

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“CAROL DAVILA” BUCUREȘTI
CATEDRA DE FIZIOPATOLOGIE ȘI IMUNOLOGIE CLINICĂ**

TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

Markeri ai inflamației vasculare în infecțiile respiratorii bacteriene

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:

PROF.DR. ELENA MOLDOVEANU

DOCTORAND:

ȘERI ANDREI CRISTIAN

BUCUREȘTI

- 2017 -

CUPRINS

INTRODUCERE	3
PARTEA GENERALĂ	3
PARTEA SPECIALĂ.....	13
Premizele studiului.....	13
Ipoteza de lucru	13
MATERIALE ȘI METODE.....	14
REZULTATE	16
DISCUȚII.....	29
CONCLUZII	41
Abrevieri.....	45
Bibliografie	46
PUBLICAȚII REPREZENTATIVE DIN TEMATICA TEZEI	48

INTRODUCERE

Pacienții cu infecții respiratorii bacteriene reprezintă o proporție importantă din pacienții internați în compartimentele de îngrijiri intensive, direct sau pe parcursul evoluției bolii.

Infecțiile bacteriene ale tractului respirator evoluează cu multiple interacțiuni între mediatorii coagulării și inflamației vasculare. Bacteriile și produșii lor determină prin acțiunea asupra NFkB, factor nuclear care are un rol central în răspunsul inflamator, activarea transcrierii genelor proinflamatorii. În același timp este activat și răspunsul antiinflamator și are loc eliberarea citokinelor antiinflamatoare. Perturbarea echilibrului între un răspuns inflamator exacerb și un răspuns antiinflamator represat duce la apariția sepsisului.

Toxinele bacteriene și alți mediatori ai inflamației eliberați în sepsis generează semnale procoagulante care cresc nivelul markerilor coagulării, scad nivelul proteinelor anticoagulante și reduc activitatea fibrinolitică.

Complicațiile vasculare asociate procesului infecțios afectează evoluția pacienților, evenimentele trombotice fiind uneori fatale.

Diagnosticul este de dificultate majoră în stările septice.

Cercetările efectuate în cadrul tezei de doctorat au constatat în evidențierea unui set de biomarkeri implicați în procesele de inflamație și coagulare, care împreună cu alți parametri clinici caracteristici algoritmului diagnostic al infecțiilor respiratorii să permită evaluarea riscului de tromboză și să indice necesitatea tratamentului anticoagulant în faze incipiente.

Această abordare complexă constituie o premieră în studiile efectuate în țara noastră.

PARTEA GENERALĂ

INFECȚIILE RESPIRATORII

Infecțiile tractului respirator constituie una din cauzele cele mai frecvente de spitalizare având într-un procent semnificativ statistic evoluție severă. OMS raportează infecțiile respiratorii ca a treia cauză importantă de deces în unitățile de îngrijiri intensive (Ishiguro 2013, Ciloniz 2015).

Între entitățile clinice frecvent întâlnite în patologia curentă sunt pneumoniile (cu varianta mai severă de bronhopneumonie) și exacerările infecțioase ale bronhopneumoniei cronice obstructive

Pneumoniile. Pneumoniile sunt definite ca afecțiuni pulmonare inflamatorii acute de etiologie diversă (infecțioasă și neinfecțioasă) caracterizate prin alveolită exsudativă sau infiltrate inflamatorii interstițiale.

Clasificare în funcție de etiologie:

1. *Pneumonii infecțioase: bacteriene, virale, fungice și parazitare.*

- Clasificare în funcție de modalitatea de dobândire: comunitare și nosocomiale.

2. *Pneumonii neinfecțioase.*

Starea septică. Sepsisul reprezintă răspunsul inflamator sistemic la infecții și este o cauză importantă de morbiditate și mortalitate. Starea septică presupune: activarea coagulării, inițierea fibrinolizei, afectarea progresivă a microcirculației și disfuncții severe de organ. Clasificarea sepsisului: sepsis sever și șoc septic.

Bronhopneumopatia cronică obstructivă

BPOC este o problemă majoră de sănătate, una din cauzele importante de mortalitate și morbiditate în lume, constituind o problemă majoră de sănătate publică. În anul 2020 se apreciază că această afecțiune va deveni a treia cauză de mortalitate în lume.

Afecțiunea este definită prin limitarea cronică a fluxului aeric, modificări progresive lezionale la nivelul căilor respiratorii, parenchimului pulmonar și vasculaturii pulmonare, prezența unui sindrom inflamator sistemic care determină afectări extrapulmonare variate și agravarea unor comorbidități prezente anterior.

Biomarkeri ai inflamației vasculare

Adiponectina (APO) este proteina antiinflamatoare predominantă produsă de țesutul adipos, care datorită receptorilor exprimați în structurile pulmonare, manifestă o activitate de semnalizare la nivelul plămânului.

Activitatea adiponectinei la nivel pulmonar a fost evidențiată în asocierea cu afecțiuni pulmonare inflamatorii (astm și BPOC) sau afecțiuni critice (infecții pulmonare cu diferite grade de severitate) (Garcia 2012, Asad 2012). A fost semnalată o scădere a nivelului/ activității adiponectinei în diferite procese patologice caracterizate de inflamație acută (sepsis, endotoxemie) sau inflamație cronică (obezitate, diabet zaharat tip II).

Celulele adipoase eliberează multiple isoforme oligomerice de adiponectină: forme trimerice (LMW), hexamerice (MWM) și multimeri de ordin înalt (HMW). HMW este cea mai activă formă biologic, are aviditate de legare de receptori, stimulând protein kinaza activată de cAMP. Adiponectina prezintă acțiuni multiple, exercitând efecte modulatorii în reglarea diabetului zaharat, afecțiunilor inflamatorii pulmonare (BPOC, astm), afecțiunilor cardiovasculare ateromatoase, infecțiilor.

Efectele antiinflamatoare ale adiponectinei se exercită prin legarea de receptori (Adipo R1, Adipo R 2 și T-cadherina și anume:

1. **Acțiunea directă** pe celulele inflamatoare: suprimă/ inhibă proliferarea celulelor liniei mieloide, reduce capacitatea fagocitară a macrofagelor, inhibă recrutarea macrofagelor în zona proceselor inflamatoare (Tsukamoto 2009, Yokota 2000), reduce producția de citokine inflamatorii de către macrofage și țesutul adipos (Park 2008).

Adiponectina inhibă creșterea monocitelor și funcționarea macrofagelor mature, suprimă transformarea macrofagelor în celule spumoase, stimulează producția IL 10 de către macrofage, inhibă adeziunea monocitelor dependentă de TNF α și exprimarea adezinelor pe celulele endoteliale (VCAM-1, selectina E și ICAM 1) (Hall 2015), inhibă activarea macrofagelor (Toll-like receptor- mediată de NFkB), inhibă producția speciilor de oxigen reactive în neutrofile. Elastaza leucocitară produsă de neutrofile și de monocitele activate este capabilă să cliveze adiponectina.

2. Acțiune pe NFkB

HMW adiponectina poate activa căi de semnalizare NFkB dependente în miocite, celule endoteliale, fibroblaști, hepatocite – unde NFkB induce secreția unei chemokine protective, sau după caz un efect inhibitor pe NFkB. Adiponectina suprimă activarea NFkB indusă de LPS în adipocite, suprimă activarea NFkB indusă de TNF α în celulele endoteliale și inhibă NFkB în macrofage, reglează citotoxicitatea celulelor NK, activează căile kinazei cAMP- activate în celulele NK care la rândul ei inhibă activarea indusă de IL-2 prin NFkB. În acest fel suprimă potențarea activității citotoxice a celulelor NK (Robinson 2011).

3. Interacțiune cu TNF α

-down reglează răspunsul inflamator care implică TNF α

-induce cașexia la pacienții cu procese maligne

Stările proinflamatorii severe cu TNF α crescut și nivel crescut de IL-6 inhibă producția/ activitatea adiponectinei - contracarează efectele proinflamatorii ale TNF α la nivelul peretelui vascular (Robinson 2011).

În procesele inflamatorii bacteriene acute nivelul activității adiponectinei este semnificativ redus (Welters 2014). LPS, prezent în infecțiile bacteriene pneumococice determină un răspuns inflamator acut, evidențiat în majoritatea organelor, cu implicații pe diferite căi metabolice, inclusiv sistemul adiponectinei. În procesele inflamatorii acute țesutul adipos răspunde la endotoxemia sistemică cu creșterea inițială a expresiei citokinelor inflamatorii (IL-6 și TNF α), determinând subsecvent diminuarea adiponectinei (Leuwer 2009).

Adiponectina circulantă este redusă în fazele initiale ale stării septice, crescând la pacienții cu evoluție favorabilă, nivele crescute menținându-se pentru un interval de mai multe luni. Această creștere a adiponectinei în perioada de recuperare sugerează o activare importantă a sistemului imunitar, ca parte a răspunsului la agresiune infecțioasă. Variațiile nivelului de adiponectină, în funcție de agresivitatea răspunsului inflamator atestă importanța sistemului adiponectinei ca modulator al inflamației.

Fosfolipaza A2 asociată LDL (LpPLA2) este o proteină care aparține familiei fosfolipazelor A2. În sânge circulă asociată în principal cu LDL și în mai mică măsură cu HDL colesterol. Enzima este sintetizată de monocite, macrofage, mastocite și limfocite T. Ea acționează asupra factorului de activare plachetară și asupra fosfolipidelor oxidate din LDL oxidat. În urma acțiunii ei rezultă lisofosfatidil colina și acizi grași liberi oxidați, compuși cu activitate proaterogenă și protrombotică (Cao 2013).

Produsul important al LpPLA2, lizofosfatidilcolina stimulează proliferarea macrofagelor, secreția citokinică, secreția CD40L și expresia moleculelor de adeziune endotelială, expresia factorilor de creștere a celulelor musculare netede și accentuează disfuncția endotelială (Goncalvez 2012).

Multiple studii epidemiologice au demonstrat corelația pozitivă între valorile crescute ale LpPLA2 și riscul vascular.

LpPLA2 și în special lisofosfatidil colina se găsesc în cantități apreciabile în lichidul de lavaj bronhoalveolar al pacienților cu afecțiuni pulmonare acute și cronice, infecțioase și noninfecțioase. Lisofosfatidil colina induce la nivel pulmonar multiple acțiuni proinflamatorii, favorizează creșterea celulară, secreția de citokine și chemokine, generarea de specii de oxigen reactive, up-reglarea moleculelor de adeziune ICAM-1, VCAM-1 și selectine (Chu 2015, Touqui 2003). Afecțiunile infecțioase respiratorii pot up-regla activitatea LpPLA2 în țesuturi (inclusiv țesutul pulmonar) în mod particular la nivelul epitelului căilor aeriene. Acest fapt sugerează faptul că în condițiile inflamatorii epitelul căilor aeriene devine una din sursele principale de lisofosfatidil colina (Cho 2015, Aranda 2013, Zhuge 2014).

MCP-1 este o proteină monomer, cu masa moleculară mică, cu rol de chemokină proinflamatorie care determină chemotaxia și activarea monocitelor, leucocitelor, celulelor NK și limfocite. În cursul activării acestor celule se eliberează molecule cu rol activ în procesele inflamatorii și lezionale (Deshmane 2009).

MCP-1 crește expresia integrinelor pe suprafața monocitelor, efect favorizant al adeziunii acestora de endoteliu. MCP-1 este produs la nivelul celulelor endoteliale, celulelor musculare netede, limfocitelor T și trombocitelor. În starea septică, MCP-1, în afara implicării în

sindromul inflamator sistemic, pare să prezinte un rol important în afectarea miocardică, deoarece cardiomiocitele exprimă TLRs (TLR 2 și TLR 4) pentru multe citokine inflamatorii și pentru moleculele asociate patogenilor, determinând inflamație intramiocardică. Endotoxemia și sindromul de răspuns inflamator sistemic au impact major la varstnici (Slimani 2014, Walley 2014).

Mieloperoxidaza (MPO) este o hemoproteină eliberată de leucocite neutrofile și monocite, cu rol important în inflamație și stres oxidativ la nivel celular. MPO are un rol major în imunitatea primară prin formarea unor oxidanți reactivi cu acțiune bactericidă. Nivelul plasmatic crescut al MPO este asociat cu procesele inflamatorii, fiind activă din primele etape ale răspunsului la factori lezionali (Gorudko 2013).

MPO este eliberată de leucocitele activate în spațiul extracelular în procesele inflamatorii. Produce acid hipocloros și alte specii reactive de oxigen. MPO are pe lângă activitatea enzimatică și un rol de modulare a semnalizării celulare și a răspunsului inflamator.

Recrutarea neutrofilelor polimorfonucleare este răspunsul inițial la stimulul infecțios (apărarea primară înnașcută) și un factor principal în afecțiunile inflamatorii vasculare. Procesul cuprinde o serie de evenimente care presupun atragerea, adeziunea și extravazarea leucocitelor, mecanisme receptor mediate. MPO mediază activarea neutrofilelor prin asociere cu integrine (CD11b/ CD18), molecule de adeziune care leagă fibrinogenul, principalul ligand al glicoproteinei plachetare IIb/IIIa, determinând semnale care modulează citoscheletul și fuxul calciului intracelular al trombocitelor. Glicoproteina IIb/ IIIa poate fi considerată un receptor pentru agregarea plachetară.

La nivelul celulelor endoteliale MPO modifică relaxarea endotelială NO dependentă și modifică fluxul celular de colesterol. MPO nu activează direct trombocitele, dar expunerea trombocitelor la MPO determină reorganizarea citoscheletului de actină al acestora, cu creșterea elasticității plachetare, determină o creștere a calciului citosolic plachetar și favorizează astfel agregarea plachetară. Abilitatea MPO de a reduce biodisponibilitatea NO, determină disfuncția endotelială, modificând suprafața endoteliului într-o zonă trombogenică, cu exprimarea de factori protrombotici și antifibrinolitici.

MPO activează metaloproteazele și favorizează destabilizarea leziunilor ateromatoase (risc crescut pentru SCA la pacienții în vârstă cu infecții respiratorii și induce apoptoza celulelor endoteliale și formarea de microparticule circulante, determinând expunerea suprafeței subendoteliale, potențial stimul pentru activarea și agregarea plachetară și *trigger* pentru coagulare (calea extrinsecă) (Fu 2003).

Factorul de creștere al endoteliului vascular (VEGF), glicoproteină cu masă moleculară mică, este un reglator important al angiogenezei normale în cursul dezvoltării organismului. Sistemul VEGF conține VEGF A, C, D și receptori mai cunoscuți VEGFR-1, VEGFR-2. Receptori VEGF sunt proteine transmembranare cu domenii citoplasmice de tirozin-kinază (Karlson 2008, Canavese 2015).

VEGF A este implicat în angiogeneza la nivelul vasculaturii sanguine sistemice, VEGF C și D reglează angiogeneza limfatică. VEGF A favorizează creșterea celulelor endoteliale arteriale și venoase. Este un factor de supraviețuire al acestor celule și de reendotelizare, și un reglator al permeabilității endoteliale. VEGF se leagă de VEGFR-1 și VEGFR-2 pe celulele endoteliale și activează cascada de semnalizare subsecventă MAPK (mitogen activated protein kinase), (Karlson 2008).

Scăderea VEGF reflectă un endoteliu disfuncțional, supresia semnalizării VEGF inhibă supraviețuirea endotelială și crește apoptoza, care la rândul ei determină disfuncția de organ sepsis indusă. VEGF, independent de protecția endotelială, are un rol în mobilizarea progenitorilor de celule endoteliale în condiții patologice (sepsis, malignități). (Rodrigues 2015).

În sepsis VEGF scade, endoteliul fiind ținta majoră a proceselor induse infecțios, iar prognosticul pacienților cu stări septice depinde și de repararea endoteliului lezat.

În stările septice severe VEGF prezintă un nivel crescut. VEGF scăzut este asociat cu disfuncții renale și hematologice mai severe la pacienții cu stare septică (Karlson 2008). Nivelul VEGF este mai scăzut la pacienții care nu supraviețuiesc, fără a constitui un factor de predicție absolut.

Un nivel scăzut de VEGF a fost evidențiat în lichidul de lavaj bronhoalveolar la pacienții cu boală interstițială pulmonară, cauzat de apoptoza epiteliului bronșic și degradarea proteolitică a acestuia. Tie2/ angiopoietin și VEGFR/ VEGF sunt recunoscute a avea un rol important în reglarea funcției endoteliului microvascular (Lin 2015).

P-selectina. Selectinele sunt lectine transmembranare calciu- dependente care mediază rulajul pe suprafețele vasculare, prima etapă în procesul de adeziune celulară. Leucocitele exprimă L-selectina, plachetele exprima P-selectina, și celulele endoteliale exprimă E-selectina și P-selectina. Rulajul permite leucocitelor să interacționeze cu chemokinele imobile care se convertesc la beta 2 integrine cu conformație de mare afinitate, care pot media captarea, adeziunea postcaptare și migrarea transendotelială a leucocitelor. Rulajul leucocitelor transmite semnale prin liganzii selectinelor, semnale care includ activarea kinazelor și recrutarea adaptorilor care sunt implicați în procesul de conversie a integrinelor. P-selectina (CD 62P) este molecula cheie implicată în interacțiunea plachetelor cu leucocitele. Este prezentă pe plachetele

activate și pe celulele endoteliale, pe leucocite fiind ligandul acesteia, P-selectin glycoprotein ligand-1.

Osteopontina (OPN). Mediatorii proceselor inflamatorii din sepsis (TNF α și IL-1) stimulează expresia OPN. În infecții, un nivel crescut persistent al OPN este asociat cu un prognostic prost. OPN este o proteină de matrice celulară care mediază diverse funcții celulare în procese patologice variate (ateroscleroză, cancer, boli inflamatorii și cronice, glomerulonefrite).

OPN prezintă un nivel crescut în zonele inflamatorii și prin interacțiune cu integrine mediază: migrația celulară, adeziunea celulară și supraviețuirea celulară. Ea funcționează ca o citokină Th1 (favorizează răspunsuri imune mediate celular), este reglator al biomineralizării țesuturilor osoase și un inhibitor potent al calcificării epiteliale vasculare, reglează și propagă răspunsul inflamator al macrofagelor, celulelor T și celulelor dendritice, inhibă NO sintaza inductibilă (iNOS), are rol în diferențierea macrofagică, induce exprimarea IL2, inhibă IL-1 în macrofage, induce exprimarea TNF α , induce migrarea, proliferarea, supraviețuirea celulelor T și secreția de IL-17, interacționează cu fibronectina.

OPN exprimată în monocitele circulante este up-reglată de către citokinele proinflamatorii: TNF α , IL-1 β , INF α , IL-6, angiotensina II, LDL oxidate. În leucocitele polimorfonucleare neutrofile OPN există la un nivel redus, dar este up-reglată în stările inflamatorii, favorizând recrutarea și migrația neutrofilelor. OPN este o citokină importantă pentru procesele de reparare tisulară.

Rolul neutrofilele în sindromul infecțios /inflamator

Leucocitelor neutrofile au un rol important în prima etapă a răspunsului de apărare în agresiunile bacteriene și în evoluția disfuncției la nivelul microcirculației și un rol favorizant al stării de hipercoagulare (Sonego 2016). Neutrofilele prezintă modificări fenotipice, funcționale și morfologice în scurt timp (câteva zile) de la debutul agravării procesului infecțios spre starea septică. Aceste disfuncții pot fi responsabile de imunosupresia septic indusă și asociate cu evoluția spre șocul septic. (Singer 2016).

Studii recente evidențiază funcții alterate ale neutrofilelor, referitor la: chemotaxie (expresie deficitară morfologic și funcțional a receptorilor chemokinici), puseu respirator, conținutul de lactoferină și creșterea numărului de neutrofile imature circulante. Fagocitoza și capacitatea de activare sunt păstrate (Sonego 2016).

Trombocitele stimulate de LPS (componentul peretelui celular al bacteriilor Gram negative), de lipopeptidul din bacteriile Gram pozitive, de E. Coli, stafilococul auriu, sau alți

agoniști plachetari determină formarea unor capcane neutrofile care sunt suport pentru stabilitatea trombusului și accentuează starea de hipercoagulare la nivel de microcirculație (Carestia 2016). Prezența acestor capcane neutrofile a fost evidențiată și în trombi venoși din TEP, iar disoluția capcanelor facilitează tromboliza.

Manifestările trombotice severe pot fi una din cauzele evoluției fatale în stările septice, infecțiile respiratorii fiind grevate de manifestări trombotice la nivel pulmonar.

Trombocitele favorizează recrutarea pulmonară de neutrofile, posibil prin CD40L derivat din plachete, responsabil de activarea și acumularea neutrofilelor trombocit-mediată din sepsis (Rahman 2013, Xie 2015). Complexele circulante plachete/ neutrofile sunt evidențiate în afecțiuni inflamatorii și infecțioase care afectează numeroase organe. Contactul de suprafață plachete/ neutrofile crește funcțiile neutrofilelor (selectina P are un rol important): chemotaxia pentru migrarea tisulară, producția transcelulară de eicosanoizi, fagocitoza, puseul respirator și modulează apoptoza neutrofilelor (Page 2013, Zarbock 2007).

Modificări ale coagulării prezente în infecțiile pulmonare

Procesele inflamatorii generează prin celulele participante și citokinele proinflamatorii și prin modificarea mecanismelor de protecție endotelială, dezechilibre ale proceselor de coagulare care determină amplificarea leziunilor generate de inflamație. La aceasta se adaugă participarea directă a microorganismelor prin producția de endotoxine sau antigenele de suprafață.

La nivel de microcirculație, procesele necrotice generate în procesul inflamator de activitatea diferitelor proteaze determină leziuni severe ale peretelui vascular

Hemostaza cuprinde patru etape, în care factorii principali sunt plachetele, relația acestora cu celulele endoteliale și proteine implicate în procesul de coagulare (Gando, 1998). În prima etapă, etapa de vasocostricție participă peretele vascular și sunt activați receptori endoteliali, receptori de la nivelul celulelor musculare netede și peptide prezente și active în procesele inflamatoare. În etapa a doua, plachetele activate de trombină și stimulate de prezența în cantități excesiv de mari a fibrinogenului formează un tromb lax, care se atașează de colagen. Ulterior, fibrina, prin activarea factorului XIII, care are activitate transglutaminazică, asigură stabilitatea trombului. În ultima etapă, etapa fibrinolitică, trombul se dizolvă prin activarea plasminei.

Fibrina este prezentă prin activarea cascadei, pe ambele căi- intrinsecă și extrinsecă. Inițiate prin mecanisme distincte, ambele căi converg în etape finale comune. În condiții normale, formarea cheagului de fibrină ca răspuns la leziunea tisulară este evenimentul cheie, și este rezultatul activării căii extrinseci a coagulării. Cascada intrinsecă este cu mai mică

semnificație în condiții de normalitate clinică, dar importantă în condiții inflamatorii de etiologie infecțioasă, în special bacteriană

În condiții patologice- infecții- prezența lipoproteinelor, a microparticulelor și bacterilor în contact cu peretele vascular sau în prezența unor disfuncții endoteliale, activarea sau absența unor receptori, activează calea intrinsecă.

În condițiile infecțiilor respiratorii, majoritatea factorilor de coagulare sunt potențați prin diferite mecanisme care generează modificări importante la nivel de microcirculație sau macrocirculație, sau amplifică mecanismele inflamatorii.

Compuși cu participare activă în modificările de coagulare asociate proceselor infecțioase și pentru care s-au dezvoltat terapii țintite:

- **Proteina C (PC):** protează serică cu rol activ important în secvențele coagulării și în procesele infecțioase.

PCa are funcții multiple, evidențiate în context fiziologic sau patologic și care sunt implicate în procesele inflamatorii vasculare. PCa se leagă de receptori specifici de pe celulele endoteliale, determinând activarea PAR-1, care conduce la efecte antiinflamatoare și citoprotectoare în celulele endoteliale (van der Poll 2013).

PCa prezintă proprietăți profibrinolitice, antiinflamatoare, antiapoptotice, acționând la nivelul celulelor endoteliale ca un modulator al activității acestora față de trombină și citokinele proinflamatorii. Receptorii proteinei C sunt prezenți pe celulele efectoare ale răspunsului imun primar, sugerând un rol important în modularea inflamației. Multiplele acțiuni la nivelul celulelor endoteliale și celulelor circulante participante în procesul inflamator, a determinat ca PCa să îi fie atribuit un rol protector al endoteliului.

- **Fibrinogenul** – nivelele crescute prezente la pacienții cu infecții respiratorii și interacțiunea acestuia cu componentele peretelui vascular și celulele circulante determină amplificarea procesului lezional și creșterea modificărilor de coagulare. Fibrinogenul, proteina de matrice rapid asamblabilă poate funcționa ca primă linie de apărare limitând creșterea bacteriană, diminuând diseminarea bacteriană la distanță și mediind omorârea bacteriilor (Ko 2016).

Coagularea intravasculara diseminată (CID)- prezentă în unele cazuri în evoluția procesului infecțios este asociată cu insuficiența multiplă de organ și este fatală. Cauzele sunt multiple, cele mai frecvente fiind infecțiile, malignitățile, SAFL.

Teste de coagulare uzuale utilizate: *timpul de sângerare (TS), timpul de protrombina (PT) și timpul partial de tromboplastină (PTT).*

Interrelații infecții- inflamație- tulburări de coagulare. Procesul inflamator prezent în cursul infecțiilor, prin componentele celulare și produșii proinflamatori declanșează multiple modificări în procesul de coagulare, determinând dezechilibre importante. În evoluția afecțiunii infecțioase se desfășoară un spectru larg de stări clinice de la infecție simplă cu remisie, la stare septică și șoc septic. Evoluția procesului infecțios este determinată de un echilibru între factorii proinflamatori și antiinflamatori ai gazdei, dar și de factori care țin de patogenul invadant.

Sepsisul sever este un sindrom clinic cu etape multiple, de la infecții cu stare inflamatorie și disfuncție endotelială compensată, la stări severe de insuficiență multiplă de organ și disfuncție endotelială severă, care apare ca răspuns al imunității primare la infecții sau la o complicație survenită în condițiile unui traumatism, malignități, boli metabolice, și care prezintă o mortalitate ridicată. Stările septice sunt asociate frecvent cu un spectru larg de tulburări hemostatice, generate de componentele gazdei sau ale microorganismelor implicate, de la activarea subclinică a coagulării la CID sever, cu tromboze microvasculare difuze și consumul trombocitelor și al proteinelor de coagulare. Infecțiile și în evoluție starea septică reprezintă un potent activator al sistemului complementului. Inițial activarea complementului este benefică, contribuind la mecanismele de apărare ale gazdei, activarea sistemică necontrolată a complementului prin mecanisme multiple, unul fiind proteina C reactivă, duce la leziuni tisulare complexe, putând determina multiple disfuncții imuno-inflamatoare.

Trombocitele în sindromul infecțios/ inflamator. În infecții, sindromul inflamator prezintă variații de intensitate în cursul evoluției afecțiunii prin celulele participante, prin moleculele proinflamatoare eliberate, prin leziunile la nivelul endoteliului vascular, determinând activare trombocitară (Tym 2011, Thomas 2015). Diferite studii au evidențiat importanța trombocitelor pentru direcționarea migrării transmembranare a leucocitelor, care depinde de expresia funcțională a P-selectinei. Amplificarea agregării plachetare în prezența MPO sugerează rolul reglator al funcțiilor plachetare, devenind o legătură între inflamație și formarea de trombi.

Proteina C reactivă (PCR). Concentrația serică poate crește de peste 1000 de ori în procesele inflamatorii. PCR crește la interval de 6-8 ore și ajunge la un maxim într-un interval de 36-50 de ore de la debutul procesului infecțios. În contact cu endoteliul aortic PCR determină exprimarea unor gene pentru proteine proinflamatorii (IL-8, fibronectina, plasminogen activator inhibitor). *PCR constituie una din căile de legătură între inflamație și coagulare în infecții.* PCR este considerată un indicator prognostic al afecțiunilor cardiovasculare, aterotromboza coronară și cerebrală fiind considerată ca o afecțiune determinată de inflamație, imunitate primară și dereglarea acumulării lipidice.

PARTEA SPECIALĂ

Premizele studiului

Pacienții cu infecții respiratorii reprezintă o proporție importantă din pacienții internați în compartimentele de îngrijiri intensive, direct sau pe parcursul evoluției bolii. Procesul inflamator sistemic este corelat cu dereglări ale procesului de coagulare și fibrinoliză care evoluează frecvent spre o stare de hipercoagulare. Complicațiile vasculare asociate procesului infecțios afectează evoluția pacienților, evenimentele trombotice fiind uneori fatale.

Ipoteza de lucru

Evaluarea în dinamică a parametrilor clinici, a unor teste biologice uzuale și a unor molecule dovedit a fi implicate ca markeri inflamație/ coagulare la pacienții cu infecții respiratorii internați la Anestezie Terapie Intensivă (ATI), pacienți cu infecții respiratorii bacteriene însoțite sau nu de complicații vasculare trombotice.

Parametrii clinici, exceptând parametrii specifici infecțiilor respiratorii, au urmărit în special prezența sau absența unor evenimente de afectare vasculară acută (fără să urmărim la distanță evoluția disfuncției endoteliale inițiată de procesele inflamatorii proaterogene). S-a urmărit exacerbarea comorbidităților în cursul procesului infecțios (HTA, diabet, afectare renală) și gradul în care acestea au prezentat o participare la starea de hipercoagulabilitate.

Între testele uzuale am urmărit în special glicemia, hemoglobina, creatinina, modificări ale hemogramei- leucocite, trombocite- cu date de morfometrie, reactanți de fază acută (VSH, PCR, fibrinogen), teste uzuale de coagulare (TP, APTT).

Ca teste speciale care evidențiază o stare procoagulantă am testat prezența anticorpilor antifosfolipidici (APLA), în special anticoagulantul lupic (LA), la un grup de pacienți, cunoscută fiind apariția sindromului antifosfolipidic postinfecțios, uneori cu urmări fatale și activitatea proteinei C a coagulării, care este frecvent scăzută în infecții severe.

Din multitudinea markerilor atestați ai inflamației au fost selectați cei care se intersectează cu starea procoagulantă. Am urmărit să constituim în funcție de teste uzuale accesibile, un profil de risc vascular al pacientului cu infecții respiratorii, susținut și de teste speciale, considerând utilă anticoagularea preventivă la pacienții cu risc vascular crescut.

Rezultate așteptate

- Corelație pozitivă între nivelul unor markeri proinflamatori și evenimentele vasculare (stare de hipercoagulabilitate manifestă clinic)
- Evoluție severă a pacienților cu afectare vasculară concomitentă
- Comorbidități evident exacerbate la pacienții cu tromboze vasculare

MATERIALE ȘI METODE

Studiul a fost aprobat conform comitetului de etică local și a fost obținut acordul pacienților. În studiu au fost incluși pacienți cu vârste între 20 și 70 de ani, internați la Spitalul Clinic „Sfântul Pantelimon”, care au fost împărțiți în două loturi:

Lotul 1- infecții pulmonare fără complicații vasculare trombotice (61 de pacienți).

Lotul 2- infecții pulmonare cu complicații vasculare trombotice (50 de pacienți).

Criterii de includere: pacienți cu pneumonii (bronhopneumonii) bacteriene, pacienți cu acutizări infecțioase ale BPOC (diagnostic pozitiv conform cu ghidurile europene și ale SRP).

Criterii de excludere:-malignități, boli autoimune, ciroză hepatică, insuficiență renală, tuberculoză, demență vasculară, boala Alzheimer.

Pacienții au fost diagnosticați conform algoritmului în curs acceptat (SRP), a fost utilizat scorul de severitate PORT, SOFA, CURB65.

Examenul microbiologic a fost efectuat din probele biologice (spută, spută indusă, aspirat bronșic, hemoculturi).

Comorbiditățile existente la internare au fost apreciate clinic, ECG, ecografic (ecografie abdominală și cardiacă), radiologic (radiografie standard, CT).

În cazul pacienților cu BPOC cunoscut au fost luate în considerație testele funcționale pulmonare anterior exacerbarii infecțioase (pentru încadrarea GOLD).

Analize de laborator uzuale (hemograma completă, creatinina, transaminaze, glicemie, enzime de necroză miocardică, reactanți de fază acută, ionogramă) și alte teste uzuale în funcție de specificul pacientului).

Teste de coagulare: PT, PT%, APTT, fibrinogen, D-dimeri, teste pentru anticorpi antifosfolipidici, proteina C a coagulării.

Evenimentele vasculare trombotice urmărite au fost: tromboembolismul pulmonar, tromboze venoase profunde sau superficiale, stroke, atacuri ischemice tranzitorii, sindroame coronariene acute- apreciate clinic, ECG, enzimatic, ecografic(cord, vase, abdomen), CT cerebral, teste de coagulare, fibrinogen, D- dimeri.

S-au evaluat markeri de inflamație, evidențiați de studii anterioare ca fiind modificați în evoluția sindromului inflamator asociat infecțiilor: mieloperoxidaza, VEGF, adiponectina, osteopontina, P-selectina, MCP-1, fosfolipaza A-2 asociată LDL (LpPLA2). În acest caz au fost evaluați și 30 de pacienți normali.

Metode de determinare a biomarkerilor inflamatori. Activitatea LpPLA2 a fost determinată spectrofotometric utilizând kitul Azwell Auto și exprimată în UI/l (Kosaka 2000).

Activitatea MPO s-a determinat spectrofotometric la 405 nm, utilizând o-dianisidina ca substrat și exprimată în UI/l (Buchmann 2002). Pentru evaluarea sCD40L, adiponectina, VEGF și MCP-1 s-a utilizat tehnica ELISA utilizând următoarele kituri produse de *R&D System*.

Teste de coagulare utilizate: PT, PT%, APTT, anticorpi fosfolipidici (anticorpi anticardiolipină, anti- beta 2 microglobulină, anticoagulantul lupic), Proteina C a coagulării.

Recent a fost reevaluată definiția sepsisului, fiind introduse criterii clinice și biologice care să prevină evaluarea tardivă și inadecvată a acestuia (Singer 2016).

Sepsisul este definit ca disfuncție de organ determinată de un răspuns dereglat al gazdei la infecție. Termenii și condițiile noi introduse:

1. Sepsis- disfuncție de organ (în grade variabile) determinată de un răspuns dereglat al gazdei la infecție .
2. Disfuncția de organ ca o schimbare acută în scorul SOFA mai mare sau egal decât 2, urmare a infecției (scorul SOFA bazal este presupus 0, la un pacient la care nu este specificată o disfuncție de organ anterioară). Un scor SOFA peste 2 reflectă un risc de mortalitate intraspital de 10% la pacienții cu infecții. Starea pacienților care prezintă disfuncții ușoare se poate deterioara în evoluție, și luarea în considerație a acestui fapt implică măsuri prompte și adecvate, dacă nu au fost deja instituite.
3. Pentru pacienții cu infecții suspectate internați la ATI, trebuie făcut rapid scorul SOFA la pat (alterarea statusului mental, modificarea TA, frecvența respiratorie peste sau egal cu 22 respirații/ minut)
4. Șocul septic reprezintă un subset clinic al stării septică, cu dereglări circulatorii, celulare și metabolice importante, determină o creștere semnificativă a mortalității. Pentru pacienții cu infecții respiratorii scorurile de severitate folosite au fost CURB 65 și SOFA. Pacienții din studiu s-au încadrat din punct de vedere al scorului Port în clasele III, IV și peste IV, din punct de vedere al scorului CURB peste 2 (peste 70% din pacienți) și al scorului SOFA -2 sau peste 2 au avut 75% din pacienți.

Din acest punct de vedere, deși nu toți pacienții au fost în stare septică (definită de criteriile menționate), am convenit ca spre simplificarea notațiilor grupurile să fie definite ca sepsis fără tromboze (grupul I), și sepsis cu tromboze (grup II).

Prelucrarea statistică a datelor s-a făcut folosind programul Microsoft Office 2007, Excel 2007 și pachetele de produse specializate în biostatistică- MedCalc și statistică- SPSS 15.0

Pentru statistica descriptivă s-au folosit diverși indicatori statistici: frecvența, media, deviația grafică standard etc. Acești indicatori au fost calculați folosind SPSS și EXCEL. În reprezentarea grafică a acestora s-au folosit de asemenea EXCEL și SPSS.

Sig reprezintă semnificația statistică și se notează cu **p**. **Coefficientul de corelație Pearson** indică puterea (tăria corelației) și se notează cu **R** și variază între [-1, +1]. Pentru analiza cantitativă și calitativă a datelor s-a folosit **Medcalc** pentru analiza ROC și **SPSS** pentru diversele teste statistice: **testul Fischer** (pentru date numerice), **testul Chi pătrat** (pentru date nominale), **testul t** (Student), analiza varianței- **ANOVA**. Performanța de diagnostic a unui test sau acuratețea unui test în a deosebi între cazurile de boală și cele normale se evaluează folosind curba **analizei ROC**.

REZULTATE

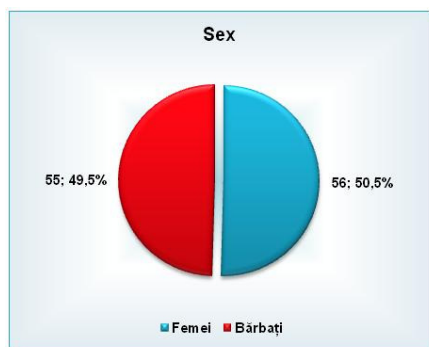
Caracterizarea lotului de pacienți

- grupul I (infecții respiratorii fără evenimente trombotice) - 61 pacienți
- grupul II (infecții respiratorii cu evenimente trombotice în evoluție)-50 pacienți

Am calculat distribuția pacienților în cele două loturi în funcție de sex, vârstă, diagnostic și tipul de germene.

Distribuția în funcție de sex.

În numărul total de pacienți distribuția a fost egală. Se remarcă predominanță sexului masculin la pacienții cu infecții respiratorii care asociază în evoluție tromboze în teritorii variate.



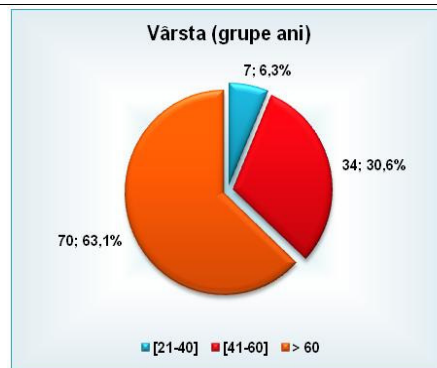
Sex	Număr	Procent
Femei	37	60,7%
Bărbați	24	39,3%
Total	61	100,0%

În grupul I au predominat femeile

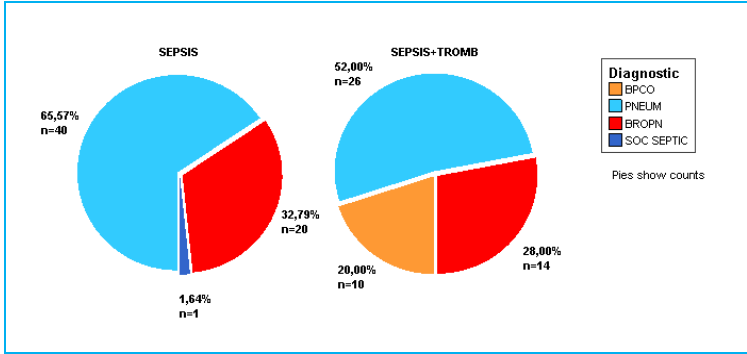
Sex	Număr	Procent
Femei	18	36,0%
Bărbați	32	64,0%
Total	50	100,0%

În grupul II au predominat bărbații.

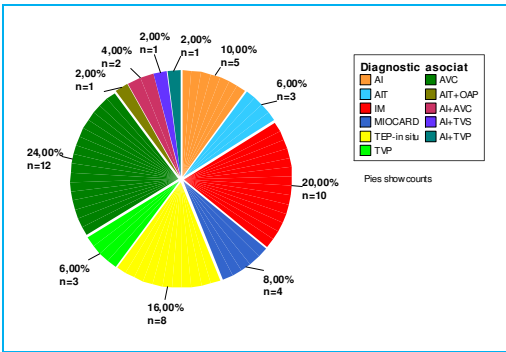
Distribuția în funcție de vârstă în numărul total al pacienților, în cele 2 grupuri.



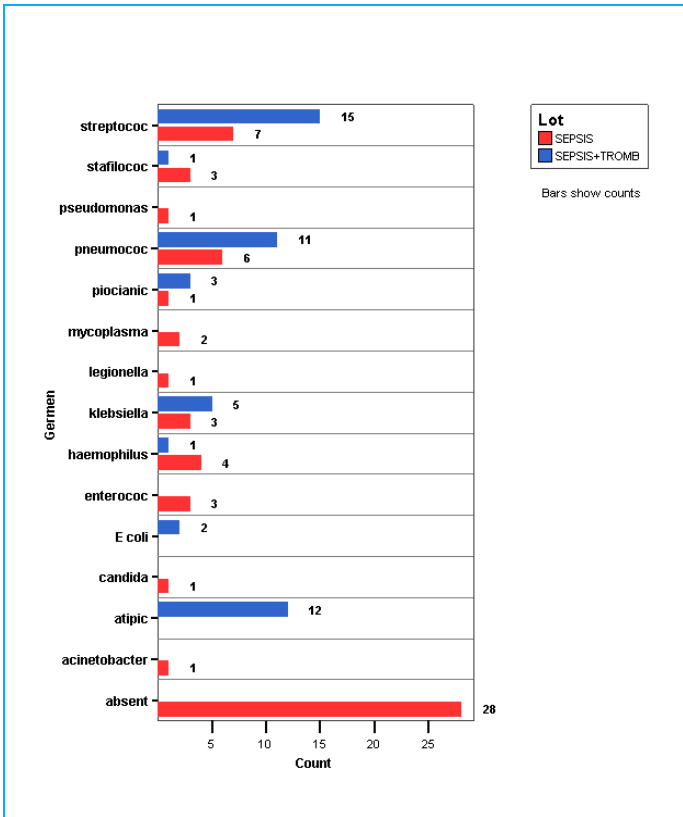
Distribuția în funcție de diagnostic. Pacienții luați în studiu, au avut diagnostic de pneumonie, bronhopneumonie și BPCO exacerbant infecțios, cu grade de stare septică moderate, moderat/severă/ severă/ șoc septic. Au predominat procentual pacienții cu pneumonie, în ambele grupuri. Dintre evenimentele trombotice, care au grevat evoluția pacienților au fost mai frecvente accidentele vasculare cerebrale 24%, tromboembolismul pulmonar 16% (cu grade diferite de severitate) și sindroamele coronariene acute 30% (infarct miocardic 20%; angina instabilă 10%).



Distribuția pacienților
în funcție de
diagnostic



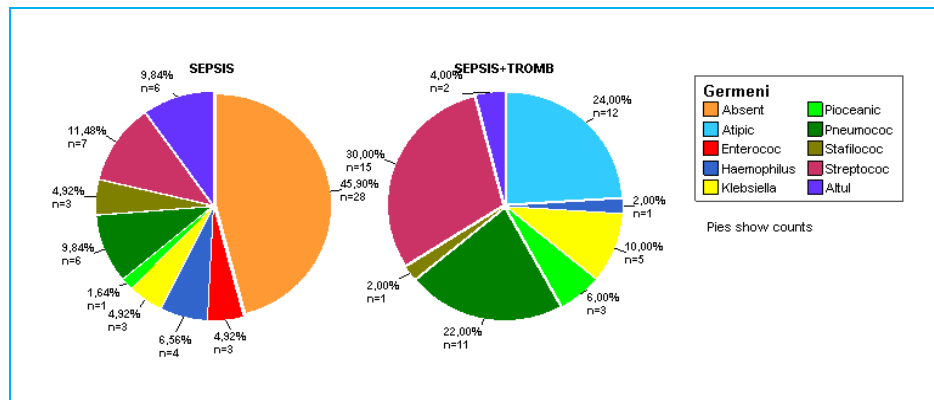
Distribuția pacienților
in funcție de
diagnostic asociat



**Distribuția în funcție
de germene,** germenii
fiind identificați la 83
de pacienți

Se remarcă predominanța streptococului, pneumococului, chlamydia pneumoniae (în tabel – atipic), klebsiella pneumoniae. În grupul 2 au predominat infecțiilor cu pneumococ, streptococ, klebsiella în grupul care asociază tromboze

Unii pacienți au prezentat germeni multipli, sau alt germen la intervale de evoluție (posibil infecții secundare în etapa de susceptibilitate crescută).

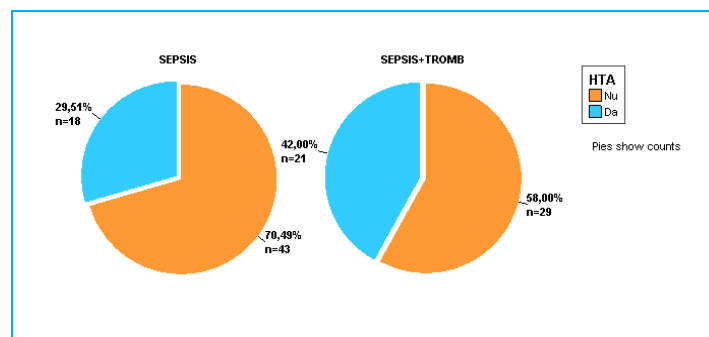


Există o legătură, semnificativă statistic, între tipurile de germeni și prezența/absența trombozei ($R = 0,569$ $p=0,001$).

Relația dintre tipul de germen și durata spitalizării

Avem diferențe, semnificative statistic, pentru zilele de spitalizare și categoriile de germeni ($p<0,001$) în întregul lot. Diferențele semnificative statistic s-au manifestat între următoarele categorii de germeni: Absent-Piocianic, Absent-Streptococ, Atipic-Haemophilus, piocianic-Haemophilus, fără să existe diferențe semnificative între cele două grupuri de pacienți.

Distribuția în funcție de comoridități

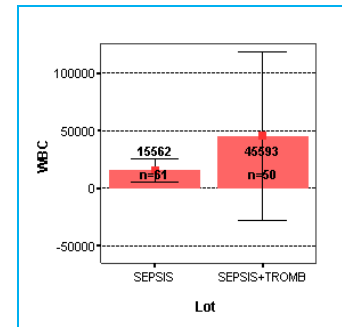


Între comorbiditățile studiate pentru riscul vascular, hipertensiunea arterială (anterioară internării actuale) a fost prezentă în ambele grupuri, cu o predominanță în grupul II, fără a se dovedi statistic un factor de risc. Diabetul zaharat tip II, prezent în aproximativ 50% din cazuri în ambele loturi, în cursul evoluției afecțiunii s-a dezechilibrat în majoritatea cazurilor, necesitând completarea medicației antidiabetice.

Teste uzuale de laborator

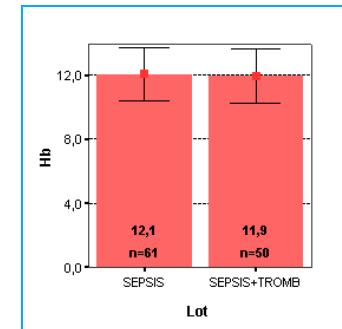
Hemograma

Leucocite – modificarea numărului de leucocite periferice, în ambele sensuri (leucocitoză sau leucopenie) este o caracteristică a sindromului infecțios. Valorile medii diferă semnificativ statistic ($p=0,002$, $R=0,084$).



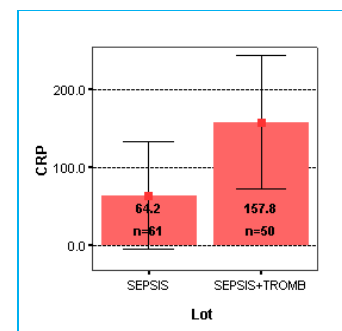
Hemoglobina

Nu există o legătură între prezența/absența trombozei și valoarea Hb ($p=0,685$).

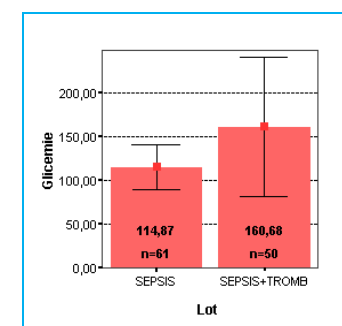


CRP-

A crescut la majoritatea pacienților, fiind semnificativ crescută în grupul II ($p<0,001$, $R=0,273$).

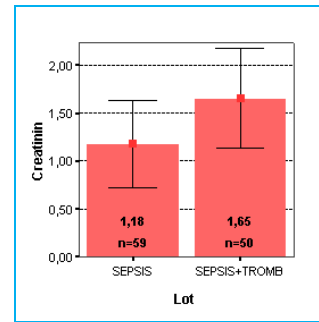


Glicemia - Valorile bazale, recoltate la 1-3 zile de la internare. La majoritatea pacienților variațiile valorilor glicemiei se normalizează pe parcurs (+/- tratament antidiabetic la pacienții care îl aveau inițial). Există o legătură între prezența/ absența trombozei și valoarea glicemiei. Valorile medii diferă semnificativ statistic ($p<0,001$, $R=0,141$).



Pacienții din grupul II au prezentat valori crescute, semnificative statistic, față de pacienții din grupul I. Legătura poate fi în ambele sensuri –sindrom inflamator/infecțios – hiperglicemie – tromboză sau hiperglicemie –amplificare sindrom inflamator –tromboză, prin creșterea stressului oxidativ și a disfuncției endoteliale.

Creatinina – test uzual, care se numără între criteriile scorurilor de severitate, a înregistrat valori mai crescute în grupul II, contribuind la posibila evoluție mai severă a pacienților cu stare septică și tromboze. În cursul evoluției spre remisie a afecțiunii respiratorii, creatinina a revenit la valorile bazale. Există o legătură între prezența/ absența trombozei și valoarea creatininei. ($p < 0,001$, $R = 0,193$).

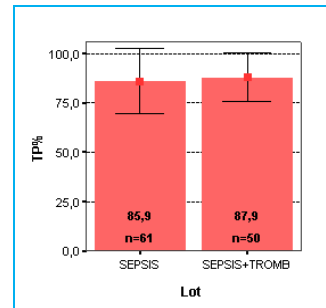


Testele de coagulare uzuale

Timpul de protrombina (TP)

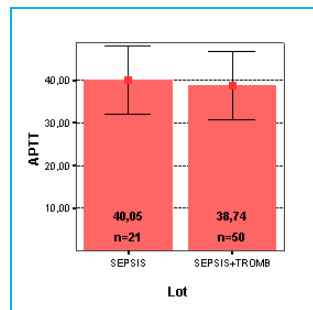
Valoarea TP% se încadrează între limitele normale, ceea ce poate avea semnificația unei neparticipări a factorilor de coagulare la inițierea trombozelor.

Valorile medii nu diferă semnificativ statistic ($p = 0,467$)

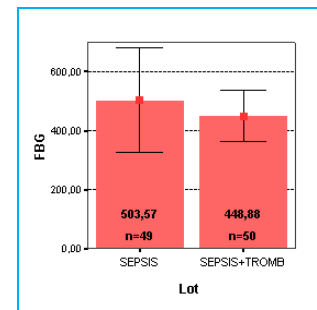


APTT

Valorile nu diferă semnificativ statistic ($p = 0,533$).



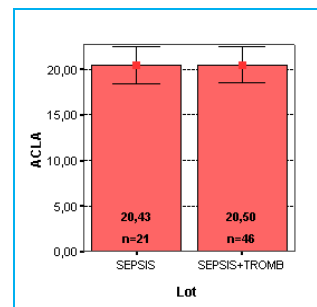
Fibrinogenul are valori crescute în ambele grupuri. Valorile medii nu diferă semnificativ statistic ($p = 0,055$).



Anticorpai anticardiolipină (ACLA)

ACLA sunt mai rar prezenți în sindromul antifosfolipidic generat infecțios.

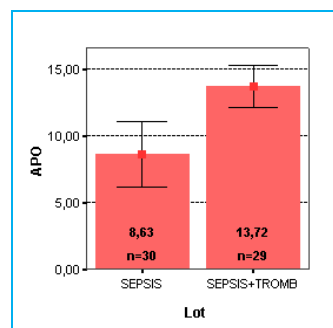
Valorile medii nu diferă semnificativ statistic ($p = 0,893$).



BIOMARKERII INFLAMATORII INVESTIGAȚI

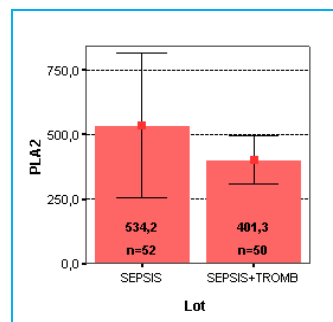
Adiponectina

Recoltarea adiponectinei a fost efectuată la pacienți în primele zile de la internare (1-4 zile) pentru ambele grupuri, valorile înregistrate sunt între limitele normale, dar se constată un nivel mai crescut al adiponectinei la pacienții care au prezentat în evoluție tromboză. Valoarea bazală în grupul fără tromboze a fost spre limita inferioară a valorii normale. Valorile medii diferă semnificativ statistic ($p < 0,001$, $R = 0,610$).



LpPLA2

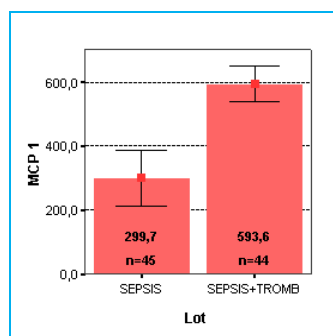
Valorile medii diferă semnificativ statistic ($p = 0,002$, $R = 0,093$)



MCP-1

Valorile medii diferă semnificativ statistic ($p < 0,001$, $R = 0,800$)

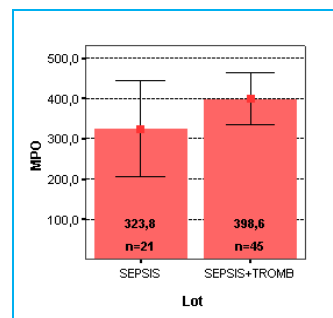
Pacienții grupului II, au prezentat activitate MCP-1 semnificativ crescută față de pacienții grupului I.



Mieloperoxidaza

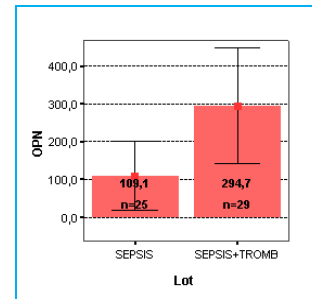
MPO - valorile sunt crescute în ambele grupuri de pacienți, majoritatea având leucocitoză periferică.

Există o legătură între prezența/ absența trombozei și valoarea MPO ($p = 0,001$, $R = 0,147$)



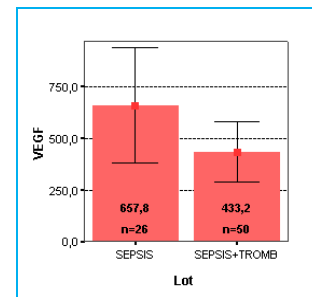
Osteopontina

Valorile medii diferă semnificativ statistic ($p < 0,001$, $0,352$).



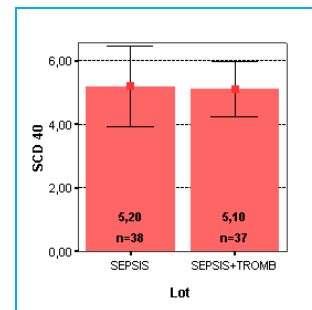
VEGF

Valorile medii diferă semnificativ statistic ($p < 0,001$, $R = 0,224$), există o legătură între prezența/absența trombozei și valoarea VEGF.



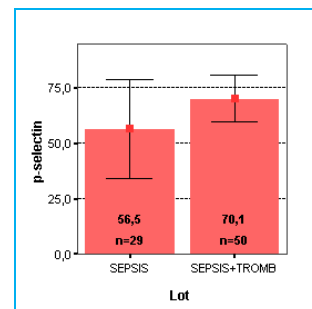
sCD40L

Valorile medii nu diferă semnificativ statistic ($p = 0,713$).



P-selectina

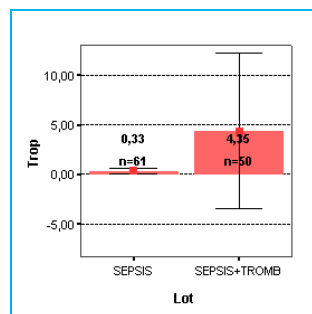
Valorile medii diferă semnificativ statistic ($p < 0,001$, $R = 0,148$).



Troponina

A fost crescută semnificativ la pacienții din grupul II, reflectând indirect rolul procoagulant al inflamației.

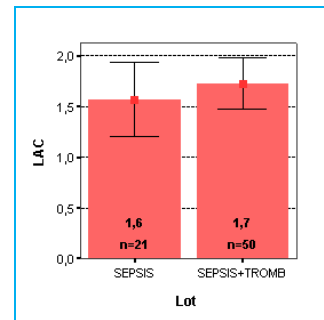
Există o legătură între prezența/absența trombozei și valoarea troponinei ($p < 0,001$, $R = 0,129$).



Anticorpai antifosfolipidici - Lupus anticoagulant

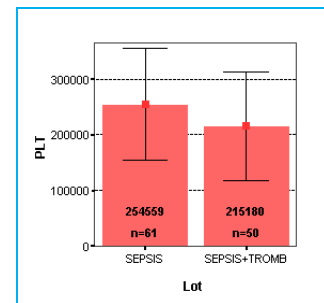
Anticoagulantul lupic (LAC) apare cu frecvență crescută.

Valorile medii diferă semnificativ statistic ($p=0,036$, $R=0,062$).



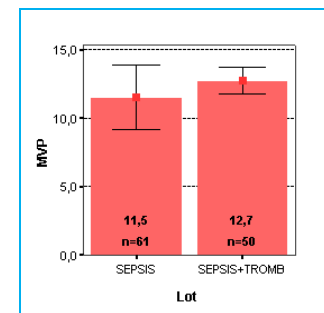
Trombocitele

Valorile medii diferă semnificativ statistic ($p=0,041$, $R=0,038$).



Volumul mediu plachetar

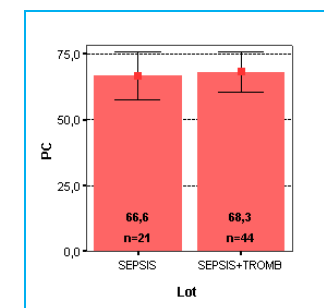
Valorile medii diferă semnificativ statistic ($p=0,001$, $R=0,092$).



Proteina C

Valorile sunt la limita inferioară a normalului.

Valorile medii nu diferă semnificativ statistic ($p=0,454$).

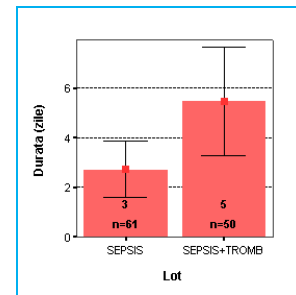


Internare și terapie întârziată

S-a încercat din datele anamnestice să se precizeze debutul afecțiunii (febră, junghi toracic, dispnee mai severă) față de momentul internării pentru pacienții ambelor grupuri.

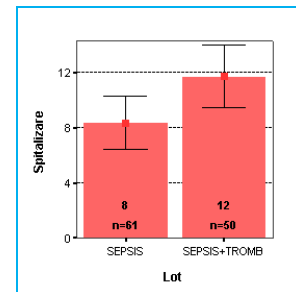
În grupul II, pacienții nu au primit tratament specific aproximativ 48 ore (valoare medie), grup cu criterii de evoluție mai severă, ceea ce arată importanța unui diagnostic precoce și terapie administrată cât mai devreme.

Există o legătură între prezența/ absența trombozei și valoarea duratei de la momentul debutului până la momentul internării ($p<0,001$; $R=0,399$) Valorile medii diferă semnificativ statistic.



Durata de spitalizare

Durata de spitalizare a fost evaluată și în funcție de germele patogen identificat (în cazurile în care a fost identificat). Există o legătură între prezența/ absența trombozei și numărul zilelor de spitalizare. ($p<0,001$ $R=0,391$).

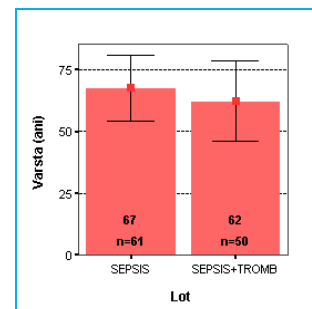


Spitalizarea prelungită a pacienților din grupul II nu semnifică doar severitatea evoluției afecțiunii pacienților din acest grup, ci și întârzierea aplicării unui tratament adecvat și totodată posibil accentuarea unor comorbidități care determină spitalizarea prelungită și costuri suplimentare.

- Există diferențe semnificative statistic pentru zilele de spitalizare și categoriile de germeni ($p<0,001$) în întregul lot. Diferențe semnificative statistic s-au manifestat între următoarele categorii de germeni: Absent-Piocianic, Absent-Streptococ, Atipic-Haemophilus, piocianic-Haemophilus.
- Nu există diferențe semnificative statistic ($p=0,082$) pentru zilele de spitalizare și categoriile de germeni în lotul SEPSIS.
- Nu există diferențe semnificative statistic pentru zilele de spitalizare și categoriile de germeni în lotul SEPSIS+Tromboză (0,552)
- Diferențele semnificative statistic în întregul lot se datorează diferențelor valorilor dintre cele două loturi, chiar dacă în cadrul loturilor diferențele nu sunt semnificative statistic.

Vârsta pacienților

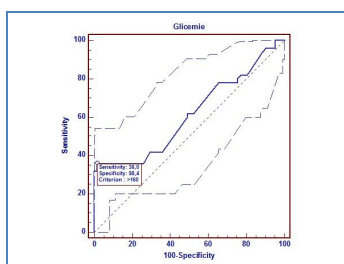
Valorile medii nu diferă semnificativ statistic ($p=0,062$). În lotul întreg predomină pacienții din grupul de vârstă peste 60 ani.



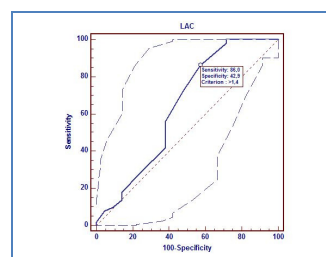
Analiza ROC și ANOVA

- Datele semnificative statistic ale parametrilor investigați în funcție de tăria influenței prezenței/absenței trombozei : **MCP1-80,0%**, **APO-61,0%**, **OPN-35,2%**, **CRP-27,3%**, **VEGF-22,4%**, **Creatinina-19,3%**, **P-Selectina-14,8%**, **MPO-14,7%**, **Glicemie-14,1%**, **Troponina-12,9%**. Restul au valori sub 10%, adică PLA2-9,3%, MVP-9,2%, WBC-8,4%, LAC-6,2% și PLT-3,8%. **Prin urmare parametrii cei mai sensibili la prezența trombozei sunt MCP1 si APO.**
- Troponina și WBC au valori foarte mari ale deviației standard (SD), deci o mare împrăștiere a valorilor în lotul cu tromboză.

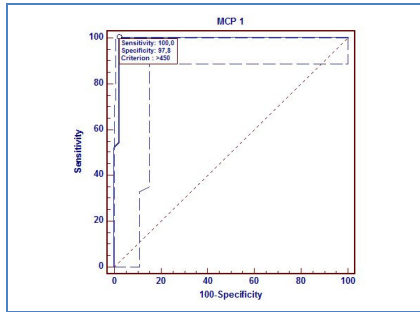
Parametru	Valoare medie (SEPSIS)	Valoare medie (SEPSIS+Tromb)	Sig (ANOVA)	Măsura asocierii
ACLA	20,43	20,50	0,893	0,000
APO	8,63	13,72	<0,001	0,610
APTT	40,05	38,74	0,533	0,006
Creatinină	1,18	1,65	<0,001	0,193
CRP	64,18	157,84	<0,001	0,273
FBG	503,57	448,88	0,055	0,038
Glicemie	114,87	16068	;0,001	0,141
Hb	12,07	11,94	0,685	0,002
LAC	1,56	1,73	0,036	0,062
MCP1	299,73	593,61	<0,001	0,800
MPO	323,76	398,64	0,001	0,147
MVP	11,526	12,720	0,001	0,092
OPN	109,10	294,66	<0,001	0,352
PC	66,62	68,25	0,454	0,009
PLA2	534,15	401,34	0,002	0,093
PLT	254559,02	215180,00	0,041	0,038
P-Selectin	56,48	70,10	<0,001	0,148
SCD40	5,20	5,10	0,713	0,002
TP%	85,90	87,94	0,467	0,005
Troponina	,33	4,35	<0,001	0,129
VEGF	657,85	433,18	<0,001	0,224
WBC	15561,84	45593,36	0,002	0,084
TA	125	130	0,229	0,013
Durata (zile)	2,72	5,46	<0,001	0,399
Spitalizare	8,34	11,7	<0,001	0,391
Vârsta	67,49	62,22	0,062	0,032



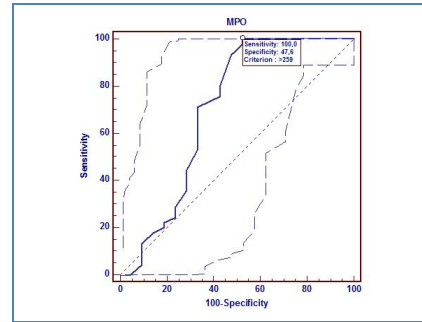
Glicemia > 160 -semnificativ statistic (p=0,0345)



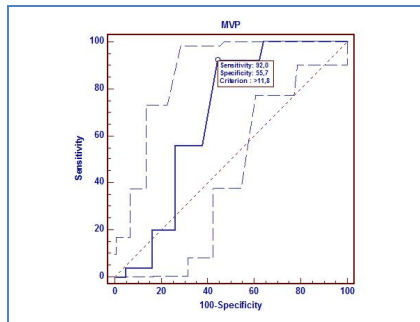
Anticoagulantul lupic/ LAC > 1,4 -semnificativ statistic (p=0,0470).



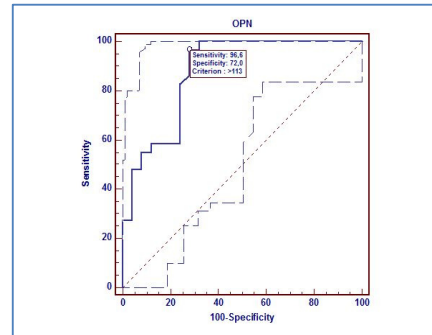
MCP-1 > 450 -semnificativ statistic (p=0,0001)



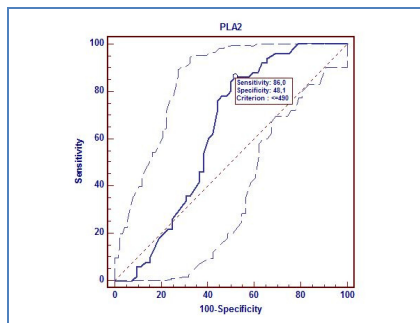
MPO > 259 -semnificativ statistic (p=0,0023)



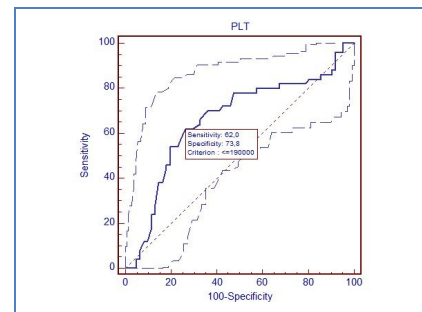
MVP > 11,8 -semnificativ statistic (P=0,0005)



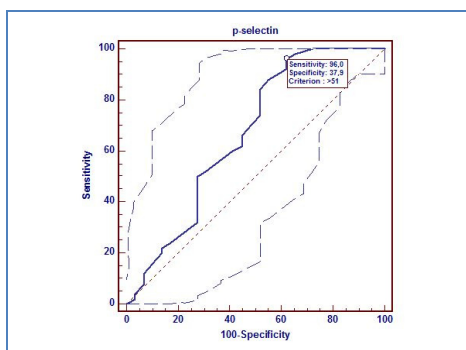
OPN > 113 -semnificativ statistic (P=0,0001)



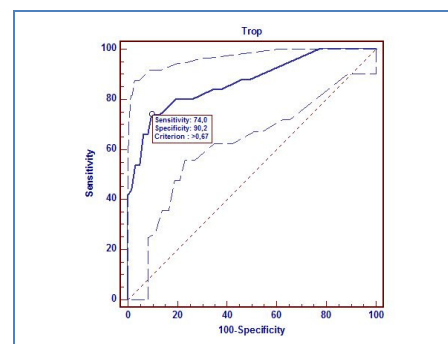
LpPLA2 ≤ 490 -semnificativ statistic (P=0,0223)



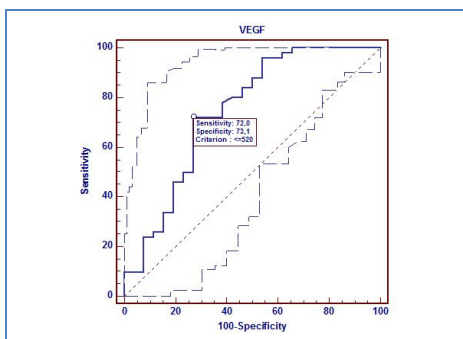
Plachete / PLT ≤ 190000 semnificativ statistic (P =0,0018).



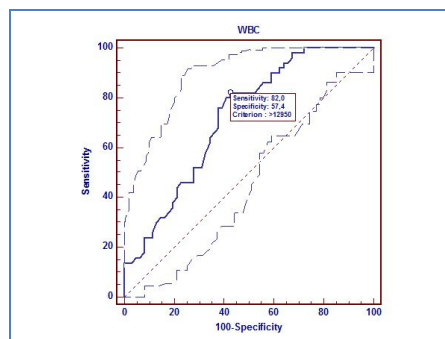
P Selectin > 51 -semnificativ statistic (P=0,0073)



Troponin>0,67 -semnificativ statistic (P=0,0001)



VEGF ≤ 520 -semnificativ statistic (P=0,0001)



WBC – leucocite periferice > 12950
semnificativ statistic (P=0,0001)

Centralizarea rezultatelor ROC și ANOVA

Parametru	Criteriu ROC	Sig (ROC)	Valoare medie (SEPSIS)	Valoare medie (SEPSIS+Tromb)	Sig (ANOVA)	Măsura asocierii
ACLA	≤ 22	0,9514	20,43	20,50	0,893	0,000
APO	> 10	0,0001	8,63	13,72	<0,001	0,610
APTT	≤ 33	0,5777	40,05	38,74	0,533	0,006
Creatinină	$> 1,32$	0,0001	1,18	1,65	<0,001	0,193
CRP	> 65	0,0001	64,18	157,84	<0,001	0,273
FBG	≤ 580	0,1300	503,57	448,88	0,055	0,038
Glicemie	> 160	0,0345	114,87	160,68	<0,001	0,141
Hb	≤ 12	0,6774	12,07	11,94	0,685	0,002
LAC	$> 1,4$	0,0470	1,56	1,73	0,036	0,062
MCP1	> 450	0,0001	299,73	593,61	<0,001	0,800
MPO	> 259	0,0023	323,76	398,64	0,001	0,147
MVP	$> 11,8$	0,0005	11,526	12,720	0,001	0,092
OPN	> 113	0,0001	109,10	294,66	<0,001	0,352
PC	> 65	0,5839	66,62	68,25	0,454	0,009
PLA2	≤ 490	0,0223	534,15	401,34	0,002	0,093
PLT	≤ 190000	0,0015	254559,02	215180,00	0,041	0,038
P-Selectin	> 51	0,0073	56,48	70,10	<0,001	0,148
SCD40	$\leq 6,35$	0,5839	5,20	5,10	0,713	0,002
TP%	≤ 86	0,8494	85,90	87,94	0,467	0,005
Trombocyte	≤ 4	0,3256	3,81	3,52	0,393	0,011
Troponina	$> 0,67$	0,0001	,33	4,35	<0,001	0,129
VEGF	≤ 520	0,0001	657,85	433,18	<0,001	0,224
WBC	> 12950	0,0001	15561,84	45593,36	0,002	0,084

- Din tabel sunt importante datele semnificative statistic în funcție de măsura asocierii, adică după tăria influenței prezenței/ absenței trombozei asupra parametrilor analizați.
- Ordinea este: MCP1-80,0%, APO-61,0%, OPN-35,2%, CRP-27,3%, VEGF-22,4%, Creatinina-19,3%, P-Selectina-14,8%, MPO-14,7%, Glicemie-14,1%, Troponina-12,9%.

CORELAȚII

Tabela corelațiilor afișează: coeficienții de corelație Pearson (R), valoarea semnificației statistice (p), numărul de cazuri cu valori. Am calculat coeficientul de corelație pentru diverse combinații de măsurători, atât pentru întregul lot cât și pentru cele loturi loturi.

În lotul SEPSIS avem corelații semnificative statistice pentru comparațiile între: VMP-VEGF (R=0,509), MPO-LpPLA2 (R=0,654), VEGF-Creatinină (R=-0,519) și Hb-Trombocite (R=0,481). Corelațiile sunt medii.

În lotul cu Tromboze, avem corelații semnificative statistic pentru VMP-creatinină (R=0,973), VMP-Durata de spitalizare (R=0,423), Trombocite-Durata de spitalizare (R=0,405), VEGF-Troponină (R=0,306), VEGF-Creatinină (R=-0,301), VEGF-APTT (R=0,356) și VEGF—TP% (R=0,406). Corelațiile sunt mai degrabă mici către medii.

Parametrii	SEPSIS		SEPSIS+Tromboză		Observații
	R	Sig	R	Sig	
VMP-Trombocite	0,087	0,709	0,278	0,051	
VMP-MPO	0,068	0,771	0,171	0,261	
VMP-Durata de spitalizare	0,122	0,347	0,423	0,002	
VMP-Creatinină	0,174	0,118	0,005	0,973	
VMP-FBG	0,083	0,570	0,130	0,367	
VMP-LpPLA2	0,383	0,124	0,245	0,086	
VMP-VEGF	0,509	0,008	-0,030	0,837	Schimbare semn la R
VMP-TP%	0,045	0,731	-0,182	0,206	Schimbare semn la R
MPO-Creatinină	-0,085	0,714	-0,227	0,133	
MPO-HTA	0,081	0,728	0,083	0,586	
MPO-Durata de spitalizare	-0,243	0,289	-0,065	0,672	
MPO-Trombocite	0,346	0,124	-0,046	0,763	Schimbare semn la R
MPO-Troponină	0,306	0,178	-0,174	0,252	Schimbare semn la R
MPO-WBC	0,146	0,527	0,011	0,945	
MPO-TP%	0,140	0,545	-0,140	0,359	Schimbare semn la R
MPO-APTT	0,110	0,635	-0,023	0,883	Schimbare semn la R
MPO-PLA2	0,654	0,003	-0,158	0,301	Schimbare semn la R
MPO-Glicemie	-0,244	0,287	-0,078	0,612	
Creatinină-HTA	-0,121	0,362	-0,201	0,161	
Trombocite-Durata de spitalizare	0,616	0,116	0,405	0,004	
VEGF-Troponină	0,382	0,054	0,306	0,030	
VEGF-Creatinină	-0,519	0,007	-0,301	0,034	
VEGF-APTT	0,146	0,543	0,356	0,011	
VEGF-TP%	-0,229	0,261	0,406	0,003	Schimbare semn la R
VEGF-MPO	0,471	0,105	-0,103	0,502	Schimbare semn la R
VEGF-Glicemie	-0,249	0,220	0,144	0,318	Schimbare semn la R
Hb-Trombocite	0,481	0,027	0,015	0,917	
Hb-MVP	-0,241	0,062	-0,134	0,355	

În cazul VEGF- Creatinină avem corelații semnificative statistic pentru ambele loturi, dar corelația pentru lotul cu Tromboză este negativă

Există comparații la care chiar dacă coeficientul de corelație nu este semnificativ statistic, el își schimbă semnul. Acest lucru ne poate da o indicație prin care putem presupune că severitatea afecțiunii pacienților cu sepsis și tromboză poate justifica această stare.

DISCUȚII

Infecțiile respiratorii bacteriene determină un grad crescut de morbiditate și mortalitate intraspitalicească, fiind una din cauzele importante de spitalizare prelungită și deces în unitățile de îngrijire intensivă (ICU). Infecția bacteriană asociază și un sindrom inflamator și evoluează cu un spectru larg de manifestări clinice și biologice, având grade de severitate progresive de la un proces infecțios/ inflamator necomplicat până la apariția unei stări septice.

Starea septică, reacție inflamatorie necontrolată în prezența unei infecții rămâne una din cauzele majore de morbiditate și mortalitate din spitale. Ea prezintă diferite grade de severitate, putând progresa de la sepsis sever la șoc septic, și mai departe la insuficiență multiplă de organ, în funcție de complexitatea disfuncțiilor organice sau a hipoperfuziei tisulare.

Fiziopatologia acestui proces este determinată de stresul oxidativ și de disfuncțiile mitocondriale, endoteliale și ale factorilor asociați angiogenezei.

Diagnosticul este de dificultate majoră în stările septice și cu toate progresele făcute în ultimii ani în îmbunătățirea tratamentelor și a măsurilor suportive, mortalitatea rămâne crescută. Studiul SEPSIS-3 FREE propune o definiție mai completă a sindromului septic generat de infecții, cu criterii clinice și biologice care să faciliteze diagnosticul precoce (Singer 2016).

Sepsisul este definit ca disfuncție de organ determinată de un răspuns dereglat al gazdei la infecție. Această definiție arată necesitatea recunoașterii timpurii a agresivității afecțiunii și instituirea terapiei specifice și suportive necesare. O disfuncție ușoară de organ în context infecțios este asociată cu o mortalitate intra-spital de 10%. Recunoașterea rapidă a acestei condiții impune un răspuns prompt și adecvat. Au fost propuse mai multe scoruri de diagnostic și severitate a spectrului larg de reacție a organismului la infecții, între care scorul SOFA fiind unanim acceptat.

Pacienții cu infecții respiratorii bacteriene evoluează diferit, acest fapt fiind determinat nu numai de etiologie, dar și de complicațiile vasculare și exacerbarea unor comorbidități.

În cursul evoluției procesului inflamator se produc dereglări ale proceselor de coagulare și fibrinoliză, care evoluează frecvent în sensul unei stări de hipercoagulabilitate.

Complicațiile vasculare asociate procesului infecțios grevează evoluția pacienților, evenimentele trombotice fiind uneori fatale.

În studiul prezent am urmărit în funcție de parametrii clinici, biologici și biomarkeri inflamatori să constituim un profil de risc vascular al pacientului cu infecții respiratorii, considerând utilă anticoagularea preventivă la pacienții cu risc vascular crescut. Am încercat să corelăm testele uzuale și parametrii clinici cu valorile unor molecule cu rol de biomarkeri proinflamatori, pentru a facilita evaluarea riscului vascular/ evolutiv al pacientului la nivelul posibilităților curente de investigație clinică.

Rezultatele statistice obținute au evidențiat corectitudinea alegerii unor parametri și au făcut posibilă alcătuirea acestui profil de risc al pacientului cu infecții respiratorii bacteriene.

Din acest punct de vedere, deși nu toți pacienții au fost în stare septică (definită de criteriile menționate) am convenit ca pentru simplificarea notației, grupurile să fie definite ca sepsis fără tromboze (grup I) și sepsis cu tromboze (grup II).

Deși în lotul total au predominat pacienții de sex feminin, în grupul II a existat o predominanță net masculină (64%), fapt concordant cu criteriile de severitate ale grupului și datele statistice, pacienții de sex masculin având un prognostic potențial mai sever. În grupul I au predominat pacienții de sex feminin (60,7%).

Grupul de vârstă peste 60 ani este majoritar în ambele grupuri, explicabil prin riscul crescut de boală prezent la vârsta a treia.

Diagnosticul clinic predominant a fost pneumonia în ambele grupuri (65% și 52%) bronhopneumonia (32% și 20%) și în grupul II BPCO (20%), explicabil prin tendința la un status hipercoagulant datorat prezenței unui sindrom inflamator continuu, prezent chiar în afara exacerbărilor.

Dintre germenii implicați, exceptând cazurile în care nu au putut fi identificați (28 cazuri), în grupul I au predominat streptococul grup A (11%), streptococcus pneumoniae (14%) și germenii atipici (Mycoplasma, Legionella, Chlamidia pneumoniae). În grupul II au predominat streptococul de grup A (30%), pneumococul (22%), Klebsiella pneumoniae (10%), și ca alt germen (sau germen de însoțire–infecții polimicrobiene) E.Coli, germeni care prin prezența lor au conferit caractere de severitate bolii, necesitând o spitalizare prelungită.

Evoluția infecției bacteriene depinde de interacțiunile moleculare exercitate între microorganismul invadant și gazdă. Cu toate că este acceptat faptul că mediatorii inflamației joacă un rol central în apariția disfuncției de organ, microorganismele și derivatele acestora (PAMPs) au capacitatea de a activa căi inflamatorii specifice determinând leziuni microvasculare. E. Coli prin lipopolizaharidul endotoxină induce activare leucocitară, adeziune

și migrare leucocitară în venulele postcapilare și creșterea expresiei de adezine endotelială. *Stafilococcus aureus* prin intermediul peptidoglicanului determină prin legare de TLRs (TLR4) un răspuns inflamator primar. *Streptococcus pneumoniae* interacționează direct cu endoteliul transformând patternul antiinflamator într-unul inflamator și procoagulant, sau prin exotoxina pneumolizină să producă direct leziune endotelială și să declanșeze apoptoza. Efectele microvasculare ale pneumolizinei sunt asociate cu agresiunea vasculară pulmonară, determinând hipertensiune pulmonară și tromboze in situ.

Streptolizina O, toxină solubilă extracelulară, are un rol important în determinarea leziunilor vasculare prin coagregarea plachetelor cu neutrofilele mediată de selectina P plachetară (Legrand 2010).

În grupul II, dintre afectările vasculare trombotice au predominat sindroamele coronariene acute (30%), accidentele vasculare cerebrale (26%), tromboembolismul pulmonar (16%), evenimente trombotice severe care grevează prognosticul pacienților.

Prezența valorilor crescute ale TA anamnestice și a DZ tip II nu a fost semnificativ diferită între cele două grupuri, deși grupul II a înregistrat un procent mai mare de pacienți cu DZ tip II și valori crescute ale TA în antecedente .

Glicemia a fost crescută semnificativ statistic la pacienții din grupul II față de pacienții grupului I, posibil corelată cu inflamația mai severă, prezenței disfuncției endoteliale și a afectării microvasculare pancreatice. Fenomenul este în parte asociat cu tulburările producției de adiponectină sau de receptori ei.

Necroza adipocitelor indusă de hipoxie atrage macrofagele, care formează un sincitiu funcțional. Producția crescută la acest nivel de TNF- α și IL-6 inhibă producerea de adiponectină într-o manieră paracrină și down-reglarea sistemului adipokinic .

În literatură este evidențiat faptul că adiponectina are o acțiune antitrombotică și antiinflamatorie. Studii anterioare au evidențiat o scădere a nivelului/ activității adiponectinei în diferite procese patologice caracterizate de inflamație acută (sepsis, endotoxinemie) sau inflamație cronică (Kuwashiro 2014). La pacienții cu evoluție favorabilă a proceselor inflamatorii se întâlnește o tendință la normalizare a exprimării și activității receptorilor adiponectinei, evidența activării unui sistem de contrareglare care limitează răspunsul proinflamator.

Funcția renală a fost modificată la pacienții din grupul II (creatinină crescută și GRF scăzut) cu semnificație statistică față de pacienții din grupul I. Corelația negativă, semnificativă statistic cu nivelul VEGF sugerează un endoteliu disfuncțional, fără a se exclude și prezența la nivel microcirculator a unor modificări trombotice.

Modificări ale sistemului hematologic

Sistemul hematologic este afectat în sindromul inflamator asociat infecțiilor. Profilul hematologic (hematocrit, leucocite, trombocite) este utilizat în multiple scoruri de predicție. Se acordă o atenție deosebită indicilor plachetari, în mod particular volumului plachetar (Tajarernmuang, 2016). Creșterea VMP este sugestivă pentru creșterea producției plachetare și activării plachetelor, care au un conținut crescut de granule și material protrombotic. Studii clinice asociază un VMP crescut cu prezența evenimentelor tromboembolice (cardiovasculare și cerebrovasculare), (Tajarernmuang 2016).

Trombocitele au un rol important în trombogeneză. A fost stabilită corelația între activarea plachetară și afectarea vasculară (CAD, stroke, tromboembolism venos).

La pacienții studiați, întregul lot și în special pacienții din grupul II au prezentat o corelație pozitivă semnificativă statistic cu durata spitalizării, fapt explicabil prin gradul crescut de severitate al pacienților din grupul II. De asemenea s-a observat o corelație semnificativă statistică ($p < 0,001$) la pacienții din grupul II cu timpul de la debutul afecțiunii și momentul internării și al administrării terapiei specifice.

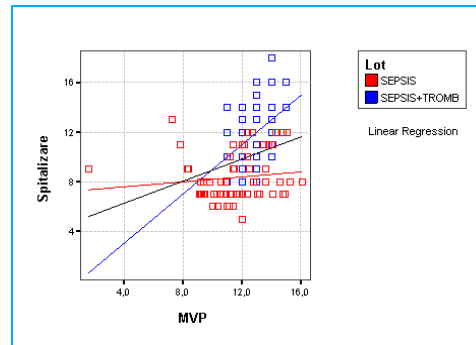
Mecanismul alterării funcției plachetare în infecții este încă neclar. În cursul activării apar modificări ale plachetelor din forma discoidă în forma sferică cu pseudopode. MVP reflectă dimensiunea medie a trombocitelor. Plachetele tinere sunt mai mari, iar un număr crescut de plachete tinere indică producție crescută plachetară posibil determinată de consumarea trombocitelor în periferie în procesele inflamatoare. Plachetele mai mari sunt funcțional, metabolic și enzimatic mai active, conținând mai mult tromboxan A₂ intracelular și proteine de suprafață procoagulante (selectina P și glicoproteina IIb/IIIa). Interacțiunile plachete /neutrofile și plachete/endoteliu facilitează multiple activări imune .

Din punct de vedere al testelor uzuale se remarcă faptul că hemoglobina nu variază semnificativ între grupuri, având valori normale (atestă caracterul acut al procesului infecțios), dar trombocitele au fost mai scăzute la pacienții din grupul II, prezentând un grad de severitate, fiind unul din criteriile de severitate și prognostic al scorului SOFA.

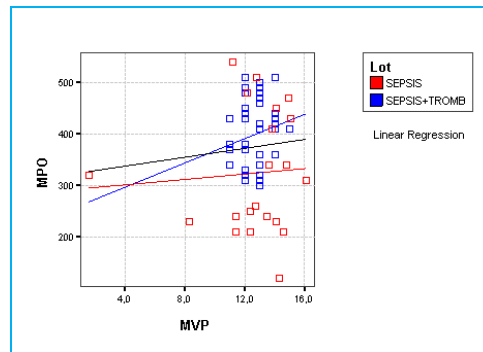
Leucocitoza periferică, cu predominanța neutrofilică a fost semnificativ crescută în grupul II ($p < 0,002$).

VMP crescut față de valorile normale în ambele grupuri și semnificativ crescut în grupul II ($p < 0,001$) și selectina P în grupul II ($P < 0,001$) corespund unei activări trombocitare importante la pacienții din grupul II, și reflectă creșterea stării procoagulante.

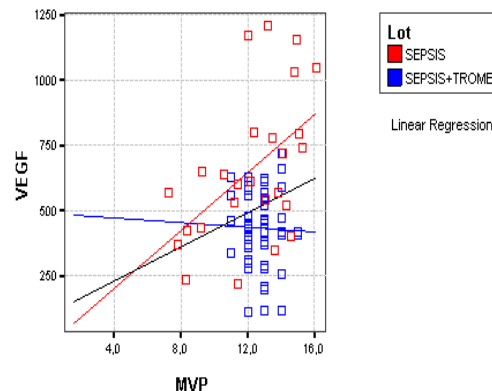
Importanța utilizării VMP ca factor de prognostic la pacienții studiați este sugerată și de corelația VMP-durata spitalizării care este pozitivă, semnificativă statistic ($R=0,423$ și $p < 0,002$).



Corelația pozitivă MPO/ VMP a fost semnificativ statistică pentru pacienții din grupul II, explicabil prin nivelul crescut de MPO la acești pacienți.



Interesantă este corelația pozitivă semnificativă statistic între VMP și VEGF la pacienții grupului I (până la un punct endoteliul se apără și contracarează acțiunile moleculelor proinflamatorii). Pacienții din grupul II au prezentat o corelație negativă aproape de semnificație statistică ceea ce se poate interpreta că în evoluție endoteliul devine disfuncțional .



Nu se poate discuta separat activitatea selectinei P de prezența trombocitelor activate și de leucocitoza periferică, populația neutrofilică fiind predominantă la pacienții din ambele grupuri. Trombocitele activate, MVP crescut, neutrofilia periferică și selectina P au fost semnificativ mai mari: semnificație statistică importantă pentru selectina P ($p < 0,001$), MVP

($p=0,001$), leucocitele periferice ($p<0,002$) la pacienții din grupul II, grup cu evoluție mai severă.

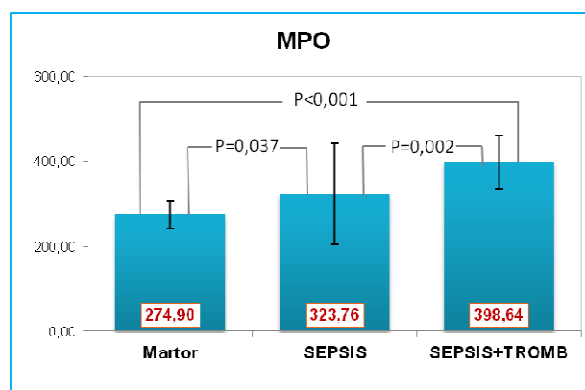
Neutrofilele sunt factorii cheie în răspunsul imun primar și adaptativ, fiind efectorii eliminării rapide a bacteriilor invadante. Neutrofilele detectează microorganismele prin receptorii de suprafață. PSLG-1 (receptorul pentru selectina P) este un ligand pentru selectinele P, E și L, cu rol important în captarea, rulara și acumularea înainte de extravazare a leucocitelor la nivelul endoteliului activat, el fiind considerat principalul receptor selectinic implicat în aceste procese.

Migrarea direcționată a leucocitelor din vas pe suprafața luminală a celulelor endoteliale microvasculare spre locul leziunii este etapa necesară a unui răspuns imun eficient. Semnalizarea extensivă între leucocitele captate și endoteliu inițiază forțe de adeziune și determină migrarea acestor celule în lungul microvasculaturii pentru căutarea locurilor de extravazare. Ulterior leucocitele se insinuează între celulele endoteliale adiacente, penetrează membrana bazală perivenulară și joncțiunile subendoteliale dintre pericite, de unde ajung la țesutul interstitial. Adeziunea și transmigrarea leucocitară se petrece la nivelul venulelor microvasculare, în zona arterială presiunea fluxului circulant împiedicând procesul.

În procesul orientării leucocitelor spre zonele de migrare transmembranară, plachetele au un rol important. Plachetele aderă la joncțiunile endoteliale în venulele microvasculaturii și captează neutrofilele prin interacții CD40-CD40L/Cd154 dependente. Plachetele și neutrofilele cooperează pentru recrutarea monocitelor inflamatorii în aceste locuri prin CD40-Cd40L/Cd154 și selectină L/selectina P. În această interacțiune celulară legarea selectinei P de PSGL-1 induce prin semnalizare ERK1/2MAPK dependentă modificări conformaționale ale integrinelor exprimate pe suprafața leucocitelor. Aceste integrine activate determină extravazarea succesivă a neutrofilelor și monocitelor inflamatorii în țesutul perivascular (Zuchtriegel 2016).

Se remarcă fenomenele complexe intercelulare, care nu pot fi dissociate în cursul proceselor inflamatoare. Leucocitoza cu predominanță neutrofilică în infecții, în afara rolului important în inițierea răspunsului gazdei la patogen, este implicată în modificările complexe care au loc la nivelul microcirculației și pot avea un rol favorizant al coagulării. Neutrofilele contribuie la formarea trombusului, capcanele neutrofilice constituind un suport pentru formarea trombusului în zona venoasă a microcirculației și agravarea hipoxiei tisulare la acest nivel.

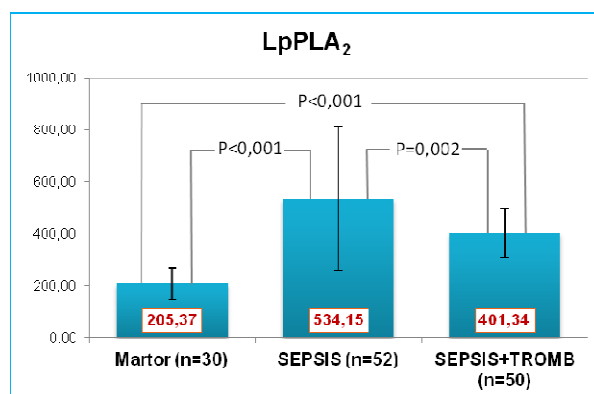
Alt aspect al prezenței neutrofilice accentuate este reflectat de activitatea MPO, care este crescută în ambele grupe comparativ cu normalii. Această activitate este semnificativ statistic mai mare ($p<0,001$) la pacienții din grupul II comparativ cu normalii și cu pacienții din grupul I.



Mieloperoxidaza (MPO) eliberată de leucocitele activate, activează plachetele prin reorganizarea citoscheletului, cu creșterea elasticității plachetare, crește concentrația Ca^{2+} intracelular, favorizând agregabilitatea plachetară. Prin asociere cu integrinele activează leucocitele neutrofile, permițând prin expunerea de molecule de adeziune legarea fibrinogenului din ser, care este principalul ligand al glicoproteinei IIb/IIIa de pe suprafața trombocitelor. Se formează astfel un agregat plachetar stabil, care reprezintă una din căile de formare a trombilor în microcirculație și care reprezintă o legătură între inflamație și coagulare.

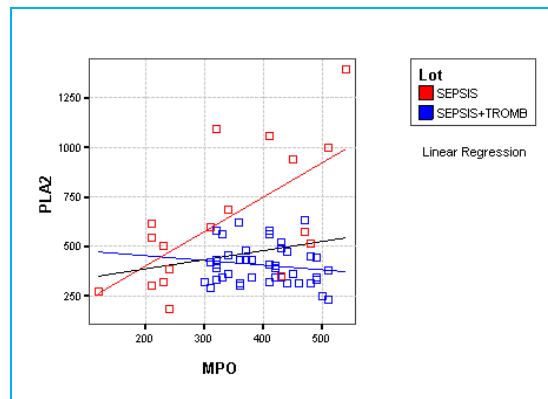
MPO mărește inflamația și disfuncția endotelială prin inducerea apoptozei celulelor endoteliale, care are între rezultate expunerea suprafeței subendoteliale (o cale de activare a coagulării) și diseminarea inflamației și a condițiilor procoagulante prin microparticule endoteliale circulante. MPO a prezentat valori crescute la toți pacienții comparativ cu lotul martor, cele mai mari valori la lotul II.

Referitor la **LpPLA₂**, marker al inflamației vasculare recunoscut, valorile au fost crescute la toți pacienții comparativ cu martorii. Pacienții din grupul I prezintă o activitate a LpPLA₂, semnificativ crescută față de grupul II ($p=0.002$).



Creșterea activității LpPLA₂ în procesul inflamator asociat infecției este în concordanță cu datele din literatura, LpPLA₂ fiind un marker predictiv de risc inflamator vascular. LpPLA₂ prezintă o corelație pozitivă, statistic semnificativă cu MPO la pacienții grupului I ($R=0.654$;

$p=0,003$) și o corelație negativă, aproape semnificativ statistică la pacienții grupului II ($R=-0,158$; $p=0,301$), ceea ce poate fi explicat prin disfuncția endotelială mai severă, prezentă în diferite grade de severitate la pacienții grupului II.

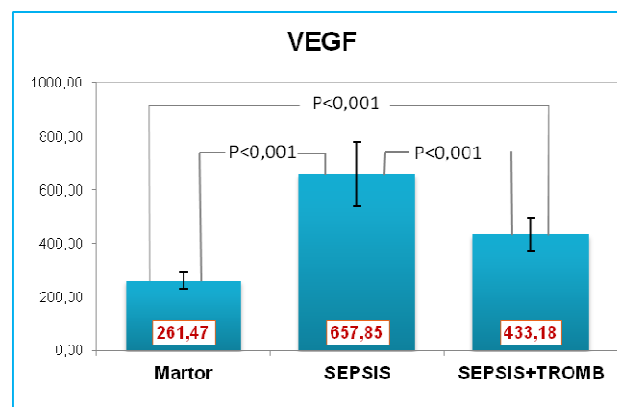


La grupul I creșterea LpPLA2 este corelată pozitiv, semnificativ statistic cu valoarea MPO ($R=0,654$ $p=0,003$) și nesemnificativ cu a VEGF ($R=0,021$; $p=0,920$).

În condiții de infecții pulmonare, VEGF crescut și mediul inflamator al structurilor pulmonare (în principal al epiteliului cailor aeriene) poate up-regla producția de LpPLA2 care este principalul generator de lisofosfatidil colina, mult crescută în ser și în secrețiile endobronșice. La pacienții din grupul II, severitatea procesului infecțios/ inflamator ar fi presupus o valoare crescută a LpPLA2, fapt care nu a fost evidențiat.

Contrar așteptărilor, valoarea LpPLA2 este redusă comparativ cu grupul I, corelându-se semnificativ statistic (corelație negativă) cu valoarea troponinei, și în relație cu VEGF scăzut și MPO crescută.

VEGF este crescut la toți pacienții comparativ cu normalii, cea mai crescută valoare înregistrându-se la Grupa I.

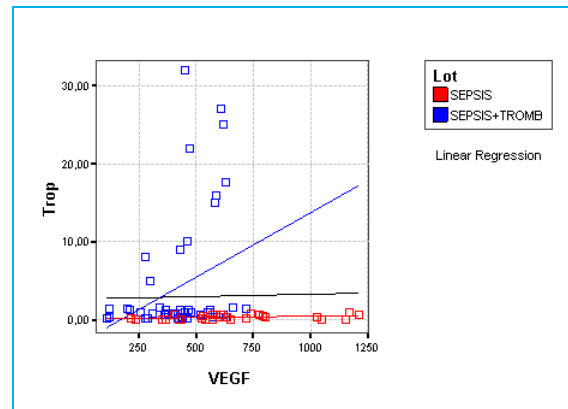


Explicația este că în afecțiunile pulmonare severe, VEGF scade ca urmare a disfuncției endoteliale severe și a epuizării mecanismelor reparatorii. În stările septice, VEGF este scăzut la categoria de pacienți care nu supraviețuiesc, fără a constitui un factor de predicție absolut. În

infecții severe, crește expresia VEGFR-1, dar nivele mult crescute ale acestui receptor sunt nocive, alterând/ blocând semnalizarea VEGF mediată în monocite, interferând cu repararea endoteliului.

O altă explicație posibilă ar fi comportamentul LpPLA2 în dinamică în sindroamele coronariene acute. Este atestată valoarea LpPLA2 ca factor prognostic pentru risc vascular, dar dinamica acesteia în SCA nu este clar stabilită. Studii făcute în acest sens semnalează că în cursul instalării/evoluției SCA, valoarea LpPLA2 scade semnificativ, această scădere putând fi explicată și de tratamentul asociat tratamentului specific pentru SCA sau stroke (anticoagulante, IECA, statine în doză mare) (Ostadal 2012).

Pacienții din grupul II prezintă un nivel al troponinei ridicat, semnificativ crescut față de grupul I ($p < 0,001$), perfect explicabil, troponina fiind în algoritmul diagnostic al sindroamelor coronariene acute (luând în considerare valoarea peste un anumit nivel, starea septică și datele ECG și ecografice).

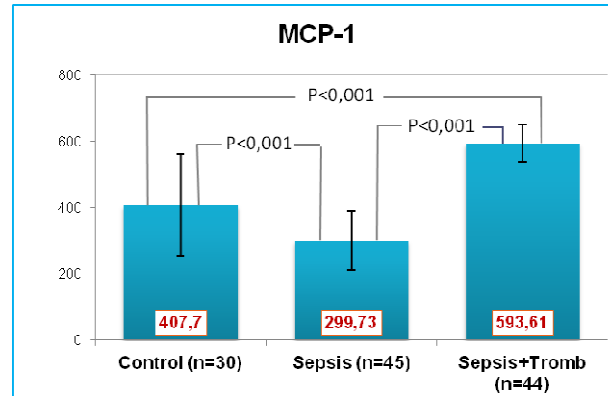


A fost evidențiată o corelație negativă, statistic semnificativă între valoarea VEGF și valoarea troponinei ($p=0,030$; $R=-0,306$) importantă pentru disfuncționalitatea endoteliului coronarian, ca primă etapă în apariția și evoluția sindroamelor coronariene acute. Nivelul troponinei serice poate fi un predictor de mortalitate în stările septice.

Studii prezente având ca obiectiv afectarea cardiacă în context infecțios a valorilor, evidențiază importanța, legată și de vârstă a valorilor **MCP-1**.

În context infecțios, MCP-1 în afara implicării directe în procesul inflamator, are un rol important în afectarea miocardică. Starea septică determină un răspuns inflamator intramiocardic, care rezultă în final în funcție ventriculară sistolică și diastolică diminuată progresiv, în special la pacienții de vârstă a treia. Pacienții din grupul II au prezentat valori semnificativ crescute ale MCP-1 ($p < 0,001$ $R=0,8$), ceea ce indică acest biomarker ca un parametru sensibil la evenimente trombotice. MCP-1 favorizează acumularea celulelor

mononucleare și producția de citokine cardiodepresante, cardiomiocitele exprimând TLRs pentru o multitudine de citokine inflamatorii.



Proteina C reactivă – reactant de fază acută important și utilizat în mod curent ca apreciere a evoluției sindromului inflamator –a fost semnificativ crescută la ambele grupuri de pacienți, dar cu diferențe semnificativ statistic la grupul II față de grupul I ($p < 0,001$).

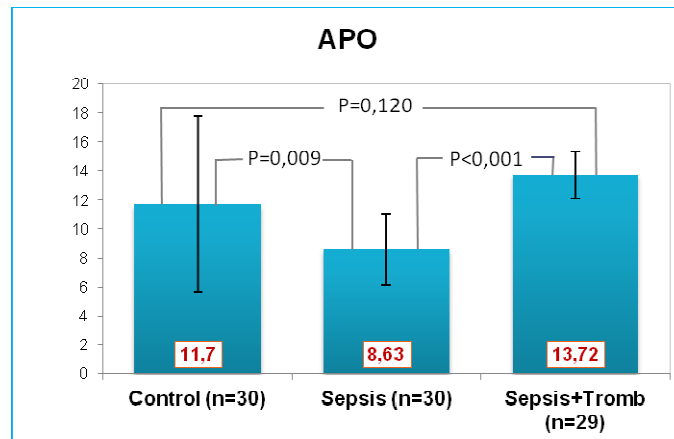
Asociată unor efecte benefice (activarea sistemului complementului, scăderea producției de adezine) în contact cu endoteliul vascular PCR activează NFkB și induce exprimarea unor gene pentru proteine proinflamatorii (IL-8, fibronectina, PAI-1), favorizând evenimentele trombotice.

PCR constituie una din căile de legătură între inflamație și coagulare în infecții. PCR determină o stare pretrombotică prin stimularea producției și eliberării factorului tisular din monocite, celule endoteliale și celule musculare netede. PCR modulează activitatea NO-sintetazei, scăzând producția endotelială de NO, scade capacitatea antioxidantă a celulelor endoteliale, crește exprimarea receptorilor pentru produșii de glicare (RAGE) și contribuie la intensificarea apoptozei celulelor endoteliale. Prezența PCR la nivelul microparticulelor endoteliale și trombocitare circulante a arătat importanța ei în extinderea procesului inflamator și a afectării endoteliale la distanță.

PCR este considerată un indicator prognostic al afecțiunilor cardiovasculare, aterotromboza coronară și cerebrală fiind considerată afecțiune determinată de inflamație, imunitate primară și ateromatoză. Este posibil ca pe termen lung pacienții cu afecțiuni infecțioase severe și repetitive să acumuleze risc vascular important pentru ateroscleroză accelerată, arteriopatie periferică, afectare coronariană și cerebrală ischemică.

Adiponectina Nivelul adiponectinei se păstrează în limite normale la ambele grupuri de pacienți, cu valori mai crescute la pacienții din grupul II, corelându-se cu aspectele inflamatorii mai crescute la acest grup (PCR crescut, neutrofilie periferică importantă).

În stările septice nivelul adiponectinei scade în evoluție, având un rol de marker de prognostic sever (Leuwer 2009). Deși în limite normale, nivelul mai crescut al adiponectinei la pacienții din grupul II, poate fi datorat afectării funcției renale și disfuncției endoteliale mai severe evidențiată prin VEGF scăzut (Gao 2015). Nu se poate preciza dacă perturbarea sistemului adiponectinic este rezultatul unei afecțiuni inflamatorii severe sau dacă nivelul scăzut al adiponectinei determină severitatea inflamației. Concentrația serică a APO este corelată invers cu severitatea afecțiunii.



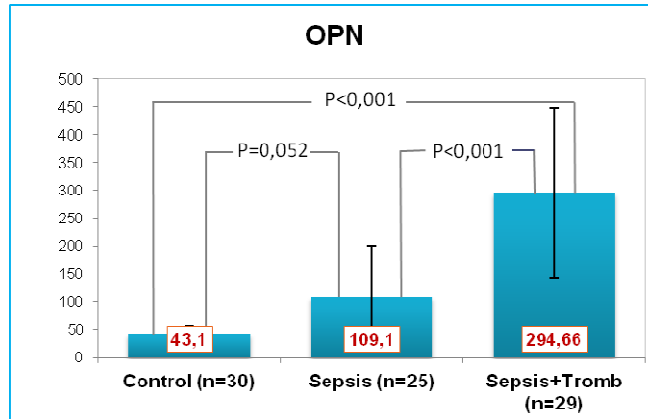
Date din literatură arată că hipoadiponectinemie este asociată cu disfuncție endotelială, hiperglicemie și hipertrigliceridemie. În infecții a fost evidențiată și o downreglare a receptorilor adiponectinei la nivel hepatic, musculatură striată, țesut adipos, ceea ce contribuie la rezistența la insulină și hiperglicemie, aspecte frecvent întâlnite în procesele inflamatorii acute.

Osteopontina, proteină de matrice celulară este implicată în afecțiunile inflamatorii, mediind răspunsuri imune de tip Th-1 și constituind substrat pentru trombină și metaloproteinaze. În acest fel ea agravează starea de hipercoagulare prin expunerea țesutului subendotelial. În lotul pacienților studiați, osteopontina a prezentat la ambele loturi valori crescute față de normal. Valorile au fost semnificativ statistic crescute în grupul II, corelându-se cu severitatea sindromului inflamator prezent la acești pacienți.

Rezultatele obținute sunt susținute de datele din literatură și validează prezența OPN în panelul de biomarkeri pe care l-am propus pentru evaluarea stării procoagulante a pacienților cu infecții bacteriene pulmonare și pentru aprecierea riscului vascular.

În condiții bazale OPN este sintetizată de diferite țesuturi variate: osteocite, fibroblaști, celule musculare netede și celule endoteliale. În sistemul imunitar este exprimată de macrofage, neutrofile, celule dendritice, celule NK, limfocite T și B. Având capacitatea de a interacționa cu o multitudine de receptori, OPN este implicată în procese patologice variate. În procesele inflamatorii secundare infecțiilor OPN are un rol important în chemotaxie, recrutarea

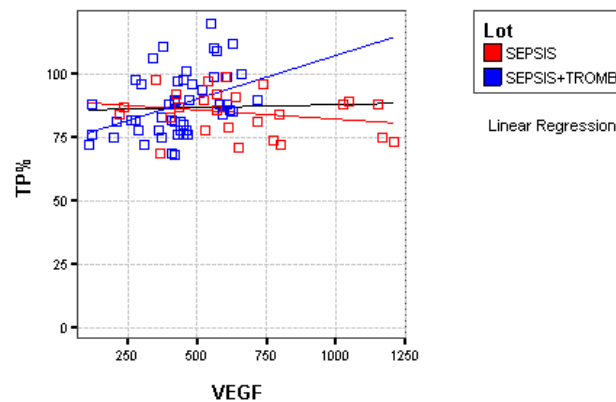
neutrofilelor și macrofagelor. Modulează răspunsul imun în direcții diferite, putând acționa proinflamator și în unele condiții antiinflamator.



OPN este atestată ca marker pentru pacientul critic, nivele persistent crescute de OPN asociindu-se cu un prognostic rezervat, corelându-se cu nivelul markerilor inflamatori și insuficiență multiplă de organ.

Valorile unor **teste de coagulare uzuale** (TP și APTT) au fost situate bazal în limite normale. În condițiile prezenței trombozelor vasculare tratamentul anticoagulant administrat, în general HGMM, nu a modificat aceste teste.

La pacienții din grupul II atât **TP%** cât și VEGF au prezentat valori scăzute, corelația dintre ele fiind semnificativă statistic ($p=0,003$; $R=0,406$), având ca semnificație începutul unei disfuncții de organ (hepatic) +/- influența medicației (?) (antibiotice, statine).



APTT corelat cu VEGF prezintă în ambele grupuri o relație pozitivă, nesemnificativă statistic. APTT evaluează funcția fibrinogenului, protrombinei, Fv, FVIII, FX, FXI, FXII, în cascada coagulării activată pe cale intrinsecă, posibil activată în stările septice de expunerea fibrelor de collagen subendoteliale, prin acțiunea activităților crescute ale MMP și MPO. La subiecții normali, calea intrinsecă a coagulării nu este activată, dar în condițiile unor procese

infecțioase/inflamatorii devine posibilă activarea acesteia. Inițial pacienții prezintă VEGF crescut în primele zile, asociat stării inflamatorii, cu efecte pozitive și altele distructive pentru endoteliu.

Determinarea **proteinei C** a coagulării la un număr de pacienți a evidențiat valori între 66-68%, explicabile în condiții de sindrom infecțios, dar situate la limita inferioară a valorilor normale (70-100%).

Troponina. Valorile troponinei serice cresc în stările septice și valorile crescute mult au o valoare prognostică. Pacienții din lotul 2 au avut o valoare medie de 4,96 ng/L comparativ cu cei din lotul 1 (0,33 ng/L), diferența fiind semnificativă statistic ($p < 0,001$).

Anticorpii antifosfolipidici anti-cardiolipină, lupus anticoagulant și anti-beta2glicoproteina) au avut valori în limitele normale, cu excepția LAC care a fost pozitiv (valoare medie $> 1,4$), mai intens la pacienții din grupul II (medie 1,73, semnificativ statistic moderat $p = 0,036$). Este atestată prezența /aparitia în condiții infecțioase de anticorpi tip anticoagulant lupic, asociat mai frecvent cu evenimentele trombotice venoase, care pot determina accidente vasculare cerebrale și evenimente severe de tipul tromboembolismului pulmonar. Se afirmă prezența continuă a acestor anticorpi, titrul lor putând crește în condiții variate (infecții, stress, imobilizare) cu determinarea unor tromboze vasculare la distanță în timp.

CONCLUZII

1. Infecțiile respiratorii au spectru larg de manifestări, de la infecție rezolutivă, la stare septică și șoc septic. Ele determină un sindrom inflamator care rezultă din interacțiunea gazdei și a patogenului microbial și care este frecvent asociat cu alterări ale microcirculației. Activarea coagulării este o caracteristică importantă a stărilor infecțioase, răspunsul inflamator activând factorii tisulari, la nivel monocitar și endotelial, generare intravasculară de trombină, depleție de factori anticoagulanți și alterări ale sistemului fibrinolitic.
2. Severitatea răspunsului pacientului la agresiunea bacteriană este determinată și de tipul de bacterie care generează procesul infecțios, sau infecții polimicrobiene. Pacienții studiați au prezentat diferențe în timpul de spitalizare, corelate semnificativ cu tipul de germeni, (Piocianic, Streptococ, Atipici, Haemophilus), dar nu au apărut diferențe semnificative între cele două grupuri de pacienți.
3. O importanță la fel de mare în evoluția procesului infecțios/inflamator o au factorii care depind de gazdă. Nu au fost evidențiate corelații statistice semnificative statistic între tipul

germenilor și molecule speciale testate (MPO, LpPLA2, OPN, APO, VEGF, selectina P, sCD40L), ceea ce sugerează că în evoluția afecțiunii factorii gazdei sunt mai importanți comparativ cu agresivitatea bacteriană.

4. Internarea și măsurile terapeutice precoce au importanță pentru evoluția afecțiunii, întârzierea internării și implicit a administrării terapiei specifice a fost corelată cu severitatea evoluției. Pacienții din grupul II au fost internați și au primit terapie specifică mai târziu decât cei din grupul I.
5. Spitalizarea prelungită este determinată de tipul germenilor, sindromul inflamator crescut, administrarea târzie (peste 48 ore) a terapiei și de agravarea comorbidităților.
6. Vârsta pacientului este unul din factorii care pot influența evoluția procesului infecțios, prin dereglări ale proceselor imunomodulatoare și prin prezența unor comorbidități, care sunt exacerbate de răspunsul la stressul inflamator.
7. Scăderea funcției renale (frecvent tranzitorie) este asociată cu markeri inflamatorii și markeri ai disfuncției endoteliale, posibil și cu modificări microcirculatorii.
8. Modificările glicemiei în ambele sensuri, mai frecvent hiperglicemie este un criteriu de severitate cu semnificație statistică. Legătura poate fi în ambele sensuri: –sindrom inflamator/ infecțios ► hiperglicemie ► tromboză sau în sensul hiperglicemie ► amplificare sindrom inflamator ► tromboză, prin creșterea stressului oxidativ și a disfuncției endoteliale.
9. Afectarea sistemului hematologic apare frecvent în infecțiile respiratorii, influențează evoluția pacientului și are importanță prognostică apreciată prin gradul neutrofiliei periferice și comportamentul trombocitelor. Leucocitoza cu predominanță neutrofilică, în afara rolului important în inițierea răspunsului imun la agresiunea microbiană, este implicată în modificările complexe care au loc la nivelul microcirculației și pot avea un rol favorizant al coagulării. Neutrofilele contribuie la formarea trombusului, capcanele neutrofilice constituind un suport pentru formarea trombusului în zona venoasă a microcirculației și agravarea hipoxiei tisulare la acest nivel.
10. Trombocitele periferice pot fi modificate în ambele sensuri asociat sindromului inflamator, dar este importantă predominanța formelor tinere, cu volum crescut, active enzimatic și metabolic, care posedă numeroși receptori de suprafață implicați într-o multitudine de reacții intercelulare. Rolul plachetelor nu este limitat doar la procesele coagulării, ci și în orientarea leucocitelor spre zonele de migrare transmembranară.

11. MVP crescut în cursul procesului infecțios/ inflamator poate fi un predictor de evoluție și de evenimente vasculare, corelându-se cu evenimentele trombotice vasculare. MVP este disponibil în metodele curente de determinare a profilului hematologic și este cost eficient pentru a fi utilizat ca un marker de prognostic la pacientul critic.
12. Între markerii inflamatori, valorile crescute ale MPO, OPN, MCP-1 sunt corelate cu severitatea procesului infecțios.
13. LpPLA2 se comportă diferit în evoluția infecției pulmonare, în funcție de severitatea procesului infecțios/ inflamator, a disfuncției endoteliale și a prezenței evenimentelor trombotice venoase sau arteriale și posibil de tratamentul specific al acestor evenimente trombotice.
14. Comportamentul LpPLA2 este direct corelat cu nivelul VEGF, factor care exprimă integritatea endoteliului și funcționalitatea proceselor reparatorii ale acestuia, nivelul scăzut al VEGF și al receptorilor acestuia fiind considerați markeri de prognostic sever în procesele infecțioase .
15. PCR are importanță nu doar ca predictor și factor de monitorizare a procesului inflamator, ea reprezentând legătură majoră între inflamație și coagulare, sau ca predictor de evenimente vasculare obstructive, fiind corelată cu agresivitatea răspunsului inflamator la patogen, dar și în diseminarea procesului inflamator la distanță, prin prezența pe microparticulele endoteliale și plachetare .
16. Infecțiile pulmonare sunt asociate cu afectare cardiacă (miocardică și coronariană) prin magnitudinea procesului inflamator, în particular prin nivelul crescut de MCP-1, în special la categorii de vârstă înaintată, favorizând producția de citokine cardiodepresante și prin disfuncția endotelială progresiv severă, evidențiată prin VEGF scăzut.
17. Osteopontina este semnificativ crescută în infecții respiratorii, reprezentând un marker de prognostic sever.
18. BOPC, în special prin exacerbările bacteriene constituie un proces inflamator continuu cu grade variate de activitate, asociat cu procesul de remodelare a căilor respiratorii și a structurilor vasculare pulmonare, și cu existența stării de hipercoagulabilitate.
19. Anticoagulantul lupic, prezent la un procent important din pacienții cu infecții respiratorii reprezintă un factor de risc pentru evenimentele severe vasculare imediate sau la distanță de momentul infecțios.

20. Procesul infecțios pulmonar, prin agresiunile endoteliale, intensitatea sindromului inflamator și starea de hipercoagulabilitate, după remisia procesului infecțios, poate reprezenta în evoluție rolul unui inductor al aterogenezei cu manifestări vasculare periferice, cerebrale și coronariene.
21. APTT modificat poate semnifica activarea coagulării pe cale intrinsecă în condițiile unor procese infecțioase/ inflamatorii.
22. În funcție de datele obținute, în acord cu scorurile de severitate atestate, se poate alcătui un scor de risc vascular al pacientului cu infecții respiratorii: vârsta peste 60 ani, multiple comorbidități, infecții bacteriene cu germeni gram pozitiv/gram negativi sau polimicrobiene, leucocitoză periferică, VMP crescut, PCR crescut (evaluare dinamică de preferință), MPO, MCP-1, OPN crescute, și LpPLA2 și VEGF scăzute, însoțite de prezența LAC.
23. În mod curent, având posibilitatea efectuării imediate de teste uzuale de laborator prognosticul sever poate fi sugerat de neutrofilie periferică, variații în ambele sensuri ale plachetelor cu VMP crescut, PCR crescut, care sunt predictorii de severitate crescută și devin importanți pentru măsuri terapeutice imediate și complexe, astfel putând scădea mortalitatea și durata de spitalizare a pacienților cu infecții respiratorii.
24. Monitorizarea troponinei, marker al lezării miocardice, contribuie la monitorizarea implicării miocardice în sepsis prin metode noninvazive.
25. Testele uzuale efectuate în dinamică la interval de 3 zile și 7 zile de la internare pot direcționa îngrijirea pacientului în ATI sau în secția obișnuită, scăzând costurile spitalizării.
26. Din analiza rezultatelor rezultă importanța tratamentului anticoagulant preventiv inițiat la momentul internării la categoria de pacienți cu risc vascular crescut, asociat terapiei specifice și suportive.

Abrevieri

ACLA = anticorpi anticardiolipină	LDL = low density lipoproteins
Adipo-R1 = adiponectin Receptor 1	LpPLA2 = fosfolipaza A2 asociată LDL
Adipo-R2 = adiponectin Receptor 2	LPS = lipopolizaharid
ADP = adenozin difosfat	MCP = monocyte chemoattractant protein
AMP = adenozin monofosfat	MCP-1 = monocyte chemoattractant protein 1
AMP = adezonin monofosfat	MIP = macrophage inflammatory protein
ANOVA = analiza variantei	mmHG = milimetri coloana de mercur
APLA = anticorpi antifosfolipidici	MMP = matrix metalo-proteinaza
APO = adiponectină	MPO = mieloperoxidaza
APTT = timp parțial de tromboplastină activat	NFkB = factorul nuclear kB
ARDS = sindrom de detresă respiratorie acută	NO = oxid nitric
ATI = anestezie terapie intensivă	OMS = organizația mondială a sănătății
ATP = adenozin trifosfat	OMV = vezicule externe membranare
AVC = accident vascular cerebral	OPN = osteopontina
BPOC = bronhopneumopatie obstructivă cronică	paCO2 = presiunea arterială a bioxidului de carbon
CD-40 L = cluster of designation 40 ligand	PAI = plasminogen activator inhibitors
CID = coagulare intravasculară diseminată	paO2 = presiunea arterială a oxigenului
CT = computer tomograf	PC = proteina C
DAMP = damage associated molecular patterns	PCR = proteina C recativă
DZ = diabet zaharat	PDF = produsii de degradare ai fibrinei
E coli = Escherichia coli	PECAM-1 = platelet and endothelial cell adhesion molecule
ECG = electrocardiogramă	PEF = expiratory peak flow
EPCR = receptorii endoteliali ai proteinei C	PI-3 kinase-AkT-fosfoinozitol 3 kinaza Akt
FBG=fibrinogen	PPAR = peroxisome proliferator activated receptors
FEV1 = forced expiratory volume	PSGL-1 = P-selectin glycoprotein ligand-1
FRM = fibrin related markers	PT = timp de protrombină
FT = factor tisular	PTT = timp parțial de tromboplastină
FVC = forced vital capacity	ROC = receiver Operating Characteristic
GOLD = Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease	SCA = sindrom coronarian acut
Hb = hemoglobina	SIRS = sindromul răspunsului inflamator sistemic
HMWK = kininogen cu greutate moleculară mare	SLPI = secretory leucocyte protease inhibitor
HR = heart rate	SOFA = sequential organ failure assesment
HTA = hipertensiune arterială	SPCS-1 = signal peptidase complex subunit 1
IC = insuficiența cardiacă	TA = tensiunea arterială
ICAM = intercellular adhesion molecule	TEP = trombembolism pulmonar
IgA = imunoglobulina A	Th = T helper
Il-1 = interleukina 1	TLR = Toll like receptors
IL-2 = interleukina 2	TNF = tumor necrosis factor
IL-6 = interleukina 6	tPA = activatorul de plasminogen tisular
IL-8 = interleukina 8	TS = timpul de sângerare
IL-10 = interleukina 10	VCAM = vascular cell adhesion molecules
IMC = indice de masă corporală	VD = ventricul drept
IMO = insuficiență multiplă de organe	VEGF = vascular endothelial growth factor
INF = interferon	VEMS = volumul expirator maxim pe secundă
INOS = sintaza inductibilă a oxidului nitric	VMP = volumul mediu plachetar
INR = international normalized ratio	VS = ventriculul stâng
IRA = insuficiență respiratorie acută	VSH = viteza de sedimentare a hematiilor
LAC = anticoagulant lupic	

Bibliografie

1. Aranda D, Wang Z, Yu B, Suresh MV, Notter RH, Raghavendran K. Increased phospholipase A2 and lysophosphatidylcholine levels are associated with surfactant dysfunction in lung contusion injury in mice. *Acta Pharmacol Sin* 2003;24(12):1292-6.
2. Assad AN, Sood A. Leptin, adiponectin and pulmonary diseases. *Biochimie* 2012;94(10):2180-9.
3. Buchmann R, Hasilik A, van Dyke TE, Lange DE. Amplified crevicular leucocyte activity in aggressive periodontal disease. *J Dent Res* 2002;81:716-21.
4. Canavese M, Dottorini T, Crisanti A. VEGF and LPS synergistically silence inflammatory response to *Plasmodium berghei* infection and protect against cerebral malaria- *Pathol Glob Health* 2015;109(6):255-65.
5. Carestia A, Kaufman T, Rivadeneyra L, Landoni V, Pozner R, Negrotto S, D Atri LP, Gomez RM, Schattner M. Mediators and molecular pathways involved in the regulation of neutrophil extracellular trap formation mediated by activated platelets. *J Leukoc Biol* 2016;99(1):153-62.
6. Cho WH, Yeo HJ, Yoon SH, Lee SE, Jeon DS, Kim YS, Lee SJ, Jo EJ, Mok JH, Kim MH, Kim KU, Lee K, Park HK, Lee MK. Lysophosphatidylcholine as a prognostic marker in community acquired pneumonia requiring hospitalization: a pilot study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015;34(2):309-15.
7. Chu X, Wei X, Lu S, He P. Autotaxin –LPA receptor axis in the pathogenesis of lung disease. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(10):17117-22.
8. Cilloniz C, Civljak R, Nicolini A, Torres A. Polymicrobial community –acquired pneumonia, an emerging entity. *Respirology* 2015;21(1):65-75. doi:10.1111/resp.12663.
9. Deshmane SL, Sergey Kremlev, Shohreh Amini, Bassel E Sawaya- Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *J Interferon Cytokine Res* 2009;29(6):313-26.
10. Fu X, Kassim SY, Parks WC, Heinecke JW. Hypochlorous acid generated by myeloperoxidase modifies adjacent tryptophan and glycine residues in the catalytic domain of matrix metalloproteinase-7 (Matrilysin): an oxidative mechanism for restraining proteolytic activity during inflammation. *J Biol Chem* 2003;278(31): 28403-9.
11. Gando S, Nazaki S, Sasaki S, Aoi K, Kemmotzu O. Activation of the extrinsic coagulation pathway in patients with severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 1998;26(12):2005-9.
12. Gao QR, Zheng JH, Yao, XD, Peng, B. Adiponectin inhibits VEGF-A in prostate cancer cells. *Tumor Biology* 2015;36(6):4287-92.
13. Garcia P, Sood A. Adiponectin in pulmonary disease and critically ill patients. *Curr Med Chem* 2012;19(32):5493-500.
14. Goncalvez I, Edsfeldt A, Ko NY, Grufman H, Berg K, Bjorkbacka H, Nitulescu M, Persson A, Nillson M, Prehn C, Adamski J, Milsso. Evidence supporting a key role of Lp-PLA2 generated lysophosphatidylcholine in human atherosclerotic plaque inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32(6):1505-12.
15. Gorudko IV, Sokolov AV, Shamova EV, Grudinina NA, Drozd ES, Shishlo LM, Grigorieva DV, Bushuk SB, Bushuk BA, Chiznik SA, Chherenkevich SN, Vasilyev VB, Panasenko OM. Myeloperoxidase modulates human platelet aggregation via actin cytoskeleton reorganization and store-operated calcium entry. *Biol open* 2013;2(9):916-23.
16. Hall A, Leuwer M, Trayhurn P, Welters ID. Lipopolysaccharide induces a downregulation of adiponectin receptors in vitro and in vivo. *Peer J* 2015;3:e1428. doi:10.7717/peerj.1428.
17. Hu Y, Shihab T, Zhou S, Wooding K, Mechref Y. LC–MS/MS of permethylated N-glycans derived from model and human blood serum glycoproteins. *Electrophoresis- Glycomics and Glycoproteomics* 2016;37(11):1498–505.
18. Ishiguro T, Takayanagi N, Yamaguchi S, Yamakawa H, Nakamoto K, Takaku Y, Miyahara Y, Kagiya N, Kurashima K, Yanagisawa T, Sugiyama Y. Etiology and factors contributing to the severity and mortality of community-acquired pneumonia. *Intern Med* 2013;52(3):317-24

19. Karampitsakos T, Gourgoulisanis KI. Asthma –COPD Overlap syndrome (ACOS); Single disease entity or not? Could exhaled nitric oxide be a useful biomarker for the differentiation of ACOS, asthma and COPD. *Med Hypotheses* 2016;91:20-3.
20. Karlson S, Pettila V, Tenhunen J, Lund V, Hovilehto S, Ruokonen E. Vascular endothelial growth factor in severe sepsis and septic shock. *Anesth Analg* 2008;106(6):1820-6.
21. Ko Yp, Flick MJ. Fibrinogen is at interface of host defense and pathogen virulence in staphylococcus aureus infection. *Semin Thromb Hemost* 2016;42(4):408-21.
22. Kosaka T, Yamaguchi M, Soda Y, Kishimoto T, Tago A, Toyosato M, Mizuno K. Spectrophotometric assay for serum platelet- activating factor acetylhydrolase activity. *Clin Chim Acta* 2000;296(1-2):151-6.
23. Kuwashiro T, Ago T, Kamouchi M, Matsuo R, Hata J, Kuroda J, Fukuda K, Sugimori H, Fukuhara M, Awano H, Ismoura T, Suzuki K, Yasaka M, Okada Y, Kiyohara Y, Kitazono T. Significance of plasma adiponectin for diagnosis, neurological severity and functional outcome in ischemic stroke-research for biomarkers in ischemic stroke. *Metabolism* 2014;63(9):1093-103.
24. Legrand M, Klijn E, Payen D, Ince C. The response of the host microcirculation to bacterial sepsis: does the pathogen matter? *Journal of Molecular Medicine* 2010;88:127-33.
25. Leuwer M, Welters I, Marx G, Rushton A, Bao H, Hunter L, Trayhurn P. Endotoxaemia leads to major increases in inflammatory adipokine gene expression in white adipose tissue of mice. *European Journal of Physiology* 2009;457:731-41.
26. Lin SM, Chung FT, Kuo CH, Chou PC, Wang TY, Chang PJ, Lo YL, Huang CD, Lin HC, Wang CH. Circulating angiopoietin-1 correlates with the clinical course of multiple organ dysfunction syndrome and mortality in patients with severe sepsis. *Medicine* 2015;94(20):e878. doi:10.1097/MD.0000000000000878.
27. Mannino DM, Tal- Singer R, Lomas D, Vestibo J, Graham Barr R, Tetzlaff K, Lowings M, Rennard SI, Snyder J, Goldman M, Martin UJ, Merrill D, Martin AL, Simeone JC, Fahrback K, Murphy B, Leidy N, Miller B. Plasma fibrinogen as a biomarker for mortality and hospitalized exacerbations in people with COPD. *Chronic Obstr Pulm Dis* 2015;2(1):23-34.
28. Miller BE, Tal Singer R, Rennard SI, Furtwaengler A, Leidy N, Lowings M, Martin TR, Merrill DD, Snyder J, Walsh J, Mannino DM. Plasma fibrinogen qualification as a drug development tool in chronic obstructive pulmonary disease biomarker qualification consortium. *Am J Respir Crit Care Med* 2016;193(6):607-13.
29. Pahlman L, Jogi A, Gram M, Mori M, Egesten A. Hypoxia down regulates expression of secretory leucocyte protease inhibitor in bronchial epithelial cells via TGF- β 1. *BMC Pulm Med* 2015;15:19. doi:10.1186/s12890-015-0016-0.
30. Park JY, Park S, Park SY, Sim YS, Kim JH, Hwang YI, Jang SH, Jung KS. Day 3 versus day 1 disseminated intravascular coagulation score among sepsis patients: a prospective observational study. *Anaesth Intensive Care* 2016;44(1):57-64.
31. Pokharel Y, Sun W, Polfus LM, Folsom AR, Heiss G, Sharett AR, Boerwinkle E, Ballantyne CM, Hoogeveen RC. Lipoprotein associated phospholipase A2 activity, apolipoprotein C3 loss of function variants and cardiovascular disease: the Atherosclerosis Risk In Communities Study. *Atherosclerosis* 2015;241(2):641-8.
32. Rahman M, Zhang S, Chew M, Syk I, Jeppson B, Thorlacius H. Platelet shedding of CD 40 L is regulated by matrix metalloproteinase -9 in abdominal sepsis. *J Thromb Haemost* 2013;11(7):1385-98.
33. Robinson K, Prins J, Venkatesh B. Clinical review; Adiponectin Biology and its role in inflammation and critical illness. *Crit Care* 2011;15(2):221
34. Rodriguez SF, Granger DN. Blood cells and endothelial barrier function. *Tissue barriers* 2015;3:1-2.
35. Roos AB, Sethi S, Nikota J, Wrona CT, Dorrington MG, Sanden C, Bauer CM, Shen P, Bowdish D, Stevenson CS, Erjefalt JS, Stampfli MR. IL-17 and the promotion of neutrophilia in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2015;192(4):428-37.
36. Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, Colucci M. Sepsis, thrombosis and organ dysfunction. *Thromb Res* 2012;129(3):290-5.
37. Sharan H. Aerobic bacteriological study of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Diagn Res* 2015;9(8). doi: 10.7860/JCDR/2015/14515.6367.
38. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD,

- van der Poll T, Vincent JL, Angus DC. The third international consensus definition for sepsis and septic shock. *JAMA* 2016;315(8):801-10.
39. Slimani H, Zhai Y, Yousif NG, Ao L, Zeng Q, Fullerton DA, Meng X. Enhanced monocyte chemoattractant protein-1 production in aging mice exacerbates cardiac depression during endotoxemia. *Crit Care* 2014;18:527. doi:10.1186/s13054-014-0527-8.
 40. Sonogo F, Castanheira FV, Ferreira RG, Knashiro A, Leite CA, Nascimento DC, Colon DF, Borges F, Alves J, Cunha F. Paradoxical role of neutrophil in sepsis: protective and deleterious. *Front Immunol* 2016;7:155. doi.org/10.3389/fimmu.2016.00155
 41. Tajarennmuang P, Phrommintikul A, Limsukon A, Pothirat C, Chittawatanarat K. The role of mean platelet volume as predictor of mortality in critically ill patients: a systematic review and meta analysis. *Critical Care Res Pract* 2016, article ID 4370834, doi:10.1155/2016/4370834
 42. Tho NV, Park HY, Nakano Y. Asthma COPD overlap syndrome (ACOS), A diagnostic challenge. *Respirology* 2016;21(3):410-8.
 43. Thomas MR, Storey RF. The role of platelets in inflammation. *Thromb Haemost* 2015;114(3):449-5.
 44. Touqui L, Wu YZ. Interactions of secreted phospholipase A2 and pulmonary surfactant and its pathophysiological relevance in acute respiratory distress syndrome. *Acta Pharmacol Sin* 2003;24(12):1292-6.
 45. Tsukamoto O, Fujita M, Kato M. Natriuretic peptides enhance the production of adiponectin in human adipocytes and in patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology* 2009;53:2070-7.
 46. Tym K. Critical role for oxidative stress, platelets, and coagulation in capillary blood flow impairment in sepsis. *Microcirculation* 2011;18(2):152-62.
 47. Van der Poll T, Levi M. Cross talk between inflammation and coagulation: the lessons of sepsis. *Curr Vasc Pharmacol* 2012;10(5):623-8.
 48. Walley KR. Aging and the intramyocardial inflammatory response. *Crit Care* 2014;18(6):638. doi:10.1186/s13054-014-0638-2.
 49. Wedzicha JA. Eosinophils as biomarkers of chronic obstructive pulmonary disease exacerbation risk. Maybe just for some? *Am J Respir Crit Care Med* 2016;193(9):937-8.
 50. Welters ID, Bing C, Ding C, Leuwer M, Hall AM. Circulating anti-inflammatory adipokines High Molecular weight adiponectin and zinc alpha-2 glycoprotein are inhibited in early sepsis, but increase with clinical recovery; a pilot study. *BMC anesthesiology*. 2014;14:124.
 51. Xie RF, Hu P, Wang Z, Yang J, Yang YM, Gao L, Fan HH, Zhu YM. Platelet derived microparticles induce polymorphonuclear leukocyte mediated damage of human pulmonary microvascular endothelial cells. *Transfusion* 2015;55(5):1051-7.
 52. Yokota T, Oritani K, Takahashi I. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood* 2000;96(5):1723-32.
 53. Zarbock A, Polanowska RK, Ley K. Platelet – neutrophil interactions: linking hemostasis and inflammation. *Blood Rev* 2007;21(2):99-11.
 54. Zuchtriegel G, Uhl B, Pühr-westerheide D, Pornbacher M, Lauber K, Krombach F, Reichel CA. Platelets guide leucocytes to their sites of extravasation. *PloS Biol* 2016;14(5):e1002459. doi:10.1371/journal.pbio.1002459.eCollection.

PUBLICAȚII REPREZENTATIVE DIN TEMATICA TEZEI

1. Seri A et.al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, myeloperoxidase and vascular endothelial growth factor - predictors of high vascular risk in respiratory bacterial infections. ***Journal of Medicine and Life*** 2016;9(4):429-33, ISSN 1844-122x; index. PubMed, Index Copernicus, EBSCO, ProQuest, CNCSIS B+
2. Seri A et.al. The significance of troponin elevation in septic condition—an evaluation of its utility. ***Modern Medicine*** 2016;3:243-7, ISSN:1223-0472; indexata EBSCO, Index Copernicus, CNCSIS B+