибиотске терапије као и њено удружено дејство са ХБО је било повезано са смањеним вредностима свих испитиваних биохемијских показатеља сепсе што је у корелацији са претходним клиничким показатељима.
3. У испитиваном експерименталном моделу сепса није узроковала промене у функцији и перфузији изолованог срца пацова. Поред тога, примењени терапијски маневри (антибиотици, хипербарична оксигенација, статини или њихова комбинација) нису остварили значајан ефекат на рад срца који иначе није одступао од вредности код здравих животиња. Постигнути резултати из *ex vivo* експеримената су у потпуној корелацији са ултразучним налазима и потврђују их.
4. У проучаваном моделу сепсе је присутан поремећај срчане и системске оксидационе равнотеже чиме се повећава ризик од настанка оксидационих субцелуларних оштећења. Најефикаснији терапијски протокол у смислу корекције оксидационог налаза је била самостална или удружена примена ХБО и антибиотика будући да је у овим случајевима забележена најмања продукција мерених про-оксиданаса и највећа активност ензима антиоксидационе заштите.
5. Испитивани модел сепсе је био повезан са повишеном продукцијом свих испитиваних цитокина чиме је потврђен значај инфламације у овом патофизиолошком процесу. Осим тога, најделотворнији терапијски утицај у виду редукције производње ових инфламаторних биомаркера је показала антибиотска терапија примењена самостално или у комбинацији са хипербаричном оксигенацијом.
6. Сумарно анализирано, добијени налази указују да се оправданост употребе ХБО у третману сепсе може разматрати пре свега у склопу адјувантног терапијског приступа са каузалном антибиотском терапијом. За потврду ових резултата су међутим потребна даља и комплекснија истраживања.

# **VII**

# **ЛИТЕРАТУРА**

## ЛИТЕРАТУРА

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315(8): 801-810.
2. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001; 29 (7): 1303-10.
3. Geroulanos S, Douka ET. Historical perspective of the word "sepsis". *Intensive care medicine*. 2006; 32(12): 2077. doi: 10.1007/s00134-006-0392-2
4. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*.1992; 101(6): 1644-55.
5. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003; 31(4): 1250-1256.
6. Weiss M, Huber-Lang M, Taenzer M, Traeger K, Altherr J, Kron M, et al. Different patient case mix by applying the 2003 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS sepsis definitions instead of the 1992 ACCP/SCCM sepsis definitions in surgical patients: a retrospective observational study. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2009; 9: 25. doi: 10.1186/1472-6947-9-25.
7. Vincent JL. Dear SIRS, I'm sorry to say that I don't like you. *Crit Care Med*. 1997; 25(2): 372-374.
8. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med*. 2013; 41(2): 580-637.
9. Vincent JL, De Mendonca A, Moreno R, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: Results of a multicenter, prospective study. *Crit Care Med* 1998; 26(11): 1793-800.
10. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315(8): 801-810.
11. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive care medicine*. 2017; 43(3): 304-77.

12. Vincent JL, Martin GS, Levy MM. qSOFA does not replace SIRS in the definition of sepsis. *Critical care*. 2016; 20(1): 210.
13. Djordjevic D, Surbatovic M, Ugrinovic D, Radakovic S, Jevdjic J, Filipovic N, et al. New aspects of sepsis pathophysiology in critically ill. *Vojnosanit Pregl*. 2012; 69(1): 58–68.
14. Girard TD, Opal SM, Ely EW. Insights into Severe Sepsis in Older Patients: From Epidemiology to Evidence-Based Management. *Clin Infect Dis*. 2005; 40(5): 719-727.
15. Gruver AL, Hudson LL, Sempowski GD. Immunosenescence of ageing. *J Pathol*. 2007; 211(2): 144-156.
16. Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence*. 2014; 5(1): 4-11.
17. Vincent J, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*. 2009; 302(21): 2323-2329.
18. Takeuchi O, Akira S. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell*. 2010; 140(6): 805-820.
19. Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nature Reviews Immunology* 2008; 8(10): 776-87.
20. Bianchi, Marco E. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *Journal of leukocyte biology* 2007; 81 (1): 1-5.
21. Skirecki T, Borkowska-Zielińska U, Złotorowicz M, Hoser G. Sepsis immunopathology: Perspectives of monitoring and modulation of the immune disturbances. *Arch Immunol Ther Exp*. 2012; 60(2): 123–35.
22. Aikawa N. Cytokine storm in the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome associated with surgical insults. *Nihon Geka Gakkai Zasshi*. 1996; 97(9):7 71-777.
23. Auron PE, Webb AC, Rosenwasser LJ, et al. Nucleotide sequence of human monocyte interleukin 1 precursor cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984; 81(24): 7907-7911.
24. Hesse DG, Tracey KJ, Fong Y, et al. Cytokine appearance in human endotoxemia and primate bacteremia. *Surg Gynecol Obstet*. 1988; 166(2): 147-153.
25. Cannon JG, Tompkins RG, Gelfand JA, et al. Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experimental endotoxin fever. *J Infect Dis*. 1990; 161(1): 79-84.



26. Skirecki T, Borkowska-Zielińska U, Złotorowicz M, Hoser G. Sepsis immunopathology: Perspectives of monitoring and modulation of the immune disturbances. *Arch Immunol Ther Exp.* 2012; 60(2): 123–35.
27. Aziz M, Jacob A, Yang W-L, Matsuda A, Wang P. Current trends in inflammatory and immunomodulatory mediators in sepsis. *J Leukoc Biol.* 2013; 93(3): 329–42.
28. Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nature Reviews Immunology* 2008; 8(10): 776-87.
29. Castellheim A, Brekke OL, Espevik T, Harboe M, Mollnes TE. Innate immune responses to danger signals in systemic inflammatory response syndrome and sepsis. *Scandinavian journal of immunology* 2009; 69(6): 479-91.
30. Oppenheim JJ, Zachariae CO, Mukaida N, Matsushima K. Properties of the novel proinflammatory supergene "intercrine" cytokine family. *Annu Rev Immunol* 1991; 9: 617-48.
31. Mukaida N, Hishinuma A, Zachariae CO, Oppenheim JJ, Matsushima K. Regulation of human interleukin-8 gene expression and binding of several other members of the intercrine family to receptors for interleukin-8. *Adv Exp Med Bioi* 1991; 305: 31-8.
32. Castellheim A, Brekke OL, Espevik T, Harboe M, Mollnes TE. Innate immune responses to danger signals in systemic inflammatory response syndrome and sepsis. *Scandinavian journal of immunology* 2009; 69(6): 479-91.
33. Seeley EJ, Matthay MA, Wolters PJ. Inflection points in sepsis biology: from local defense to systemic organ injury. *AJP Lung Cell Mol Physiol.* 2012; 303(5): L355–63.
34. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2013; 13(12): 862–74.
35. Munford RS. Sepsis and septic shock. *Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th Edition Textbook*, 2011.
36. Medicinski fakultet u Beogradu. *Infektivne bolesti, CBID*, 2009, Beograd.
37. Bruno Baršić, Vladimir Krajinović. Sepsa i patogeneza, klinička slika i liječenje. *Medix.* 2005; 58(11) : 39-42.
38. Danner RL, Elin RJ, Hosseini JM, Wesley RA, Reilly JM, Parillo JE. Endotoxemia in human septic shock. *Chest* 1991; 99(1): 169–175.
39. Hall TC, Bilku DK, Al-Leswas D, Horst C, Dennison AR. Biomarkers for the differentiation of sepsis and SIRS: the need for the standardisation of diagnostic studies. *Ir J Med Sci.* 2011; 180(4): 793–8.

40. Pierrakos C, Vincent JL. Sepsis biomarkers: a review. *Critical Care* 2010; 14(1): R15. doi: 10.1186/cc8872.
41. The Biomarker Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69(3): 89-95.
42. Marshall JC, Reinhart K. Biomarkers of sepsis. *Crit Care Med* 2009; 37 (7): 2290-8.
43. Ventetuolo CE, Levy MM. Biomarkers: Diagnosis and Risk assessment in sepsis. *Clin Chest Med* 2008; 29(4): 591–603.
44. Kibe S, Adams K, Barlow G. Diagnostic and prognostic biomarkers of sepsis in critical care. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 2011; 66 (Suppl 2):II33-II40. Doi: 10.1093/jac/dkq523.
45. Henriquez-Camacho C, Losa J. Biomarkers for sepsis. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:547818. doi: 10.1155/2014/547818. Epub 2014 Mar 30.
46. Cho S, Choi J. Biomarkers of Sepsis. *Infect Chemother.* 2014;46(1):1–12.
47. Tschaikowsky K, Hedwig-Geissing M, Braun GG, Radespiel-Troeger M. Predictive value of procalcitonin, interleukin-6, and C-reactive protein for survival in postoperative patients with severe sepsis. *J Crit Care.* 201; 26(1): 54-64.
48. Clyne B, Olshaker JS. The C-reactive protein. *The Journal of emergency medicine* 1999; 17(6) 1019-25.
49. Lobo SM, Lobo FR, Bota DP, et al. C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically ill patients. *Chest* 2003; 123(6), 2043-9.
50. Ashitha L. Vijayan, Vanimaya, Shilpa Ravindran, R. Saikant, S. Lakshmi, R. Kartik, and Manoj. G. Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy. *J Intensive Care.* 2017; 5: 51. doi: 10.1186/s40560-017-0246-8.
51. Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin in sepsis and systemic inflammation: a harmful biomarker and a therapeutic target. *Br J Pharmacol.* 2010; 159(2): 253-64.
52. Jensen JU, Heslet L, Jensen TH et al. Procalcitonin increase in early identification of critically ill patients at high risk of mortality. *Crit Care Med* 2006; 34: 2596 – 602.
53. Pettila V, Hynninen M, Takkunen O et al. Predictive value of procalcitonin and interleukin-6 in critically ill patients with suspected sepsis. *Intensive Care Med* 2002; 28: 1220 – 5.
54. Ruiz-Alvarez MJ, Garcia-Valdecasas S, De Pablo R et al. Diagnostic efficacy and prognostic value of serum procalcitonin concentration in patients with suspected sepsis. *J Intensive Care Med* 2009; 24: 63 –71.

55. Vanden Berghe W, Vermeulen L, De Wilde G. Signal transduction by tumor necrosis factor and gene regulation of the inflammatory cytokine interleukin 6. *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 1185–95.
56. Patel RT, Deen KI, Youngs D, et al. Interleukin 6 is a prognostic indicator of outcome in severe intra- abdominal sepsis. *Br J Surg* 1994; 81: 1306–8.
57. Bernardo A, Ball C, Nolasco L, et al: Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. *Blood* 2004; 104: 100–6.
58. Ventetuolo CE, Levy MM. Biomarkers: Diagnosis and Risk assessment in sepsis. *Clin Chest Med* 2008; 29: 591–603.
59. Mokart D, Merlin M, Sannini A, Brun JP, Delperro JR, Houvenaeghel G, et al. Procalcitonin, interleukin 6 and systemic inflammatory response syndrome (SIRS): early markers of postoperative sepsis after major surgery. *Brit J Anaes* 2005; 94: 767–73.
60. Unay-Demirel O, Ignak S, Orug T, Yuksel M. Presepsin Levels in Experimental Sepsis and Massive Bowel Resection Models in Rats. *In Vivo*. 2020; 34(1): 155-161.
61. Tunç T, Polat A, Özdemir R et al. Assessment of novel biomarkers: sTREM-1, pentraxin-3 and pro-adrenomedullin in the early diagnosis of neonatal early onset sepsis. *J Neonatal Perinatal Med*. 2019. Doi: 10.3233/NPM-180131.
62. Honore PM, Mugisha A, Barreto Gutierrez L, Redant S, Kaefer K, Gallerani A, De Bels D. Biomarker suPAR seems a good prognostic factor for community-acquired pneumonia but less prominent for septic shock. *Crit Care*. 2019; 23(1): 405. Doi: 10.1186/s13054-019-2694-0.
63. Karakike E, Adami ME, Lada M, Gkavogianni T et al. Late Peaks of HMGB1 and Sepsis Outcome: Evidence For Synergy With Chronic Inflammatory Disorders. *Shock*. 2019; 52(3): 334-339.
64. Hertelendy J, Reumuth G, Simons D et al. Macrophage Migration Inhibitory Factor - A Favorable Marker in Inflammatory Diseases? *Curr Med Chem*. 2018; 25(5): 601-605.
65. Ricciuto DR, dos Santos CC, Hawkes M et al. Angiopoietin-1 and angiopoietin-2 as clinically informative prognostic biomarkers of morbidity and mortality in severe sepsis. *Crit Care Med*. 2011; 39(4): 702-10.

66. Silva E, Akamine N, Salomao R, Townsend SR, Dellinger RP, Levy M. Surviving sepsis campaign: a project to change sepsis trajectory. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2006; 6(2): 217-22.
67. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. *Crit Care Med* 2017; 45(3): 486–552.
68. Ferrer R, Martin-Loeches I, Philips G, et al. Empiric antibiotic treatment reduces mortality in severe sepsis and septic shock from the first hour: results from a guideline-based performance improvement program. *Crit Care Med* 2014; 42 (8): 1749-1755.
69. Vesna Bumbaširević, Jelena Veličković, Ivan Palibrk, Bojan Jovanović, Jovana Avramović. Updates in the diagnostic and treatment of sepsis and septic shock. *SJAIT*. 2017. doi:10.5937/sjait1708171B.
70. Azuhata T, Kinoshita K, Kawano D, et al. Time from admission to initiation of surgery for source control is a critical determinant of survival in patients with gastrointestinal perforation with associated septic shock. *Crit Care* 2014; 18(3): R87. doi: 10.1186/cc13854.
71. Bellomo R, Chapman M, Finfer S, Hickling K, Myburgh J. Low-dose dopamine in patients with early renal dysfunction: a placebo-controlled randomised trial. Australian and New Zealand Intensive Care Society (ANZICS) Clinical Trials Group. *Lancet*. 2000; 356(9248): 2139-43.
72. Jansen TC, van Bommel J, Schoonderbeek FJ et al. Early lactate-guided therapy in intensive care unit patients: a multicenter, open-label, randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010; 182(6): 752-61.
73. Jones AE, Shapiro NI, Trzeciak S. Lactate clearance vs central venous oxygen saturation as goals of early sepsis therapy: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2010 ; 303(8): 739-46.
74. Khan RA, Khan NA, Bauer SR, Li M. Association Between Volume of Fluid Resuscitation and Intubation in High-Risk Patients With Sepsis, Heart Failure, End-Stage Renal Disease, and Cirrhosis. *Chest*. 2019; pii: S0012-3692(19): 34013-9. doi: 10.1016/j.chest.2019.09.029.
75. Russell JA, Phang PT. The oxygen delivery/consumption controversy. Approaches to management of the critically ill. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;149(2): 533-7.

76. Halbach JL, Prieto JM, Wang AW, Hawisher D et al. Early hyperbaric oxygen therapy improves survival in a model of severe sepsis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2019; 317(1): R160-R168. doi: 10.1152/ajpregu.00083.2019.
77. Andersson J, Skansén-Saphir U, Sparrelid E, Andersson U. Intravenous immune globulin affects cytokine production in T lymphocytes and monocytes/macrophages. *Clin Exp Immunol.* 1996; 104(1): 10-20.
78. Alejandria MM, Lansang MA, Dans LF, Mantaring JB 3rd. Intravenous immunoglobulin for treating sepsis, severe sepsis and septic shock. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013; (9): CD001090. doi: 10.1002/14651858.CD001090.
79. Molnár Z, Nierhaus A, Esen F. Immunoglobulins in Sepsis: Which Patients will Benefit the Most? Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine. 2013; doi: 10.1007/978-3-642-35109-9.
80. Gornik I . Učinci statina u sepsi i akutnom upalnom odgovoru. *Acta Med Croatica.* 2015; 69: 197-201.
81. Edwards ML. Hyperbaric oxygen therapy. Part 1: history and principles. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2010; 20(3): 284-8.
82. Rabrenović M, Rabrenović V, Zoranović U. Development of hyperbaric medicine. *Vojnosanit Pregl.* 2006; 63(7): 667–671.
83. Gošović S. Safe diving. Zagreb: Jumena; 1986.
84. Živković M., Kanjuh Ž, Bakočević P. Historical development of hyperbaric medicine and physiological basis of its application. In: Živković M, editor. *Hyperbaric and underwater medicine.* Beograd: HBO centar; 1998. p. 103–13.
85. Bellucci G. Brief history of hyperbaric therapy. *Minerva Anesthesiol.* 1991; 57(5): 183-5.
86. Shah SA. Healing with oxygen: a history of hyperbaric medicine. *Pharos Alpha Omega Alpha Honor Med Soc.* 2000; 63(2): 13-9.
87. Roding B, Groeneveld PH, Boerema I. Ten years of experience in the treatment of gas gangrene with hyperbaric oxygen. *Surg Gynecol Obstet.* 1972; 134(4): 579-85.
88. Drenjancevic I, Kibel A, Kibel D, Seric V, Cosic A. Blood pressure, acid-base and blood gas status and indicators of oxidative stress in healthy male rats exposed to acute hyperbaric oxygenation. *Undersea Hyperb Med.* 2013; 40: 319-28.
89. Gill AL, Bell CN. Hyperbaric oxygen: its uses, mechanisms of action and outcomes. *QJM* 2004; 97(7): 385-95.

90. Yager JY, Brucklacher RM, Vannucci RC. Cerebral energy metabolism during hypoxia-ischemia and early recovery in immature rats. *Am J Physiol* 1992; 262 (3 Pt 2): H672-7.
91. Hammarlund CE. The Physiologic Effects of Hyperbaric Oxygenation. In Kindwall EP, Whelan HT: *Hyperbaric Medicine Practice*; Best Publishing Company, Flagstaff, 2008, 39-70.
92. Mathieu D, Mani R. A review of the Clinical Significance of Tissue Hypoxia Measurements in Lower Extremity Wound Management, *Lower Extremity Wounds*, 2007; 6(4): 273-283.
93. D Cruz D. Cuadrado MJ. Mujić F. Tungekar MF. Taub N. Zloid M. Khamasta MA. Hughes GR. Immunosuppressive therapy in lupus nephritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 1997; 15(3): 275-82.
94. Kindwall EP. Clinical Hyperbaric Oxygen Therapy. In Bennet P, Elliott D: *The physiology and Medicine of Diving*; WB Saunders Company Ltd, London, 1993, 542-561.
95. Guyton AC, Hall JE. *Medicinska fiziologija, Savremena administracija*, 2008, Beograd.
96. Mathieu D, Mani R. A review of the Clinical Significance of Tissue Hypoxia Measurements in Lower Extremity Wound Management, *Lower Extremity Wounds*, 2007; 6(4): 273-283.
97. Mathieu D: Contraindications to Hyperbaric Oxygen Therapy in book *Physiology and Medicine of Hyperbaric Oxygen Therapy*, 2008, 26: 587-598.
98. García-Covarrubias L, Cuauhtémoc Sánchez-Rodríguez E. Hyperbaric oxygenation therapy, basic concepts. *Gac Med Mex.* 2000;136(1):45-56. Review.
99. Michaud A, Barthelemy L. Installations hyperbares. In Wattel F, Mathieu D: *Oxygene therapie hyperbare et reanimation*; Masson, Paris, 1990, 207-216.ž
100. Wattel FE, Nathieu DM. *Oxygenotherapie hyperbare et reanimation*, Masson, Paris, 1990, 5-32.
101. Flook V. Tissue Oxygen Levels During Hyperbaric Oxygen Breathing, *European Journal of Underwater medicine.* 2001; 2(2): 41-48.
102. Ivanov KP. Current views on oxygen transport from blood to tissues. *Usp Fiziol Nauk.* 2001; 32(4): 3-22.
103. UHMS, *The Hyperbaric Oxygen Therapy Indications, USA*, 12.th. Edition, Published 2008.

104. Moon RE. Hyperbaric treatment of air or gas embolism: current recommendations. *Undersea Hyperb Med.* 2019; 46(5): 673-683.
105. Casillas S, Galindo A, Camarillo-Reyes LA, Varon J, Surani SR. Effectiveness of Hyperbaric Oxygenation Versus Normobaric Oxygenation Therapy in Carbon Monoxide Poisoning: A Systematic Review. *Cureus.* 2019; 11(10): e5916. doi: 10.7759/cureus.5916.
106. Moon RE, Mitchell S. Hyperbaric treatment for decompression sickness: current recommendations. *Undersea Hyperb Med.* 2019; 46(5): 685-693
107. Chiang IH, Chen SG, Huang KL, Chou YC, Dai NT, Peng CK. Adjunctive hyperbaric oxygen therapy in severe burns: Experience in Taiwan Formosa Water Park dust explosion disaster. *Burns.* 2017; 43(4): 852-857.
108. Rogatsky GG, Kamenir Y, Mayevsky A. Effect of hyperbaric oxygenation on intracranial pressure elevation rate in rats during the early phase of severe traumatic brain injury. *Brain Res.* 2005; 1047(2): 131-6.
109. Petri NM, Andrić D, Kovacević H, Vranjković-Petri L, Racić G, Mulić R, Ropac D. Gas gangrene and hyperbaric oxygenation--a lesson forgotten or never learned? *Lijec Vjesn.* 2002; 124(5): 140-5.
110. Korhonen K. Hyperbaric oxygen therapy in acute necrotizing infections. With a special reference to the effects on tissue gas tensions. *Ann Chir Gynaecol* 2000; 89: 7-36.
111. Domachevsky L, Keynan Y, Shupak A, Adir Y. Hyperbaric oxygen in the treatment of sudden deafness. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2007; 264(8): 951-3.
112. Marill AF, Delyfer MN, Renard JP, Korobelnik JF. Acute blindness secondary to quinine toxicity: role of hyperbaric oxygen treatment. *J Fr Ophtalmol.* 2014; 37(6): 429-33.
113. Holland NJ, Bernstein JM, Hamilton JW. Hyperbaric oxygen therapy for Bell's palsy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012; (2): CD007288. doi:10.1002/14651858.CD007288.pub2.
114. Sandner A, Henze D, Neumann K, Kösling S. Value of hyperbaric oxygenin the treatment of advanced skull base osteomyelitis. *Laryngorhinootologie* 2009; 88(10): 641-6.
115. Wang CJ, Cheng JH, Huang CC, Yip HK, Russo S. Extracorporeal shockwave therapy for avascular necrosis of femoral head. *Int J Surg.* 2015; 24(Pt B): 184-7. doi: 10.1016/j.ijisu.2015.06.080.

116. Barilaro G, Francesco Masala I, Parracchini R, Iesu C, Caddia G, Sarzi-Puttini P, Atzeni F. The Role of Hyperbaric Oxygen Therapy in Orthopedics and Rheumatological Diseases. *Isr Med Assoc J.* 2017; 19(7): 429-434.
117. Mizrahi G, Wang Z, Leibovitz E. Hyperbaric oxygen treatment for post radiation necrosis. *Harefuah.* 2018; 157(8): 486-489.
118. Yamashita M, Yamashita M. Hyperbaric oxygen treatment attenuates cytokine induction after massive hemorrhage. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000; 278(5): E811-6.
119. Zhu D, Qian QF. Optimal switching time control of the hyperbaric oxygen therapy for a chronic wound. *Math Biosci Eng.* 2019; 16(6): 8290-8308.
120. Mader JT, Guckian JC, Glass DL, Reinartz JA. Therapy with hyperbaric oxygen for experimental osteomyelitis due to *Staphylococcus aureus* in rabbits. *J Infect Dis* 1978; 138(3): 312-318
121. Bakker DJ. Hyperbaric oxygen therapy and the diabetic foot. *Diabetes Metab Res Rev* 2000; 16: S55–8.
122. Chernenkov IuV, Grozdova Tlu, Popova Ilu. Acid resistance of erythrocytes in children with chronic inflammatory diseases of the stomach and duodenum during the course of the hyperbaric oxygenation. *Eksp Klin Gastroenterol.* 2013; (1): 25-8.
123. Kuniavsky M, Bechor Y, Leitman M, Efrati S. Carbon monoxide poisoning in a young, healthy patient: A case study of heart failure recovery after Hyperbaric Oxygenation Treatment. *Intensive Crit Care Nurs.* 2018; 47: 85-88. doi: 10.1016/j.iccn.2018.04.008.
124. Feitosa MR, Féres Filho O, Tamaki CM, Perazzoli C, Bernardes MV, Parra RS, Rocha JJ, Féres O. Adjunctive Hyperbaric Oxygen Therapy promotes successful healing in patients with refractory Crohn's disease. *Acta Cir Bras.* 2016; 31(1): 19-23.
125. Cundall JD, Gardiner A, Laden G, Grout P, Duthie GS. Use of hyperbaric oxygen to treat chronic anal fissure. *Br J Surg.* 2003; 90(4): 452-3.
126. Bennett M, Heard R. Hyperbaric oxygen therapy for multiple sclerosis. *CNS Neurosci Ther.* 2010; 16(2): 115-24.
127. Rizzato A, D'Alessandro N, Berenci E, Rinchi A et al. Effect of mild hyperbaric oxygen therapy on children diagnosed with autism. *Undersea Hyperb Med.* 2018; 45(6): 639-645.
128. Bennett MH, French C, Schnabel A, Wasiak J, Kranke P, Weibel S. Normobaric and hyperbaric oxygen therapy for the treatment and prevention of



- migraine and cluster headache. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015; 28(12): CD005219. doi: 10.1002/14651858.
129. Allashem HM, Sward DG, Sethuraman K, Matthews MK. Hyperbaric oxygen therapy for perioperative posterior ischemic optic neuropathy: a case report. *Undersea Hyperb Med.* 2019; 46(5): 701-707.
  130. Long Y, Tan J, Nie Y, Lu Y, Mei X, Tu C. Hyperbaric oxygen therapy is safe and effective for the treatment of sleep disorders in children with cerebral palsy. *Neurol Res.* 2017; 39(3): 239-247.
  131. Gonzales-Portillo B, Lippert T, Nguyen H, Lee JY, Borlongan CV. Hyperbaric oxygen therapy: A new look on treating stroke and traumatic brain injury. *Brain Circ.* 2019; 5(3): 101-105.
  132. Gu N, Niu JY, Liu WT, Sun YY, Liu S, Lv Y, Dong HL, Song XJ, Xiong LZ. Hyperbaric oxygen therapy attenuates neuropathic hyperalgesia in rats and idiopathic trigeminal neuralgia in patients. *Eur J Pain.* 2012; 16(8): 1094-105.
  133. Furuhashi A, Sato E, Nakashima T, Miura Y, Nakayama A, Mori N, Takahashi H, Kobayashi S. Hyperbaric oxygen therapy for the treatment of large vestibular aqueduct syndrome. *Undersea Hyperb Med.* 2001; 28(4): 195-200.
  134. Tran V, Smart D. Proliferative retinopathy during hyperbaric oxygen treatment. *Diving Hyperb Med.* 2017; 47(3): 203.
  135. McMonnies C. Reactive oxygen species, oxidative stress, glaucoma and hyperbaric oxygen therapy. *J Optom.* 2018; 11(1): 3-9.
  136. Gokce G, Metin S, Erdem U, Sobaci G, Durukan AH, Cagatay HH, Ekinici M. Late hyperbaric oxygen treatment of cilioretinal artery occlusion with nonischemic central retinal vein occlusion secondary to high altitude. *High Alt Med Biol.* 2014; 15(1): 84-8.
  137. Dhamodharan U, Karan A, Sireesh D, Vaishnavi A, Somasundar A, Rajesh K, Ramkumar KM. Tissue-specific role of Nrf2 in the treatment of diabetic foot ulcers during hyperbaric oxygen therapy. *Free Radic Biol Med.* 2019;138: 53-62. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.04.031.
  138. Hayes PD, Alzahir N, Curran G, Loftus IM. Topical oxygen therapy promotes the healing of chronic diabetic foot ulcers: a pilot study. *J Wound Care.* 2017; 26(11): 652-660.
  139. Golan H, Makogon B, Volkov O, Smolyakov Y, Hadanny A, Efrati S. Imaging-based predictors for hyperbaric oxygen therapy outcome in post-stroke

- patients. Report 1. Med Hypotheses. 2019; 136: 109510. Doi: 10.1016/j.mehy.2019.109510.
140. Li WF, Huang YQ, Feng YQ. Oxygen therapy for patients with acute myocardial infarction: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Coron Artery Dis*. 2018; 29(8): 652-656.
141. Ferreira APP, Vide SS, Fernandes TDF, Coelho PMBS, Camacho ÓF. Hyperbaric oxygen therapy as an adjuvant to source control in necrotizing soft tissue infections. *Undersea Hyperb Med*. 2017; 44(6): 535-542.
142. Savvidou OD, Kaspiris A, Bolia IK, Chloros GD, Goumenos SD, Papagelopoulos PJ, Tsiodras S. Effectiveness of Hyperbaric Oxygen Therapy for the Management of Chronic Osteomyelitis: A Systematic Review of the Literature. *Orthopedics*. 2018 ;41(4): 193-199.
143. Nik Hisamuddin NAR, Wan Mohd Zahiruddin WN, Mohd Yazid B, Rahmah S. Use of hyperbaric oxygen therapy (HBOT) in chronic diabetic wound - A randomised trial. *Med J Malaysia*. 2019; 74(5): 418-424.
144. Löndahl M. Hyperbaric oxygen therapy as treatment of diabetic foot ulcers. *Diabetes Metab Res Rev* 2012; 1: 78-84. doi: 10.1002/dmrr.2256.
145. Golledge J, Singh TP. Systematic review and meta-analysis of clinical trials examining the effect of hyperbaric oxygen therapy in people with diabetes-related lower limb ulcers. *Diabet Med*. 2019; 36(7): 813-826.
146. Fife CE, Buyukcakir C, Otto G, Sheffield P, Love T, Warriner R 3rd. Factors influencing the outcome of lower-extremity diabetic ulcers treated with hyperbaric oxygen therapy. *Wound Repair Regen* 2007; 15(3): 322-31.
147. Moghadam N, Hieda M, Ramey L, Levine BD, Guilliod R. Hyperbaric Oxygen Therapy in Sports Musculoskeletal Injuries. *Med Sci Sports Exerc*. 2019. doi: 10.1249/MSS.0000000000002257.
148. Hara S, Kusunoki T, Honma H, Kidokoro Y, Ikeda K. Efficacy of the additional effect of hyperbaric oxygen therapy in combination of systemic steroid and prostaglandin E1 for idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Am J Otolaryngol*. 2019: 102363. doi: 10.1016/j.amjoto.2019.102363.
149. Matera DV, Smith B, Lam B. Revisiting the expanded use of hyperbaric oxygen therapy for treatment of resistant migraines. *Med Gas Res*. 2019; 9(4): 238-240.

150. Stancu C, Sima A. Statins: mechanism of action and effects. *J. Cell. Mol. Med.* 2001; 5(4): 378-87.
151. Endo A. A historical perspective on the discovery of statins. *Proc. Jpn. Acad.* 2010, 86, 484-493.
152. Da Costa R.F., Freire V.N., Bezerra E.M., Cavada B.S., Caetano E.W.S., De Lima Filho J.L., Albuquerque E.L. Explaining statin inhibition effectiveness of 180 HMG-CoA reductase by quantum biochemistry computations. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2012; 14(4): 1389-1398.
153. Slobodan M. Janković. *Farmakologija i toksikologija*, 2011, Kragujevac.
154. Maron D.J., Fazio S., Linton M. Current perspectives on statins. *Circulation* 2000; 101(2): 207-213.
155. Holbrook A., Wright M., Sung M., Ribic C., Baker S. Statin-associated rhabdomyolysis: Is there a dose-response relationship? *Can. J. Cardiol.* 2011; 27 (2): 146-151.
156. Bae HJ, Cho YK, Park HS et al. Early efficacy and safety of statin therapy in Korean patients with hypercholesterolemia: Daegu and Gyeongbuk Statin Registry. *Korean J Intern Med.* 2019. doi: 10.3904/kjim.2018.272.
157. Kristiansen O, Vethe NT, Fagerland MW, Bergan S, Munkhaugen J, Husebye E. A novel direct method to determine adherence to atorvastatin therapy in patients with coronary heart disease. *Br J Clin Pharmacol.* 2019. doi: 10.1111/bcp.14122.
158. Giustino G, Colantonio LD, Brown TM et al. Titration to High-Intensity Statin Therapy Following Acute Myocardial Infarction in Patients With and Without Diabetes Mellitus. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2018; 32(5): 453-461.
159. Albright KC, Howard VJ, Howard G. Age and Sex Disparities in Discharge Statin Prescribing in the Stroke Belt: Evidence From the Reasons for Geographic and Racial Differences in Stroke Study. *J Am Heart Assoc.* 2017; 6(8). pii: e005523. doi: 10.1161/JAHA.117.005523.
160. Kang MK, Kim CJ, Choo EH. Anti-inflammatory effect of statin is continuously working throughout use: a prospective three time point 18F-FDG PET/CT imaging study. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2019; 35(9): 1745-1753.
161. Sanguigni V., Pignatelli P., Caccese D., Pulcinelli F.M., Lenti L., Magnaterra R., Martini F., Lauro R., Violi F. Increased platelet superoxide anion production in hypercholesterolemic patients. *Thromb. Haemostasis.* 2002; 87(5): 796-801.

162. Li W., Asagami T., Matsushita H., Lee K.H., Tsao P.S. Rosuvastatin attenuates monocyte-endothelial cell interactions and vascular free radical production in hypercholesterolemic mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005; 313(2): 557-562.
163. Rikitake Y., Kawashima S., Takeshita S., Yamashita T., Azumi H., Yasuhara M., Nishi H., Inoue N., Yokoyama M. Anti-oxidative properties of fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, contribute to prevention of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis.* 2001; 154(1): 87-96.
164. Yasuhara M., Suzumura K., Tanaka K., Takahashi M., Aoki S., Odawara A., Narita H., Suzuki T. Fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, protects LDL from oxidative modification in hypercholesterolemic rabbits. *Biol. Pharm. Bull.* 2000; 23(5): 570-574.
165. National Cholesterol Education Program (2001). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III): Executive Summary. Bethesda, MD: National Institutes of Health. National Heart, Lung, and Blood Institute. p. 40. NIH Publication No. 01-3670.
166. National Collaborating Centre for Primary Care (2010). NICE clinical guideline 67: Lipid modification. London: National Institute for Health and Clinical Excellence. 2010. p. 38.
167. Grobbee DE, Bots ML. Statin treatment and progression of atherosclerotic plaque burden. *Drugs.* 2003; 63(9): 893-911.
168. Lee MMY, Sattar N, McMurray JJV, Packard CJ. Statins in the Prevention and Treatment of Heart Failure: a Review of the Evidence. *Curr Atheroscler Rep.* 2019; 21(10): 41. doi: 10.1007/s11883-019-0800-z.
169. Nassief A, Marsh JD. Statin therapy for stroke prevention. *Stroke.* 2008; 39(3): 1042-8.
170. Esteban A, Frutos-Vivar F, Ferguson ND, Peñuelas O, Lorente JA, Gordo F, et al. Sepsis incidence and outcome: contrasting the intensive care unit with the hospital ward. *Crit Care Med.* 2007; 35(5): 1284–9.
171. Dellinger PR, 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. *Crit. Care Med.* 2013; 41(2): 580–637.

172. Whittaker S-A, Fuchs BD, Gaieski DF, Christie JD, Goyal M, Meyer NJ, et al. Epidemiology and outcomes in patients with severe sepsis admitted to the hospital wards. *J Crit Care Elsevier Inc.* 2015; 30(1): 78–84.
173. Gogos CA, Drosou E, Bassaris HP, Skoutelis A. Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. *J Infect Dis.* 2000; 181(1): 176–80.
174. Pierrakos C, Vincent J-L. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care.* 2010; 14(1): R15. doi: 10.1186/cc8872.
175. Buras JA, Holt D, Orlow D, Belikoff B, Pavlides S, Reenstra WR. Hyperbaric oxygen protects from sepsis mortality via an interleukin-10-dependent mechanism. *Crit Care Med.* 2006; 34(10): 2624–9.
176. van der Poll T, Marchant A, Buurman WA, Berman L, Keogh CV, Lazarus DD, et al. Endogenous IL-10 protects mice from death during septic peritonitis. *J Immunol.* 1995; 155(11): 5397–401.
177. Gogos CA, Drosou E, Bassaris HP, Skoutelis A. Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. *J Infect Dis.* 2000; 181: 176–80.
178. Kellum JA, Kong L, Fink MP, Weissfeld LA, Yealy DM, Pinsky MR, et al. Understanding the inflammatory cytokine response in pneumonia and sepsis. *Arch Intern Med.* 2007; 167(15): 1655–63.
179. Calzia E, Asfar P, Matejovic M, Ballestra C, Radermacher P, Georgieff M. Hyperoxia may be beneficial. *Crit Care Med.* 2010; 38(10): S559-68. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181f1fe70.
180. Muth CM, Radermacher P, Cuzzocrea S. Hyperbaric oxygen and sepsis: time to recognize. *Intensive Care Med.* 2005; 31(9): 1150–2.
181. Lee CH, Peng CK, Chang SY, Shen CH, Huang KL. Surviving Sepsis Campaign guidelines for a diver with DCI: case report. *Undersea Hyperb Med.* 2018; 45(4): 473-479.
182. Bærnthsén NF, Hansen MB, Wahl AM, Simonsen U, Hyldegaard O. Treatment with 24h-delayed normo- and hyperbaric oxygenation in severe sepsis induced by cecal ligation and puncture in rats. *J Inflamm (Lond).* 2017; 14:27. doi: 10.1186/s12950-017-0173-4. eCollection 2017.

183. Halbach JL, Prieto JM, Wang AW et al. Early hyperbaric oxygen therapy improves survival in a model of severe sepsis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2019; 317(1): R160-R168. doi: 10.1152/ajpregu.00083.2019.
184. Alberti C, Brun-Buisson C, Chevret S, et al. Systemic inflammatory response and progression to severe sepsis in critically ill infected patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171(5): 461–468.
185. Shyamsundar M, McKeown ST, O’Kane CM, i sur. Simvastatin decreases lipopolysaccharide induced pulmonary inflammation in healthy volunteers. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009; 179 (12): 1107-1114.
186. T. Frey, A. De Maio Increased expression of CD14 in macrophages after inhibition of the cholesterol biosynthetic pathway by lovastatin *Mol Med.* 2007; 13 (11-12): 592–604.
187. Durant R, Klouche K, Delbosc S, i sur. Superoxide anion overproduction in sepsis: effects of vitamin e and simvastatin. *Shock.* 2004; 22 (1) : 34-39.
188. Bellosta S, Via D, Canavesi M, et al. HMG CoA reductase inhibitors reduce MMP-9 secretion by macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998; 18(11): 1671-1678.
189. Notarbartolo A, Davi G, Averna M, et al. Inhibition of thromboxane biosynthesis and platelet function by simvastatin in type IIa hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995; 15(2): 247-251.
190. Jacobson JR, Barnard JW, Grigoryev DN, Ma SF, Tudor RM, Garcia JG. Simvastatin attenuates vascular leak and inflammation in murine inflammatory lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2005; 288(6): L1026-L1032.
191. Liappis AP, Kan VL, Rochester CG, Simon GL. The effect of statins on mortality in patients with bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2001; 33(8): 1352-7.
192. Kruger P, Bailey M, Bellomo R i sur. A multicenter randomized trial of atorvastatin therapy in intensive care patients with severe sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013; 187(7): 743-50.
193. Wiewel MA, Scicluna BP, van Vught LA. The host response in critically ill sepsis patients on statin therapy:a prospective observational study. *Ann Intensive Care.* 2018; 8(1): 9. doi: 10.1186/s13613-017-0349-3.
194. Jevtić A, Živković V, Milinković M, Mijailović Ž, Draginić N, Andjić M, Milojević Šamanović A, Bolevich S, Jakovljević V. The effect of hyperbaric

- oxygenation on cardiodynamics and oxidative stress in rats with sepsis. *Vojnosanit Pregl.* 2019. doi: 10.2298/VSP191026142J.
195. Bauhofer A, Schwarting RK, Köster M, Schmitt A, Lorenz W, Pawlak CR. Sickness behavior of rats with abdominal sepsis can be improved by antibiotic and G-CSF prophylaxis in clinic modeling randomized trials. *Inflamm Res.* 2004; 53(12):697-705.
  196. Nikolic Turnic TR, Jakovljevic VL, Djuric DM, Jeremic NS, Jeremic JN, Milosavljevic IM, Srejovic IM, Selakovic DV, Zivkovic VI. Efficiency of atorvastatin and simvastatin in improving cardiac function during the different degrees of hyperhomocysteinemia. *Can J Physiol Pharmacol.* 2018; 96(10):1040-49.
  197. Naito Y, Katada K, Takagi T, Tsuboi H, Kuroda M, Handa O, Kokura S, Yoshida N, Ichikawa H, Yoshikawa T. Rosuvastatin reduces rat intestinal ischemia-reperfusion injury associated with the preservation of endothelial nitric oxide synthase protein. *World J Gastroenterol.* 2006; 12(13):2024-30.
  198. Zolfaghari PS, Pinto BB, Dyson A, Singer M. The metabolic phenotype of rodent sepsis: cause for concern? *Intensive Care Med Exp.* 2013; 1(1):25.
  199. Ozturk A, Yamanel L, Ozenc S, Ince M, Simsek K, Comert B, Uysal B, Erturk H, Kaldirim U, Topal T, Sadir S, Saglam K. Comparison of the effects of hyperbaric oxygen and normobaric oxygen on sepsis in rats. *Arch Clin Exp Surg.* 2016; 5:7-12.
  200. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 95: 351-358.
  201. Green, L.C., Wagner, D.A., Glogowski, J., Skipper, P.L., Wishnok, J.S., et al. (1982) Analysis of nitrate, nitrite and [<sup>15</sup> N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem.* 126: 131- 138.
  202. Auclair, C., Voisin, E. (1985) Nitroblue tetrazolium reduction. In: Greenvald RA, eds. *Handbook of methods for oxygen radical research.* Boca Raton, CRC Press:1985;123-132.
  203. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods* 1980;38: 161–70.
  204. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology.* 1984;105:121-126.
  205. Beutler E. Superoxide dismutase. In: Beutler E, eds. *Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods.* Philadelphia, Grune & Stratton:PA; 1984:83-85.
  206. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood. Glutathione. *J Lab Clin Med.* 1963;61:882–888.

207. Lewis AJ, Seymour CW, Rosengart MR. Current Murine Models of Sepsis. *Surg Infect (Larchmt)*. 2016;17(4):385–393. doi:10.1089/sur.2016.021.
208. Dalby AB, Frank DN, St Amand AL, Bendele AM, Pace NR. Culture-independent analysis of indomethacin-induced alterations in the rat gastrointestinal microbiota. *Appl Environ Microbiol*. 2006;72(10):6707–6715. doi:10.1128/AEM.00378-06.
209. Li WC, Zou ZJ, Zhou MG, et al. Effects of simvastatin on the expression of inducible NOS in acute lung injury in septic rats. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(11):15106–15111.
210. Novack V, Terblanche M, Almog Y. Do statins have a role in preventing or treating sepsis? *Crit Care*. 2006;10(1):113.
211. Yamanel L, Kaldirim U, Oztas Y, et al. Ozone therapy and hyperbaric oxygen treatment in lung injury in septic rats. *Int J Med Sci*. 2011;8(1):48–55.
212. Martins EC, Silveira LDF, Viegas K, et al. Neutrophil-lymphocyte ratio in the early diagnosis of sepsis in an intensive care unit: a case-control study. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2019;31(1):64–70.
213. Guérin L, Vieillard-Baron A. The Use of Ultrasound in Caring for Patients with Sepsis. *Clin Chest Med*. 2016 Jun;37(2):299-307.
214. Packer MM, Shelhamer JH, Natason C, Alling DW, Parillo JE. Serial cardiovascular variables in survivor and nonsurvivor of human septic shock heart rate as an early predictor of prognosis. *Crit Care Med*. 1987;15:923–9.
215. Singh RK, Kumar S, Nadig S, et al. Right heart in septic shock: prospective observational study. *J Intensive Care*. 2016;4:38.
216. Morisaki H, Bloos F, Keys J, Martin C, Neal A, Sibbald WL. Compared with crystalloid, colloid therapy slow progression of extrapulmonary tissue injury in septic sheep. *J Appl Physiol*. 1994;77:1507–18.
217. Patil VC, Patil HV, Rajput A, Rao SS, Shetye JN. Relation of Echocardiographic Parameters to Outcome of Patients with Severe Sepsis and Septic Shock. *J Cardiovasc Disease Res*. 2017; 8(1): 6-15.
218. Merx MW, Weber C. Sepsis and the Heart. *Circulation*. 2007;116:793–802.
219. Serita R, Morisaki H, Ai K, et al. Sevoflurane preconditions stunned myocardium in septic but not healthy isolated rat hearts. *Br J Anaesth*. 2002;89:896–903.



220. Suzuki, T., Suzuki, Y., Okuda, J. et al. Sepsis-induced cardiac dysfunction and  $\beta$ -adrenergic blockade therapy for sepsis. *J Intensive Care* 5, 22 (2017). h
221. Prauchner CA. Oxidative stress in sepsis: Pathophysiological implications justifying antioxidant co-therapy. *Burns*. 2017 May;43(3):471-485.
222. Lin HC, Wan FJ, Wu CC, Tung CS, Wu TH. Hyperbaric oxygen protects against lipopolysaccharide-stimulated oxidative stress and mortality in rats. *Eur J Pharmacol* 2005; 508(1-3): 249–54.
223. Edremitlioğlu M, Kiliç D, Oter S, Kisa U, Korkmaz A, Coşkun O, et al. The effect of hyperbaric oxygen treatment on the renal functions in septic rats: relation to oxidative damage. *Surg Today* 2005; 35(8): 653–61.
224. Oter S, Edremitlioglu M, Korkmaz A, Coskun O, Kilic D, Kisa U, et al. Effects of hyperbaric oxygen treatment on liver functions, oxidative status and histology in septic rats. *Intensive Care Med* 2005; 31(9): 1262–8.
225. Bektas A, Ulusoy M, Mas MR. Do late phase hyperbaric and normobaric oxygen therapies have effect on liver damage? an experimental sepsis model. *Gen Med (Los Angel)* 2019; 7(1): 324.
226. Terblanche M, Almog Y, Rosenson RS, Smith TS, Hackam DG. Statins: panacea for sepsis? *Lancet Infect Dis*. 2006 Apr;6(4):242-8. Review.
227. Patel JM, Snaith C, Thickett DR, et al. Randomized double-blind placebo-controlled trial of 40 mg/day of atorvastatin in reducing the severity of sepsis in ward patients (ASEPSIS Trial) *Crit Care* 2012; 16(6): R231.
228. Oliveira CV, Funcka VR, Pereira LM, et al. Atorvastatin withdrawal elicits oxidative/nitrosative damage in the rat cerebral cortex. *Pharmacol Res* 2013; 71: 1-8.
229. Lopez-Castejon G, Brough D. Understanding the mechanism of IL-1 $\beta$  secretion. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2011 Aug;22(4):189-95.
230. Cannon JG, Tompkins RG, Gelfand JA, Michie HR, Stanford GG, van der Meer JW, Endres S, Lonnemann G, Corsetti J, Chernow B, et al. Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experimental endotoxin fever. *J Infect Dis*. 1990 Jan;161(1):79-84.
231. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6(10):a016295.
232. Song J, Park DW, Moon S, et al. Diagnostic and prognostic value of interleukin-6, pentraxin 3, and procalcitonin levels among sepsis and septic shock

- patients: a prospective controlled study according to the Sepsis-3 definitions. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):968.
233. Latifi SQ, O'Riordan MA, Levine AD. Interleukin-10 controls the onset of irreversible septic shock. *Infect Immun.* 2002;70(8):4441–4446.
234. Samraj RS, Zingarelli B, Wong HR. Role of biomarkers in sepsis care. *Shock* 2013;40(5):358–365.
235. Bærnthsen NF, Hansen MB, Wahl AM. et al. Treatment with 24 h–delayed normo- and hyperbaric oxygenation in severe sepsis induced by cecal ligation and puncture in rats. *J Inflamm* 2017; 14, 27.