

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS

MEDICINOS AKADEMIJA

MEDICINOS FAKULTETAS

VAIKŲ LIGŲ KLINIKA

Ernestas Iljin

**KRAUJO ELEMENTŲ MITOCHONDRIJŲ POKYČIAI SEPSIO METU.
SISTEMINĖ LITERATŪROS APŽVALGA.**

Medicinos vientisųjų studijų programos baigiamasis magistro darbas

Darbo vadovas:

Prof. dr. Rimantas Kėvalas

Kaunas 2020

Turinys

Bioetikos komiteto leidimas	3
Interesų konfliktas	3
Santrauka	4
Summary	5
Įvadas	6
Darbo tikslas ir uždaviniai.....	7
Tyrimo medžiaga ir metodika	8
Santrumpos ir sąvokos	Klaida! Žymelė neapibrėžta.
Literatūros apžvalga	12
1. Teorinė dalis.....	12
2. Strapsnių vertinimas.....	14
Rezultatai.....	22
1. Periferinio kraujo mononuklearinių ląstelių (PBMC) tyrimai.....	22
1.1 Deguonies suvartojimas ir respiracinės būsenos.	22
1.2. Plazmos faktorių poveikis mitochondrijų veiklai.....	23
1.3. Mitochondrijų membranos potencialas	24
1.4 Mitochondrijų motiliškumas	24
2. Trombocitų tyrimai.....	25
Rezultatų aptarimas	27
Išvados.....	28
Praktinės rekomendacijos.....	29
Literatūros sąrašas	30

Bioetikos komiteto leidimas

Literatūros apžvalgos pobūdžio moksliniam darbui bioetikos komiteto leidimas nėra reikalingas.

Interesų konfliktas

Autorius ir vadovai interesų konflikto darbo atlikimo metu neturėjo.

Santrauka

Kraujo elementų mitochondrijų pokyčiai sepsio metu. Sisteminė literatūros apžvalga.

Problemos aktualumas. Sepsis – viena pagrindinių pasaulinių mirties priežasčių intensyvios terapijos skyriuose. Naujausiuose tyrimuose iškeliamos hipotezės, jog sepsio metu sukeltas organų funkcijos nepakankamumas yra sukeltas ląstelių energetikos sutrikimo. Kadangi mitochondrijos – ląstelės energijos šaltinis, tikimasi, jog išsiaiškinus jų pokyčius sepsio metu atsivers naujos diagnostikos ir gydymo galimybės.

Darbo tikslas. Atliekant sisteminę literatūros apžvalgą išsiaiškinti įvairių kraujo elementų mitochondrijų pokyčius ir jas veikiančius faktorius sepsio metu bei jų reikšmę sepsio diagnostikos ir sindromo eigos vertinimo galimybėms.

Medžiaga ir metodai. Atlikta sisteminė literatūros šaltinių paieška PubMed duomenų bazėje naudojant temą atitinkančius raktinius žodžius bei jų derinius. Straipsnių atranka atlikta pasitelkus aiškiai apibrėžtus įtraukimo ir atmetimo kriterijus, įvertinta straipsnių kokybė ir apibendrinta jose esanti informacija, pateikiant praktines rekomendacijas.

Rezultatai. Atlikus sisteminę literatūros paiešką buvo rasti (n =) 830 straipsniai, kurie pagal atrankos kriterijus buvo iki galutinio skaičiaus (n =) 14. Straipsnių kokybė įvertinta kaip 10/14 nešališki, 3/14 abejotinu šališkumo ir 1/14 nevertintas ir kiek suskirstyti pagal tiriamų elementų populiaciją: PBMC ir trombocitus, atitinkamai 8 ir 6.

Išvados. Mononuklearinėse ląstelėse ir trombocituose sepsio metu sumažėja atsarginė kvėpuojamoji geba, nukenčia elektronų transporto grandinės komponentų aktyvumas, išauga mitochondrijų motiliškumas ir membranos depoliarizacija, šie rodikliai neišgyvenusiuose pacientuose būna labiau sumažėję.

Raktiniai žodžiai: *mitochondrijos; monocitai; sepsis; periferinio kraujo mononuklearinės ląstelės; trombocitai.*

Summary

Changes in blood cell mitochondria during sepsis. A systematic literature review.

Topicality. Sepsis is one of the main causes of death in intensive care units around the world. Newest research suggests that organ dysfunction during this syndrome is a consequence of a energy process dysfunction at the cellular level. Since mitochondria are the main energy source of the cell, if their changes during sepsis are elucidated it will open new avenues of treatment and diagnostics.

Aim. Find the changes mitochondria of different blood cell population lines undergo during sepsis and their significance in the diagnostics and outcome of the disease, by conducting a systematic literature review.

Materials and methods. A systematic search for literature was conducted on the PubMed database using appropriate keywords and their combinations. Then, topical articles were hand-picked using strictly defined exclusion and inclusion criteria, after which their quality was evaluated, and their information summarized.

Results: after performing a systemic literature search (n =) 830, publications were found, and using selection criteria were reduced to (n=) 14. Their quality was assessed and 10/14 were deemed unbiased, 3/14 were deemed possibly biased and 1/14 could not be evaluated, then the studies were split into two groups depending on cell type, with PBMC and thrombocytes at 8 and 6 respectively.

Conclusion: mononuclear cells and thrombocytes have a reduced respiratory capacity, damaged electron transport system, increased membrane potential and motility during sepsis, with non-surviving patients having sharper decline in these factors than survivors.

Keywords: *mitochondria; monocytes; sepsis; peripheral blood mononuclear cells; platelets.*

Ivadas

Sepsis - gyvybei grėsmingas organų funkcijos pažeidimas, sukeltas sutrikdyto šeiminių atsako į infekciją [1]. Kasmet pasaulyje diagnozuojama apie 19.4 mln. paties sindromo ir 5.3 mln. jo sukeltų mirties atvejų [2]. Lietuvoje 2017 m. jis sukėlė 10,85 mirties atvejų 10000 gyventojų, o tai sudaro apie pusę mirčių nuo infekcinių ligų tais metais [3]. Dėl šių priežasčių sepsio sindromas yra viena pagrindinių pasaulinių, bei dažniausia tiek Europos, tiek Jungtinių Amerikos Valstijų (JAV) intensyvios terapijos skyrių mirties priežasčių (nusileidžianti tik onkologinėms bei širdies ir kraujagyslių ligoms) [3-5].

Aukšti sepsio mirštamumo rodikliai atsiranda dėl efektyvių gydymo galimybių stokos, o šių trūksta dėl neaiškios sindromo patogenezės [6]. Viena iš vyraujančių teorijų - cirkuliuojantys kraujo plazmos faktoriai, tokie kaip azoto monoksidas (NO_x), mitochondrijų DNR (mtDNR), deguonies radikalai (reactive oxygen species – ROS), ir kiti, kurie slopindami ląstelių gebėjimą panaudoti molekulinį deguonį kaip energetinių procesų substratą, bet didindami energetinį mitochondrijų poreikį, ilgainiui sukelia daugybinių organų nepakankamumą (*multi-organ system failure* – MOSF) ir mirtį [7-9].

Jau yra atlikta keletas tyrimų, įrodančių MOSF ir mitochondrijų aktyvumo sepsio metu ryšį [10,11]. Pagrindinė metodika tokiems tyrimams – metabolinio ląstelių streso įvertinimas, kuris prilyginamas mitochondrijų veiklai [29;30], o dėl jų aktyvaus dalyvavimo uždegiminiuose procesuose, reaktyvumo į plazmoje cirkuliuojančias molekules bei lengvesnės prieigos *ex vivo* tyrimams, leukocitai ir trombocitai – jiems optimalios ląstelės [12, 29; 31;32].

Teorinė ir praktinė reikšmė: kadangi duomenų apie mitochondrijų pažeidimus imuninėse ląstelėse ir jo panaudojimą klinikinėje praktikoje yra mažai, šiuo tyrimu norima susisteminti užsienio autorių publikuotus duomenis, ir priėti prie bendrų išvadų apie kraujo elementų pokyčius sepsio metu, siekiant palengvinti ateinančių tyrėjų darbą taikant juos naujoms sepsio diagnostikos, tyrimo ir gydymo kryptims.

Darbo tikslas ir uždaviniai

Darbo tikslas:

Atliekant sisteminę literatūros apžvalgą išsiaiškinti periferinio kraujo elementų mitochondrijų pokyčius sepsio metu ir jų įtaka sepsio baigtims.

Darbo uždaviniai:

1. Aprašyti mononuklearinių ląstelių ir trombocitų mitochondrijų pokyčius sepsio metu.
2. Apibrėžti periferinio kraujo elementų mitochondrijų pokyčių įtaką sepsio eigai.
3. Pateikti praktines rekomendacijas tolimesniems tyrimams.

Tyrimo medžiaga ir metodika

Publikacijų paieška atlikta 2019 m. kovo mėn. 29 d., naudojant PubMed mokslinės literatūros duomenų bazės paieškos sistemą, pasitelkiant šiuos terminų derinius (atrastų publikacijų skaičius kiekvienos paieškos metu - skliaustuose): „sepsis AND PBMC OR peripheral blood mononuclear cells AND mitochondria “ (13) , „sepsis AND mitochondria AND granulocyte “ (24) , „sepsis AND mitochondria AND blood cell “ (154), „sepsis AND platelets AND mitochondria“ (26) , „sepsis AND ATP AND blood cells“ (147), „sepsis AND mitochondria AND immune cell“ (91), „sepsis AND oxidative stress AND blood cell“ (375).

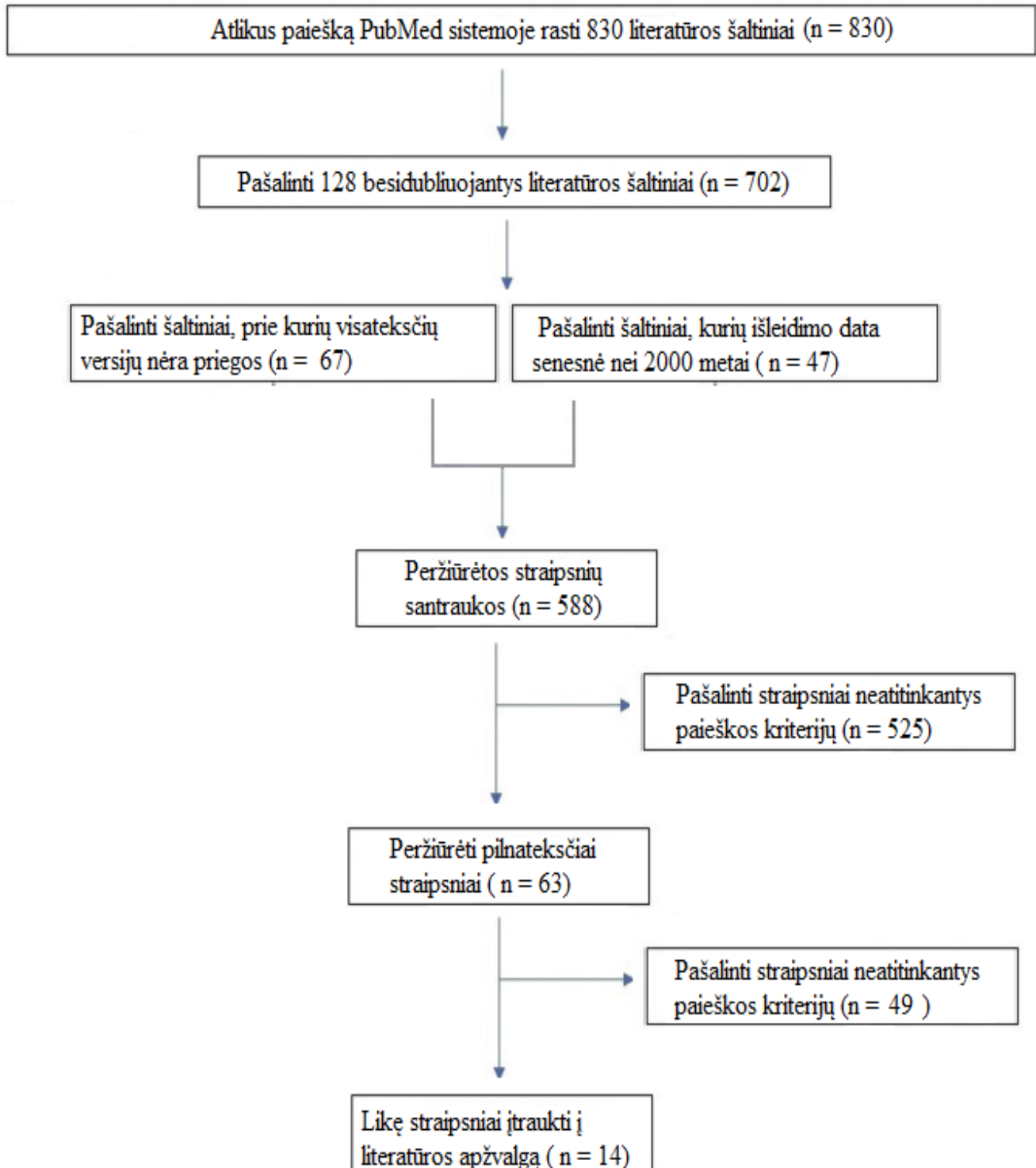
Antrasis sisteminės apžvalgos etapas vyko šalinant straipsnius pagal 1 lentelėje pateiktus įtraukimo ir atmetimo kriterijus. Buvo atmesti visi šaltiniai, kuriuose nebuvo tirtos kraujo ląstelės (mononuklearai ir trombocitai), toliau buvo atmesti visi straipsniai kuriuose nebuvo tiriamos jų mitochondrijos. Taip pat buvo atmesti tie šaltiniai, kuriuose buvo tiriami gyvūnai. Pilna apžvalgos šaltinių paieškos ir atrankos schema pateikta 1 paveiksle.

Išrinktus kriterijus atitiko ir į sisteminę apžvalgą buvo įtraukti 14 tyrimų, kuriuose aprašomos kraujo elementų pokyčiai sepsio metu. Pastarieji straipsniai kokybiškai įvertinti, suskirstyti į pogrupius pagal ląstelių populiaciją ir atlikta literatūros apžvalga.

1 lentelė. Literatūrinių šaltinių įtraukimo ir atmetimo kriterijai

Kriterijus	Įtraukimas	Atmetimas
Tyrimų objektai	Įtraukiami straipsniai, kuriuose tiriamos mitochondrijas turinčios kraujo ląstelės (mononuklearinės, trombocitai)	Atmetami straipsniai tiriantys kitas kraujo ląstelių populiacijas arba plazmą Atmetami straipsniai, kuriuose tiriamos kitų audinių ląstelėse Atmetami straipsniai kuriuose netiriamos mitochondrijos
Tiriamoji populiacija	Įtraukiami tik tie straipsniai, kuriuose tiriamos žmonių kraujo ląstelės.	Atmetami straipsniai, kur tiriamos kitų gyvūnų populiacijos.
Tiriama patologija	Įtraukiami straipsniai, kuriuose tiriamieji sirgo sepsiu (arba pagal ankstesnius sepsio kriterijus sunkiu sepsiu).	Atmetami straipsniai, kuriuose tiriamieji nesirgo sepsiu ar sunkiu sepsiu.
Literatūriniai kriterijai	Nuo 2000–01–01 iki 2019–04–06 Anglų kalba	Ankstesni nei 2000 metų tyrimai Ne anglų kalba
Prieiga	Per LSMU bibliotekos sistemą prieinama pilna publikacijos versija.	Prieigos prie tokios versijos nėra.

1 paveikslas. *PRISMA* literatūrinių šaltinių paieškos eiga



Santrumpos ir sąvokos

ATP - adenzintrifosfatas

ADP – adenzindifosfatas

ROS – *reactive oxygen species* (aktyviosios deguonies formos)

MOSF – *multi-organ system failure* (daugiasisteminis organų nepakankamumas)

O₂ - deguonis

NO – azoto monoksidas

PBMC – *peripheral blood mononuclear cell* (periferinio kraujo mononuklearinės ląstelės)

SOFA – nuoseklaus organų nepakankamumo vertinimo skalė.

CS – citrato sintazė

mtDNR – mitochondrijų DNR

Cytc – citochromas c

V₀ – bazinis ląstelės deguonies suvartojimas, be egzogeninės stimuliacijos.

V_{max} – deguonies suvartojimas po egzogeninės stimuliacijos.

V₄ – trečioji respiracinė būseną

V₃ – ketvirtoji respiracinė būseną

COX – ciklooksigenazė

CI – elektronų transporto grandinės I kompleksas, ubikvinono oksireduktazė

CII – elektronų transporto grandinės II kompleksas, sukcinato dehidrogenazė

CIII – elektronų transporto grandinės III kompleksas, kofermentas q (kitai, ubikvinonas)

CIV – elektronų transporto grandinės IV kompleksas, citochromo c oksidazė

mOD – mili-optinis tankis

vs. – *versus* (palyginta su)

Literatūros apžvalga

1. Teorinė dalis

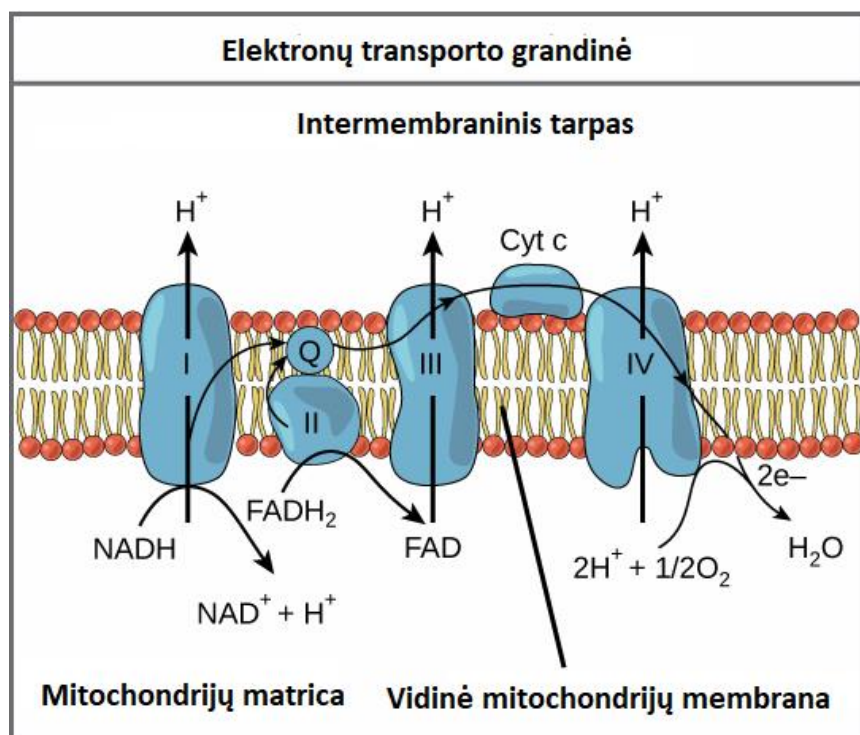
Ląstelių bioenergetika

Ląstelinis kvėpavimas yra metabolinių procesų grandinė, kurios tikslas – paversti biocheminę maistinių medžiagų energiją į adenzintrifosfato (ADP) molekulę. Eukariotinėse ląstelėse šios reakcijos katalizuojamos vidinėje mitochondrijų membranoje, per baltyminius membranos kompleksus, kurie kartu vadinami elektronų transporto grandine [26;33]. Grandinės veikla vadinama oksidacine fosforiliacija, kurios metu elektronai pernešami iš donoro (tokio kaip NADH), akceptoriumi (šiuo atveju O_2), ko pasekoje nutraukiamos silpnos O_2 molekulės divalentės jungtys, ir išskiriama energija [33]. Oksidacinė fosforiliacija panaudoja egzergoninių, tai yra, energetiškai teigiamų, cheminių reakcijų (NADH oksidacija ir O_2 redukcija) energiją katalizuoti endergonines, tai yra, energetiškai neigiamas, reakcijas (ATP sintezė). Šios reakcijos vadinamos suporuotomis (ang. *coupled*), kadangi viena negali vykti be kitos [28]. Oksidacinės fosforiliacijos reakcijos veikia chemiosmozės – pasyvaus protonų judėjimo iš didesnės koncentracijos į mažesnę – principu. Gradientas palaikomas elektronų transporto grandinės, kuri aktyviai perneša protonus iš neigiamos membranos pusės į teigiamą. [33].

Elektronų transporto grandinės kompleksai (2 paveikslas)

Elektronų transporto grandinė yra membraninių baltyminių kompleksų sistema, kuri vykdydama redukcijos reakcijas sukuria elektrocheminį gradientą tarp mitochondrijų membranos, reikalingą ATP sintezei [35]. Grandinės veikimo metu, elektronai pereina per kiekvieną komponentą, padidindami savo redukcinį potencialą, ir išskiria energiją, kuri yra panaudojama vandenilio jono pernašai iš mitochondrijų matricos į intermembraninį jos tarpą, sukurdami elektrinių potencialų skirtumą, su teigiamu krūviu išorėje ir neigiamu krūviu viduje. Elektronai redukuojami iš eilės CI, CII, CIII, cytC ir CIV kompleksuose. Proceso pasekmė – O_2 reakcija su gautais vandenilio jonais, o rezultatas – vanduo bei keturių protonų perėjimas į mitochondrijų matricą. Supaprastinata deguonies redukcijos reakcija: $2e^- + H^+ + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow H_2O$ [26;35].

2. paveikslas *Elektronų transporto grandinė*



Respiracinės būsenos

In vitro mitochondrijų tyrimuose priimta taikyti 1956 m. Chance ir Williams įvardintas penkias klasikines mitochondrijų respiracines būsenas. Elektronų transporto grandinės funkcijai įvertinti tiriamos trečioji ir ketvirtoji [34]. Trečios būsenos respiracija (V_3) sukeliama esant maksimaliai O_2 koncentracijai, pakankamai fosfato koncentracijai ir pridant į mitochondrijos aplinką adenzindifosfatą (ADP). Šis prisijungia prie ATP sintazės, pagreitindamas elektronų transporto grandinės veiklą, o tai leidžia iširti mitochondrijų maksimalią respiracinę gebą bei deguonies suvartojimą, reguliuojant substrato kiekį, nes šios reakcijos yra suporuotos [27;28;34]. Ketvirtos būsenos respiracija sukeliama pasitelkiant oligomiciną (kuri šiuo atveju yra medžiaga vadinama, *uncoupler*, atsiejikliu, kuri panaikina ryšį tarp elektronų transporto grandinės veiklos ir ATP gamybos reakcijų) ATP-sintazės inhibitorių, kuris *in vitro* padeda įvertinti chemostazės ir elektronų transporto grandinės iširimus, dėl mitochondrijų membranos pažeidimo [27;34].

2. Straipsnių vertinimas

Tyrimai atitikę atrankos kriterijus ir įtraukti į sisteminę apžvalgą aprašyti 4 lentelėje (pavadinimas, autoriai, metai, tyrimo tipas, tiriamieji faktoriai, kokybės vertinimas, rezultatai ir išvados).

Straipsnių kokybės įvertinimas buvo atliktas pagal Niukaslo-Otavos sisteminių apžvalgų kokybės vertinimo vadovą (3 lentelė). Kiekvieno tyrimo kokybę vertinama pagal tris kriterijus: tiriamųjų atranką (maksimaliai 4 balai), tiriamųjų ir sveikos kohortos palyginamumą (maksimaliai 2 balai) ir išeičių įvertinimą (maksimaliai 3 balai). Šie kriterijai skirstomi į pogrupius, už kurių įvykdymą tyrimas apibrėžiamas kaip šališkas, nešališkas, abejotinas arba nevertintinas.

Kiekvienam kriterijui vienas balas suteikiamas už atitinkamą šališkumo protokolo punkto įvykdymą. Tiriamųjų atrankos skiltyje balai suteikiami už: 1) paveiktos kohortos atstovavimą bendrai populiacijai; 2) adekvatų sveikos kohortos atrinkimą; 3) patvirtinimu, jog atrinktieji asmenys yra paveikti tiriamo veiksnio; 4) įrodymu, jog ieškoma išėitis nebuvo kohortoje prieš tyrimą. Kohortų palyginamumo skiltyje balai suteikiami už: 1) abiejų kohortų tapatumą, siekiant išvengti išorinių veiksnių įtakos. Už kiekvieną specifinį veiksnių, ar pagrindimą, jog šis veiksnys statistiškai reikšmingai nepaveiktų tiriamųjų suteikiamas 1 balas, maksimaliai už šį kriterijų suteikiami 2 balai. Išeičių skiltyje balai suteikiami už: 1) išėities įvertinimą; 2) adekvatų tyrimo laikotarpį norimai išėičiai gauti; 3) Gautų rezultatų adekvatumą; Viso protokolo balų maksimumas yra 9 balai. Tyrimai surinkę 1-3 balus buvo laikomi šališkais (pažymėti „-“), 4-6 balus buvo vertinti kaip abejotino nešališkumo (pažymėti „+/-“), 7-9 balų tyrimai - adekvačiai nešališki (pažymėti „+“). Po kokybinio vertinimo visi tyrimai suskirstyti į dvi kategorijas: mononuklearines ląsteles tyrusias publikacijas ir trombocitus tyrusias publikacijas.

3 lentelė. Literatūros šaltinių šališkumo vertinimas

Tyrimas	Atranka	Lygintinumas	Išeitys	Balų suma	Šališkumas
I. Belikova ir kt.	1+1+1+0	1*2	1+1+1	8/9	+
A.M.Jappiasu ir kt.	1+1+1+1	1*1	1+1+1	8/9	+
G. Garrabou ir kt.	1+1+1+1	1*2	1+0+0	7/9	+
F. Sjovall ir kt. (2013)	1+0+1+1	1*2	1+1+1	8/9	+
A. Protti ir kt.	1+1+1+0	0	1+1+0	5/9	+/-
L. Lorente ir kt. (2014)	1+1+1+1	1*1	1+1+1	8/9	+
S. L. Weiss ir kt.	1+1+1+1	1*2	1+1+1	9/9	+
L. Lorente ir kt. (2015)	1+1+1+1	1*2	1+0+0	9/9	+
C. Adrie ir kt.	1+1+1+1	0	1+0+0	5/9	+/-
M.A. Puskarich ir kt.	1+1+0+1	1*1	0+1+1	7/9	+
T.M. Merz ir kt.	1+1+1+1	1*2	1+1+1	9/9	+
F. Sjovall ir kt. (2010)	1+1+1+1	1*2	1+0+0	7/9	+
L. Lorente ir kt. (2012)	1+1+1+0	0	1+1+1	6/9	+/-
D.H. Jang ir kt.	-	-	-	-	n

4 lenelė. Tyrimų charakteristikos

Pavadinimas	Autorius, tyrimo metai	Tyrimo tipas, kokybės vertinimas	Metodika	Rezultatai ir išvados
Oxygen consumption of human peripheral blood mononuclear cells in severe human sepsis [13].	I. Belikova ir kt. a 2007 m.	Kohortinė studija – sepsiu sergantys (n = 18) ir sveiki savanoriai (n = 32) „+“	1) Iš tiriamųjų kraujas paimtas per pirmąsias 48 val. nuo atvykimo į intensyvios terapijos skyrių. Ištirtas <i>ex vivo</i> V_3 būsenos O_2 suvartojimas PBMC. 2) Ištirta plazmos faktorių įtaka kraujo ląstelėms, inkubuojant sveikų savanorių ląsteles septinėje plazmoje.	1) V_0 ir V_3 būsenų O_2 suvartojimas sumažėjęs, palyginus su sveikąja kohorta ($p < .01$). 2) Sveikos ląstelės inkubuotas septinėje plazmoje rodė pokyčius būdingus sepsiui, jų sunkumas priklausė nuo inkubacijos laikotarpio .
Bioenergetic failure of human peripheral blood monocytes in patients with septic shock is mediated by reduced F1Fo adenosine-5'-triphosphate	A.M.Jappiasu ir kt. 2011 m.	Kohortinė studija – sepsiu sergantys (n = 20) ir pooperaciniai pacientai be sepsio (n = 18) „+“	1) Iš tiriamųjų kraujas paimtas per pirmąsias 48 val. nuo atvykimo į intensyvios terapijos skyrių. Ištirtas <i>ex vivo</i> V_3 būsenos O_2 suvartojimas PBMC. 2) Įvertintas ryšys tarp sepsio sunkumo, klinikinės išėties ir O_2 suvartojimo.	1) Mitochondrijų V_3 būsenos O_2 suvartojimas sutrikęs palyginus su sveika kohorta (5.60 vs. 9.89 nmol O_2 /min/ 10^7 ląst. $p = .01$). 2) V_3 būsenos O_2 panaudojimo sutrikimas tiesiogiai susijęs su organų nepakankamumo sunkumu bei mirtingumu ($p = .004$).

synthase activity[14].				
The effects of sepsis on mitochondria [9].	G. Garranou ir kt. 2012 m.	Kohortinė studija – sepsiu sergantys (n = 19) ir pooperaciniai pacientai be sepsio (n = 20) „+“	1) Įvertinti kraujo ląstelių mitochondrijų masės, fermentiniai ir kiti baltyminiai pokyčiai sepsio metu 2) Įvertinta septinės plazmos įtaka raumeniniam audiniui, inkubavus jį septinėje plazmoje.	1) Mitochondrijų masė ir baltymų sintezė nepakito, tačiau mitochondrijų kompleksai CI, CIII, ir CIV ir O ₂ suvartojimas buvo reikšmingai sumažėję sepsio metu. 2) Septinė plazma sumažino O ₂ suvartojimą miocitų mitochondrijose ypač pacientuose su neigiamomis ligos baigtimis.
Patients with sepsis exhibit increased mitochondria l respiratory capacity in peripheral blood immune cells [15].	F. Sjøvall ir kt. 2013 m.	Kohortinė studija – sepsiu sergantys (n = 20) sveiki pacientai (n = 31) „+“	1) Ištirta septinių pacientų kraujo ląstelių mitochondrijų funkcija T1 (per 48 val.), T2 (3-4 d.) ir T3 (6-7 d.) laikotarpiuose. 3) Įvertinti mitochondrijų pokyčiai sepsio metu (išmatavus mtDNR, Cyt c ir CS) tarp septinės ir sveikos kohortos	1) Sveikose bei permeabilizuotose ląstelėse, O ₂ suvartojimas siekė nuo 137-170% sveikos kohortos matavimų per visais laiko vienetais. 2) Septinių pacientų mtDNR, Cyt c ir CS rodikliai buvo žymiai didesni nei sveikos kohortos (atitinkamai (243%, 331% ir 211%) visuose laiko vienetuose.
Mitochondria	A. Protti ir	Kohortinė	1) Ištirti trombocitų	1) Septiniai pacientai

<p>l changes in platelets are not related to those in skeletal muscle during human septic shock [16].</p>	<p>kt. 2014 m.</p>	<p>studija – sepsiu sergantys (n = 30) ir pooperaciniai pacientai be sepsio (n = 10) „+/-“</p>	<p>mitochondrijų kvėpavimo grandinės biocheminiai pokyčiai sepsio metu, jie palyginti su sveikos kohortos raumeniniu audiniu.</p>	<p>turėjo žemesnius aktyvumus CI, CIII, CIV, sepsio sukelti mitochondrijų pokyčiai trombocituose nebuvo statistiškai reikšmingai susiję su pokyčiais raumenų audinyje.</p>
<p>Higher platelet cytochrome oxidase specific activity in surviving than in non-surviving septic patients [17].</p>	<p>L. Lorente ir kt. 2014 m.</p>	<p>Prospektyvinė stebimoji studija, tirti sepsiu sergantys pacientai (n = 198) „+“</p>	<p>1) Matuotas COX aktyvumas santykyje su visų baltymų skaičiumi trombocituose 1, 4 ir 8 d. nuo sepsio diagnozės nustatymo.</p>	<p>Rezultatai : 1) išgyvenusieji (n – 130) rodė didesnę COX/baltymų santykį nei neišgyvenusieji (n – 68) visais tirtais laikotarpiais. Citochromo oksidazės aktyvumą galima pasitelkti kaip nuspėjamą žymenį sepsio baigčiai įvertinti.</p>
<p>Mitochondria l dysfunction in peripheral blood mononuclear cells in pediatric septic shock [18].</p>	<p>S. L. Weiss ir kt. 2015 m.</p>	<p>Prospektyvinė stebimoji studija, su lyginamąja kohorta (sepsiu sergantys pacientai n = 13, n = 11 intensyvios terapijos skyriaus pacientai be</p>	<p>1) Įvertintas <i>ex vivo</i> PBMC mitochondrijų O₂ suvartojimas ir membranos potencialas 1-2 ir 5-7 ligos d, bei jo ryšys su patologijos išėjimais.</p>	<p>1) Septinių pacientų O₂ suvartojimo rezervas buvo sumažėjęs pirmomis 1-2 d., bet atsistatė iki 5-7 d., palyginus su sveika kohorta. Ryšio tarp mitochondrijų membranos potencialo ir ligos sunkumo nerasta.</p>

		sepsio) „+“		
Decrease of oxidative phosphorylation system function in severe septic patients [19].	L.Lorente ir kt. 2015 m.	Prospektyvinė stebimoji studija, su lygintina kohorta tirti (n – 198 sepsiu sergantys pacientai ir n – 96, sveiki pacientai) „+“	1) Tirtas CIV aktyvumas septinių pacientų trombocitų mitochondrijose 1,4 ir 8 dienomis nuo diagnozės pradžios, galutinis tyrimo taškas 30 dienos mirtingumas.	1) Septinių pacientų CIV komplekso aktyvumas buvo sumažėjęs palyginus su sveikąja kohorta visais laikotarpiais, tačiau skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas.
Mitochondrial Membrane Potential and Apoptosis Peripheral Blood Monocytes in Severe Human Sepsis [20].	C. Adrie ir kt. 2001 m.	Kohortinė studija – sepsiu sergantys (n = 17) sveiki pacientai (n = 18) „+/-“	1) Tirtas monocitų membranų potencialas T1 (1– 3 d.), T2 (7-10 d.) T3 (išrašymas) laikotarpiais, rezultatai lyginti su sveika kohorta.	1) Septinių pacientų ląstelių membranos potencialas buvo didesnis T1 ir T2 laikotarpiu, bet ne T3 laikotarpiais. Tarp išgyvenusių ir neišgyvenusių septinių pacientų, pastaroji grupė turėjo mažesnę ląstelių membranos potencialą T1.
Early alterations in platelet mitochondria l function are	M.A. Puskarich ir kt. 2016 m.	Prospektyvinė stebimoji kohortinė studija (sergančių n –	1) Tirta V_o ir V_4 , V_{max} respiracija nepažeistų, nepearmeabilizuotų trombocitų mitochondrijos,	1) V_o ir V_{max} buvo išaugusi neišgyvenusiųjų kohortoje, V_4 statistiškai reikšmingai nesiskyrė.

<p>associated with survival and organ failure in patients with septic shock [21].</p>		<p>28, išgyvenusių 21, neišgyvenusių 7) „+“</p>	<p>inkubuotos savininko plazmoje. 2) Vertintas V_{max}, organų nepakankamumo ir pacientų išgyvenamumo ryšys sepsio metu.</p>	<p>2) Trombocitų mitochondrijų funkcijos skirtumai tarp išgyvenusių ir neišgyvenusių pacientų atsiranda labai anksti ligos eigoje, nurodo didesnę tikimybę organų nepakankamumui.</p>
<p>Mitochondria I function of immune cells in septic shock: A prospective observational cohort study [22].</p>	<p>T.M. Merz ir kt. 2017 m.</p>	<p>Prospektyvinė stebimoji kohortinė studija (septiniai pacientai – 30; sveiki pacientai n = 20) „+“</p>	<p>1) Tirti fermentiniai CS, ATP sintazės, CI ir CIV kompleksų aktyvumai monocituose, T ir B ląstelėse) bei jų ATP kiekiai 0, 24 ir 48 val.</p>	<p>1) Rasti reikšmingi fermentinių aktyvumų skirtumai tarp skirtingų PBMC populiacijų: monocituose sumažėjo CS kiekis ir išaugo, bei ATP sintazės koncentracijos, T ląstelėse išaugę ATP sintazės ir I komplekso kiekiai, o B ląstelėse išaugę CS ir I komplekso kiekiai. ATP kiekiai nesiskyrė statistiškai reikšmingai nė viename laiko tarpe. Nebuvo pakankamai duomenų žymenis įvertinti kaip sepsio eigos rodiklius.</p>
<p>Temporal increase of platelet mitochondria</p>	<p>F. Sjøvall ir kt. 2010 m</p>	<p>Kohortinė studija (septiniai pacientai n =</p>	<p>1) Trombocitai izoliuoti per pirmas 48 val. nuo sepsio diagnozė (inkubuoti</p>	<p>1) Trombocitai plazmos suspensijoje rodė išaugusį V_4 respiracijos būsenos kiekį, palyginus</p>

<p>l respiration is negatively associated with clinical outcome in patients with sepsis [23]</p>		<p>18, sveiki žmonės (kraujo donorai) n = 18) „+“</p>	<p>savo plazmoje ir gliukozės suspensijoje) matuota V_4 ir V_{max} su pakartotiniais mėginiais 3 - 4 d. ir 6 - 7 d. laiko vienetuose.</p>	<p>su gliukozės suspensija. Nuo 1-2 d iki 7-6 buvo elektronų pernašos sistemos respiracinės gebos išaugimas</p>
<p>Survival and mitochondrial function in septic patients according to mitochondrial DNA haplogroup [24].</p>	<p>L. Lorente ir kt. 2012 m.</p>	<p>Prospektyvinė observacinė studija (septiniai pacientai n = 96) „+/-“</p>	<p>1) Nustatyta mtDNR haplogrupė, COX specifinio aktyvumo santykis su CS specifiniu aktyvumu, bei COX kiekio santykis su CS specifiniu aktyvumu cirkuliuojančiuose trombocituose trijuose laikotarpiuose – diagnozės metu, 4d., 8 d. ir 1 - 6 mėn.</p>	<p>1) Pacientai su JT mtDNR haplogrupoje turėjo didesnę COX\CSa santykį 4 ir 8 d., palyginus su kitomis haplogrupėmis, o šis aukštesnis santykis buvo susijęs su didesniu 1 mėn išgyvenanumu. COX\CSa santykis gali būti potencialus ligos eigos rodiklis.</p>
<p>Mitochondrial networking in human blood cells with application in acute care illnesses [25].</p>	<p>D.H. Jang ir kt. 2019 m.</p>	<p>Lyginamoji kohortinė studija (n = 6, 3 sveiki ir 3 septiniai pacientai) Šališkumas nevertintintas</p>	<p>1) Pasitelkus respirometrija, fluorescencinę mikroskopiją ir modernią vaizdinę analizę įvertintas PBMC mitochondrijų motiliškumas (pavienių</p>	<p>1) Septinių pacientų fizijos bei fuzijos procesai statistiškai reikšmingai nesiskyrė nuo sveikos kohortos, tačiau motiliškumas buvo ryškiai padidėjęs. Šis metodas per 2-3 valandas) gali parodyti</p>

			mitochondrijų judėjimas, jų kiekio kitimai ligos eigoje) ir mitochondrijų tinklų dinamika.	mitochondrijų dislokacinius pokyčius sepsio metu, bei tyrimams toliau vystantis padės vertinti ligos sunkumą kliniškai kritiniu laikotarpi
--	--	--	--	--

Rezultatai

1. Periferinio kraujo mononuklearinių ląstelių (PBMC) tyrimai.

Aštuoni straipsniai tyrė PBMC pokyčius sepsio metu [9;13-15;19;21;22;27]

1.1 Deguonies suvartojimas ir respiracinės būsenos.

Šeši straipsniai tyrė deguonies suvartojimą, kuris išmatuotas *Clark* elektrodu, ir išreikštas deguonies atomų kiekio sumažėjimu tiriamojoje terpėje (ng O₂/min/10⁷ ląstelių arba pmol O₂* s⁻¹ *10⁻⁶ ląstelių) [9;13-15;18;22]. Bazinis deguonies suvartojimas (V_o) matuotas intaktinėse ląstelėse, o trečioji ir ketvirtoji respiracinės būsenos vertintos digitoninu permeabilizuotose ląstelėse [9;13-15;18].

I. Belikovos ir kt. tyrime V_o atrastas pusantro karto aukštesnis septinių pacientų mitochondrijose (9 vs. 13.5 pmolO₂ * s⁻¹ * 10⁻⁶ ląstelių), analogiški rezultatai gauti F. Sjøvall ir kt. tyrime, kur V_o statistiškai reikšmingai išaugęs 48 val. nuo stacionarizavimo intensyvios terapijos skyriuje (3.7 ± 0.6 vs. 4.7 ± 1.2 pmolO₂ * s⁻¹ * 10⁻⁶ ląstelių; p < 0.04) ir rodė progresyviai augančią disfunkciją iki 6-7 dienos (6.4 ± 2.1 pmolO₂ * s⁻¹ * 10⁻⁶ ląstelių p < 0.001) [13;15]. G. Garrabou ir kt. tyrime, priešingai, V_o septinėje kohortoje buvo sumažėjęs visiems tirtiems elektronų transporto grandinės kompleksams (atitinkamai CI - 32% ,CIII - 42% ir CIV – 23%, p < 0.05), palyginus su sveikais pacientais , o S. L. Weiss ir kt. statistiškai reikšmingo skirtumo V_o neatrado (2.03–2.95 vs. 0.9–3.07 pmol O₂ * s⁻¹ * 10⁻⁶ ląstelių, p < 0.62), tačiau abu tyrimai rodė sumažėjusią atsarginę kvėpuojamoji gebą (maksimalų O₂ kiekį, kuris gali būti panaudojamas ATP gamybai esant

pakankamam jo tiekimui, išaugus ląstelės energetiniam poreikiui) – atitinkamai 16% ($p < 0.05$) ir 1.81, 0.52–2.09 vs. 5.55, 2.80–7.21 3.07 $\text{pmol O}_2 * \text{s}^{-1} * 10^{-6}$ ląstelių ($p < 0.03$) [9;18].

M. Jappiasu ir kt. septinėse ląstelėse sukėlus V_3 , deguonies suvartojimas buvo mažesnis nei sveikosios kohortos (atitinkamai 5.60 vs. 9.89 $\text{ng O}_2 / \text{min} / 10^7$ ląstelių, = 30% prieaugis vs. 90% $p < 0.01$), kaip ir I. Belikovos tyrime (25% vs. 161%); [13;14]. M. Jappiasu ir kt. papildomai išskyrė septinius pacientus tarpusavyje į išgyvenusius ir neišgyvenusius, pastaroji grupė rodė žymiai nukritusį O_2 suvartojimą (4.56 vs. 10.27 $\text{ngO}_2 / \text{min} / 10^7$ ląstelių) [14]. S. L. Weiss ir kt. tyrime neparodė statistiškai reikšmingo skirtumo V_4 ar V_3 (atitinkamai 0.56 vs. 0 $\text{pmolO}_2 * \text{s}^{-1} * 10^{-6}$ ląstelių; $p < 0.10$; 2.04 vs. 2.52, $\text{pmol O}_2 * \text{s}^{-1} * 10^{-6}$ ląstelių $p < 0.74$.) [18]. Ketvirtosios respiracinės būsenos skirtumų nerasta ir kituose tyrimuose [14;15].

T.M. Merz ir kt. tyrimas, atliktas pasitelkiant spektrofotometriją, suskirsčius ląsteles į atskiras populiacijas: monocitus, T limfocitus ir B limfocitus, o mitochondrijų respiracinis aktyvumas prilygintas citrato sintazės (CS) baltymo kiekybinei ekspresijai ($\text{mOD} / \text{min} / \text{mg}$ ląstelinio baltymo). Monocitų atveju CS buvo reikšmingai mažesnis nei sveikuose savanoriuose (114 vs 180 $\text{mOD} / \text{min} / \text{mg}$ ląstelinio baltymo $p = 0.72$). T limfocitų atveju statistiškai reikšmingo pokyčio nerasta, o B limfocitų – reikšminga išaugęs (280 vs 71 $\text{mOD} / \text{min} / \text{mg}$ ląstelinio baltymo $p < 0.004$) [22].

1.2. Plazmos faktorių poveikis mitochondrijų veiklai.

Du straipsniai tyrė plazmos faktorių įtaką mitochondrijų veiklai [9;13].

I. Belikovos ir kt. tyrimas tai darė trejopai: 1) neseptinių pacientų mononuklearines ląsteles 3 val. inkubavus septinėje plazmoje ir palyginus jų V_3 % ($= 100 [V_3 - V_o] / V_o$) su septinių ląstelių ir sveikos kohortos inkubuotos savo plazmoje atitikmeniu (septinių pacientų - 25% vs. sveikos kohortos ląstelės inkubuotos septinėje plazmoje 25% vs. sveikos kohortos inkubuotos savo plazmoje 161% $p < 0.001$). 2) palyginus sveikos kohortos ląsteles inkubuotas 1,7 ir 28 d. septinėje plazmoje atrastas progresyvus V_o ir V_3 mažėjimas; 3) inkubavus septines ląsteles sveikoje plazmoje, kuriuo atveju V_o , V_3 ir V_3 prieaugis laiko bėgyje artėjo prie sveikų pacientų reikšmių [13]. Garrabou ir kt. tyrime skeleto raumenų mitochondrijos iš penkių sveikų kontrolinių tiriamųjų buvo inkubuotos 30 min. 37° temperatūroje atitinkamai septinėje ir sveikų pacientų plazmoje. Po inkubacijos, polarografijos metodu, buvo išmatuoti V_3 respiracinė gebos pokyčiai susiję su CI ir CIV kompleksais, ir buvo

matomas sumažėjimas (18% - CI ir 23% CIV $p < 0.05$) palyginus su sveikų pacientų kohorta [9]. Svarbu paminėti, nors F. Sjøvall ir kt. [14] neieškojo septinės plazmos efekto mononuklearinėms ląstelėms, jo metu gauti V_0 rezultatai analogiški I. Belikovos [13] tyrimui.

1.3. Mitochondrijų membranos potencialas

Trys straipsniai tyrė mitochondrijų membranos potencialą [9;18;20], kuris, analogiškai V_0 gali būti naudojamas kaip ląstelės funkcijos sutrikimo rodiklis.

G. Garrabou ir kt. jį tyrė pasitelkdami tėkmės citometriją su JC-1 dažymu, o tyrimo rezultatai išreikšti procentiniu santykiu (septinių pacientų ląstelės su depoliarizuotomis mitochondrijomis/lyginamosios kohortos ląstelės su depoliarizuotomis mitochondrijomis), gautas 315% prieaugis septinių pacientų grupėje, $p < 0.05$ [9]. C. Adrie ir kt. matavimus vykdė analogiška G.Garrabou [9] tyrimo metodika. Kraujo mėginiai paimti ir įvertinti: T1 (72 val. nuo sepsio diagnozės), T2 (per 7-10 d. nuo diagnozės) ir T3 (išgyvenusių pacientų išvykimas iš gydymo įstaigos) laiko taškais. Pirmuoju laiku (T1) – septinių pacientų ląstelių depoliarizacija buvo aukštesnė nei kontrolinės grupės, šis skirtumas išaugo T2 ir atsistatė į kontrolines reikšmes iki T3. Membranų depoliarizacija tarp septinių pacientų buvo aukštesnė neišgyvenusiuose pacientuose T1 momentu (26.4% vs. 10.1%, $p < 0.01$). Papildomai atrasta statistiškai reikšminga koreliacija tarp membranų depoliarizacijos ir pacientų amžiaus, o išgyvenusių pacientų amžiaus vidurkio lygiavertiškumas visos grupės vidurkiui reiškia, jog amžius nėra depoliarizaciją įtakojantis veiksnys [20]. S. L Weiss ir kt. membranos potencialą tyrė pasitelkdami fluorescencinę oksidaciją, ir normalizuojant membranos potencialą mitochondrijų masei (MTR/MTG). Statistiškai reikšmingo skirtumo tarp kohortų nebuvo, tačiau atrasta silpna tiesioginė koreliacija tarp membranų potencialo ir dienų be organų nepakankamumo (Spearman koeficientas = 0.56, $p < 0.06$). Taip pat, septiniai pacientai bent iš dalies atgavę organų funkciją iki septintos dienos turėjo aukštesnį membranos potencialą 1-2 d. nei pacientai, kurių organų nepakankamumas truko ilgiau nei septynias dienas ir už kontrolinę grupę (MTR/MTG, atitinkamai atgavę funkciją iki 7 d. = 0.62 atgavę funkciją po 7 d. 0.32 ir kontrolės 0.19) [18].

1.4 Mitochondrijų motiliškumas

D.H. Jang ir kt. straipsnis tyrė mitochondrijų motiliškumą, tai yra, mitochondrijų judėjimą pačioje ląstelėje, bei jų fizijos (skilimo) ir fuzijos (jungimosi) reakcijas, pasitelkus 4-6 PBMC histogramas ir logaritminius judėjimo algoritmus. Abiejose kohortose nerastas statistiškai reikšmingas fizijos ir fuzijos reakcijų prieaugis per matavimo laikotarpius (atitinkamai $30.4 \pm 2.7\%$ ir $30.9 \pm 2.6\%$ sveikai kohortai, 23.7 ± 3.9 ir $24.3 \pm 3.9\%$ septinių pacientų kohortai), tačiau mitochondrijų motiliškumas septinėje grupėje buvo statistiškai reikšmingai išaugęs (388 ± 22.4 nm palyginus su 179 ± 14.6 nm, $p < 0.0001$), o tai gali padidinti šio tyrimo metodo diagnostinę vertę ateityje [25].

2. Trombocitų tyrimai

Šeši straipsniai tyrė trombocitų pokyčius sepsio metu [16;17;19;21;23;24]

L. Lorente ir kt. atliko trijų tyrimų seriją, kurioje tirta trombocitų oksidacinės fosforiliacijos proceso veikla, prilyginus ją citochromo c (CIV) aktyvumui, dėl jo didžiausio O_2 suvartojimo elektronų transporto grandinėje [17;19;24]. Pirmasis tyrimas atrado, jog išgyvenusių (**paryškinti duomenys**) ir neišgyvenusių (pabraukti duomenys) septinių pacientų CIV aktyvumas buvo statistiškai reikšmingai sumažėjęs, palyginus su sveikąja kohorta matuojant 1 (**0.27** vs. 0.10 vs. 0.94 mOD/min/mg $p < 0.01$), 4 (**0.29** vs. 0.07 vs. 0.94 $p < 0.01$) ir 8 (**0.51** vs. 0.06 vs. 0.94 $p < 0.01$) dienomis nuo sepsio diagnozės, su žymia disfunkcija neišgyvenusiųjų pogrupyje [19]. Antrasis tyrimas, lyginęs pirmojo tyrimo neišgyvenusių ir išgyvenusių septinių pacientų pogrupius tarpusavyje parodė, kad pacientai išgyvenę 1 mėn. turėjo statistiškai reikšmingą sumažėjimą CIV aktyvume 1 d. (atitinkamai 0.10 vs. 0.27 $p < 0.001$), 4 d. (atitinkamai 0.07 vs. 0.29 $p < 0.001$) ir 8 d. (atitinkamai 0.06 vs. 0.59 $p < 0.01$), bei mažesnę proporciją tiriamųjų, kurių CIV aktyvumas kilo (atitinkamai 29.7% vs. 55% - 60/109 vs. 11/37), nei pacientai išgyvenę 6 mėnesius [17]. Trečiajame tyrime L. Lorente ir kt. pirmųjų dviejų tyrimų pokyčius siejo su mtDNR genotipo variacijomis (vadinamomis haplogrupėmis), nes ji yra atsakinga už CIV komponentų kodavimą mitochondrijose. Ištirtos trys dažniausios haplogrupės (JT, HV ir U), jų ryšys su CIV aktyvumu ir kiekybe (išreikštą per jų santykį su citrato sintazės aktyvumu, atitinkamai CIVa/CSa ir CIVq/CSa) bei tiriamųjų išgyvenamumu 1 mėn. laikotarpyje. JT haplogrupėje atrastas statistiškai reikšmingai aukštesnis CIVq/CSa aktyvumas, nei kitose haplogrupėse 4 (JT CIVq/CSa – 3.10; HV, U – 1.67 $p < 0.004$) ir 8 d. (JT CIVq/CSa santykis – 3.39; HV, U 1.67 $p < 0.002$). Atlikus logistinę gautų duomenų regresiją, JT haplogrupėje taip pat atrastas didesnis 1 mėn. išgyvenamumas. Kitose haplogrupėse nerasta statistiškai reikšmingų pokyčių [24].

A. Protti ir kt. norėjo įvertinti trombocitų efektyvumą kaip mitochondrijų disfunkcijos žymenį sepsio metu. Palyginimui buvo paimtas *triceps brachii* raumens audinys, kuris dažnai naudojamas mitochondrijų biocheminėms reakcijoms tirti. Pirmąją tyrimo dieną septinių pacientų CI (atitinkamai sveikų 10% vs. septinių 7% $p < 0.018$), CII+CIII (140% vs. 80% $p = 0.672$), CI+CIII (10% vs. 9% $p < 0.001$) ir CIV (30% vs. 20% $p < 0.012$) aktyvumai buvo sumažėję, santykyje su CS aktyvumu, kuris buvo išaugęs, palyginus su sveikąja kohorta. Septintąją dieną šis sumažėjimas buvo likęs tik CI komplekse. Taip pat, respiracinės grandinės fermentų slopinimas buvo reikšmingai ryškesnis pas neišgyvenusius pacientus [16]. F. Sjøvall ir kt. ieškojo trombocitų respiracinės funkcijos pokyčių laiko eigoje. Mėginiai paimti 1 (T1), 3-4 (T2), ir 6-7 (T3) d. po stacionarizavimo, ir suskirstyti į keturias grupes: 1) intaktines ląsteles savo plazmoje, 2) intaktines ląsteles fosfatiniame gliukozės tirpale, 3) permeabilizuotos ląstelės savo plazmoje, ir 4) permeabilizuotos ląstelės fosfatiniame gliukozės tirpale. Pirmoje grupėje, po endogeninės stimuliacijos (V_{max}), O_2 suvartojimas išaugo 29% nuo T1 iki T3 (20.6 ± 1.2 vs. 26.7 ± 2.1 $\text{pmol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot 10^{-6}$ trombocitų, $p < 0.05$) ir 45% antrojoje grupėje (18.9 ± 1.4 vs. 27.4 ± 2.2 $\text{pmol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot 10^{-6}$ trombocitų, $p < 0.05$), o tai buvo statistiškai reikšmingas sumažėjimas palyginus su sveikąja kohorta, atitinkamai 60% savo plazmoje (16.7 ± 0.8 vs. 26.7 ± 2.1 $\text{pmol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot 10^{-6}$ trombocitų, $p < 0.05$) ir 85% fosfatiniame gliukozės tirpale (15 ± 0.8 vs. 27.4 ± 2.2 $\text{pmol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot 10^{-6}$ trombocitų $p < 0.05$). Permeabilizuotų ląstelių fosfatiniame gliukozės tirpale buvo respiracinės gebos augimas nuo T1 iki T3, ypač neišgyvenusiųjų pogrupyje, kas parodo, jog septiniai sutrikimai sepsio metu yra sąlygojami plazmos faktorių [23]. A. Puskarich ir kt. tyrimas atrado statistiškai reikšmingai aukštesnį V_0 ir V_{max} tarp išgyvenusių ir neišgyvenusių pacientų ankstyvame. ($p=0.02$ atitinkamai išgyvenę 13 vs. neišgyvenę 9 $\text{pmol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot 10^{-6}$ trombocitų $p < 0.02$; ir 13 vs. 17.5 $\text{pmol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot 10^{-6}$ trombocitų $p < 0.04$). Papildomai tirtos V_0 ir V_{max} koreliacijos su laktoto/piruvato santykiu ir vazopresorių naudojimu, bei pokyčiai V_4 , tačiau statistiškai reikšmingų sąsajų nerasta [21].

Rezultatų aptarimas

Į sisteminę literatūros apžvalgą įtraukta 14 straipsnių, 8 iš jų tyrė mononuklearines periferinio kraujo ląsteles, 6 trombocitus.

Mononuklearinių ląstelių tyrimuose bendras išvados apie bazinį O_2 suvartojimą padaryti sunku, dėl prieštaringų rezultatų, tačiau svarbu paminėti – V_0 priaugę atradusiuose straipsniuose [13,15] ląstelių matavimai atlikti septinės plazmos terpėje, o kituose tyrimuose [9;18;22] – specialiuose tirpaluose. Kiekviename tyrime buvo sumažėjusi respiracinė ląstelių geba, nepriklausomai nuo bazinio deguonies suvartojimo. T.M. Merz tyrimas parodo ląstelių populiacijų išskyrimą mononuklearinių septinių ląstelių tyrimuose, nes atskiros ląstelių šeimos turėjo skirtingus rezultatus. Plazmos faktorius vertinantys tyrimai [9;13] abu atrado statistiškai reikšmingą sumažėjimą elektronų transporto grandinės funkcijoje, kas leistų daryti prielaidą jog šie yra svarbus veiksnys kraujo ląstelių mitochondrijų disfunkcijos patogenezėje, prie ko prisideda ir F. Sjøvall tyrimas, kuris rodė analogiškus pokyčius jiems, nors ir neieškojo plazmos įtakos, nes inkubavo septines ląsteles savo plazmoje. Mitochondrijų membranos potencialas taip pat galėtų būti ligos baigties vertinimo faktorius, nes jo kitimo tendencijos kartais reikšmingai, kartais nereikšmingai, koreliavo su organų nepakankamumo sunkumu, ir jis, ir mitochondrijų motiliškumas galėtų būti klinikinis sepsio eigos vertinimo faktorius ateityje, tačiau ši kryptis reikalauja daugiau tyrimų. Visuose trombocitų mitochondrijų pokyčius apžvelgusiuose publikacijose vyrauja elektronų transporto grandinės komponentų veiklos disfunkcija mitochondrijose. Svarbus radinys - skirtumas tarp išgyvenusių ir neišgyvenusių pacientų pogrupių, tačiau kliniškai reikšmingoms išvadoms padaryti reikia išsamesnių tyrimų tiriančius ne pačius trombocitus, bet jų sąveika su plazmos faktoriais, genotipu ir kitais veiksniais.

Vienas pagrindinių šios literatūros apžvalgos trūkumų – metodikų skirtumai tarp tyrimų, kurie apsunkina mitochondrijų pokyčių vertinimą, ir neleidžia atskirti, ar radikaliai skirtingi rezultatai yra metodinių skirtumų ar klaidų tyrimo procese pasekmė. Svarbu suvienodinti kraujo ląstelių mitochondrijų paėmimo, inkubacijos ir matavimo metodikas, norint šios krypties tyrimų eigos progresavimo. Kitas trūkumas – plati tematika, tolimesnėms literatūros apžvalgoms patariama telktis į vieną ląstelių subpopuliaciją (T limfocitus, B limfocitus, granulocitus, trombocitus), dėl skirtingos kiekvienos iš jų bioenergetikos.

Išvados

1. Mitochondrijų pokyčiai ir juos įtakojantys veiksniai:

- Mononuklearinėse ląstelėse ir trombocituose sepsio metu sumažėja atsarginė kvėpuojamoji geba, kartu nukenčia ir elektronų transporto grandinės komponentų aktyvumas, nepriklausomai nuo bazinio deguonies suvartojimo
- Mitochondrijų motiliškumas ir membranos depoliarizacija sepsio metu išauga, o pastarasis rodiklis turi ryšį su ligos sunkumu.
- Pagrindinis šiuos pokyčius įtakojantis veiksnys yra plazmos faktoriai, ir yra įrodymų, jog individualūs skirtumai tarp citokinų ekspresijos gali nulemti ligos eigą, bet tai reikalauja tolimesnių tyrimų.

2. Neišgyvenę septiniai pacientai rodė labiau sumažėjusį O_2 suvartojimą, sumažėjusią membranos depoliarizaciją ir susilpnėjusią elektronų transporto grandinės veiklą nei išgyvenę pacientai, o septiniai pacientai atgavę organų funkciją iki septintos dienos turėjo aukštesnį membranos potencialą, nei atgavę jį vėliau, todėl ateityje šie rodikliai galėtų būti naudojami ligos sunkumui įvertinti.

Praktinės rekomendacijos

- Tolimesniems tyrimams su mononuklearinėmis ląstelėmis susitelkti į atskiras imuninių ląstelių populiacijas (monocitus, T limfocitus, B limfocitus), kadangi kiekviena iš jų gali turėti atskirą mitochondrijų funkcijos sutrikimo pobūdį, kuris iškreipiamas tiriant ląsteles bendrai.
- Tiriamųjų imčių didinimas, septinių pacientų skirstymas į pogrupius pagal patologijos eigą ar baigtis, bei septinių kraujo elementų tyrimų metodikos homogenizacija padėtų išvengti statistiškai nereikšmingų ar prieštaringų rezultatų.
- Šiuo metu naudoti mononuklearinių ląstelių ir trombocitų pokyčius sepsio metu kaip sindromo eigos nuspėjamuosius rodiklius nėra praktiška dėl finansinių ir laiko kaštų, tačiau išstobulinus dabar vykdomų tyrimų metodikas, ateityje jos gali įsitvirtinti kaip gydymo efektyvumo ir ligos eigos rodikliai.

Literatūros sąrašas

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA - J Am Med Assoc.* 2016;315(8):801–10.
2. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NKJ, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis current estimates and limitations. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016;193(3):259–72.
3. Higienos institutas Sveikatos informacijos centras Mirties priežastys. 2017; Available from: www.hi.lt
4. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, et al. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study. *Crit Care Med.* 2006;34(2):344–53.
5. Clermont G, Lidicker J, Angus DC, Pinsky MR, Carcillo J, Linde-Zwirble WT. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2003;29(7):1303–10.
6. Cohen J, Vincent JL, Adhikari NKJ, Machado FR, Angus DC, Calandra T, et al. Sepsis: A roadmap for future research. *Lancet Infect Dis [Internet].* 2015;15(5):581–614. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)70112-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)70112-X)
7. Gomez A, Gomez H, Deutschman CS, Arulkumaran N, Pinsky MR, Murray P, et al. Mitochondrial Function in Sepsis. *Shock.* 2016;45(3):271–81.
8. Remick DG. The Pathogenesis of Sepsis. *Ann Intern Med [Internet].* 2013;115(6):19– 48. Available from: <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-115-6-457>
9. Garrabou G, Morén C, López S, Tobías E, Cardellach F, Miró Ò, et al. The effects of sepsis on mitochondria. *J Infect Dis.* 2012;205(3):392–400.

10. Orban JC, Re L, Felsmann K, Iffert W, Bauer M, Carre JE, et al. Survival in critical illness is associated with early activation of mitochondrial biogenesis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2010;182(6):745–51. Available from: [papers://6f409a40-5f13-4f97-a4b2-f7a459109efd/Paper/p6103](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2010/182(6):745-51/)
11. Kohoutová M, Dejmek J, Tůma Z, Kuncová J. Variability of mitochondrial respiration in relation to sepsis-induced multiple organ dysfunction. *Physiol Res* [Internet]. 2018;67(Supplementum 4):S577–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30607965>
12. Park DW, Zmijewski JW. Mitochondrial Dysfunction and Immune Cell Metabolism in Sepsis. *Infect Chemother*. 2017 Mar;49(1):10–21.
13. Belikova I, Lukaszewicz AC, Faivre V, Damoiseil C, Singer M, Payen D. Oxygen consumption of human peripheral blood mononuclear cells in severe human sepsis. *Crit Care Med*. 2007;35(12):2702–8.
14. Japiassú AM, Santiago APSA, d'Avila J da CP, Garcia-Souza LF, Galina A, Castro Faria-Neto HC, et al. Bioenergetic failure of human peripheral blood monocytes in patients with septic shock is mediated by reduced F1Fo adenosine-5'-triphosphate synthase activity*. *Crit Care Med* [Internet]. 2011 May [cited 2019 Apr 6];39(5):1056–63. Available from <https://insights.ovid.com/crossref?an=00003246-201105000-00019>
15. Sjövall F, Morota S, Persson J, Hansson MJ, Elmér E. Patients with sepsis exhibit increased mitochondrial respiratory capacity in peripheral blood immune cells. *Crit Care* [Internet]. 2013 [cited 2019 Apr 6];17(4):R152. Available from: <http://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/cc12831>
16. Protti A, Fortunato F, Caspani ML, Pluderi M, Lucchini V, Grimoldi N, et al. Mitochondrial changes in platelets are not related to those in skeletal muscle during human septic shock. *PloS One*. 2014;9(5):e96205.

17. Lorente L, Martin MM, Lopez-Gallardo E, Iceta R, Blanquer J, Sole-Violan J, et al. Higher platelet cytochrome oxidase specific activity in surviving than in non-surviving septic patients. *Crit Care*. 2014 Jun;18(3):R136.
18. Weiss SL, Selak MA, Tuluc F, Perales Villarroel J, Nadkarni VM, Deutschman CS, et al. Mitochondrial Dysfunction in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Pediatric Septic Shock*. *Pediatr Crit Care Med* [Internet]. 2015 Jan [cited 2019 Apr 6];16(1):e4–12. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00130478-201501000-00025>
19. Lorente L, Martin MM, Lopez-Gallardo E, Blanquer J, Sole-Violan J, Labarta L, et al. Decrease of oxidative phosphorylation system function in severe septic patients. *J Crit Care*. 2015 Oct;30(5):935
20. Adrie C, Bachelet M, Vayssier-Taussat M, Russo-Marie F, Bouchaert I, Adib-Conquy M, et al. Mitochondrial membrane potential and apoptosis peripheral blood monocytes in severe human sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Aug;164(3):389–95.
21. Puskarich MA, Kline JA, Watts JA, Shirey K, Hosler J, Jones AE. Early alterations in platelet mitochondrial function are associated with survival and organ failure in patients with septic shock. *J Crit Care*. 2016 Feb;31(1):63–7.
22. Merz TM, Pereira AJ, Schürch R, Schefold JC, Jakob SM, Takala J, et al. Mitochondrial function of immune cells in septic shock: A prospective observational cohort study. *PLoS One*. 2017;12(6):1–18.
23. Sjövall F, Morota S, Hansson MJ, Friberg H, Gnaiger E, Elmér E. Temporal increase of platelet mitochondrial respiration is negatively associated with clinical outcome in patients with sepsis. *Crit Care* [Internet]. 2010;14(6):R214. Available from: <http://ccforum.com/content/14/6/R214>

24. Lorente L, Iceta R, Martin MM, Lopez-Gallardo E, Sole-Violan J, Blanquer J, et al. Survival and mitochondrial function in septic patients according to mitochondrial DNA haplogroup. *Crit Care*. 2012 Jan;16(1):R10.
25. Jang DH, Greenwood JC, Owiredu S, Ranganathan A, Eckmann DM. Mitochondrial networking in human blood cells with application in acute care illnesses. *Mitochondrion* [Internet]. 2019 Jan [cited 2019 Apr 6];44:27–34. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567724917302271>
26. Kumari A. Electron Transport Chain. *Sweet Biochem* [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2020 Apr 1];13–6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128144534000030>
27. Gnaiger E (2014) Mitochondrial pathways and respiratory control. An introduction to OXPHOS analysis. 4th ed. *Mitochondr Physiol Network* 19.12. Oroboros MiPNet Publications, Innsbruck:80 pp.
28. *J Biol Chem*. 1955. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. III. The steady state. [online] 20 Mar (1), pp.409-427. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13271404> [Accessed April 2020].
29. Nicholas D, Proctor EA, Raval FM, Ip BC, Habib C, Ritou E, et al. Advances in the quantification of mitochondrial function in primary human immune cells through extracellular flux analysis. *PLoS One*. 2017;12(2):1–19.
30. Kramer PA, Ravi S, Chacko B, Johnson MS, Darley-Usmar VM. A review of the mitochondrial and glycolytic metabolism in human platelets and leukocytes: Implications for their use as bioenergetic biomarkers. *Redox Biol* [Internet]. 2014;2(1):206–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.026>
31. Zharikov S, Shiva S. Platelet mitochondrial function: from regulation of thrombosis to Biomarker of disease. *Biochem Soc Trans* [Internet]. 2013 Jan 29;41(1):118–23. Available from: <https://doi.org/10.1042/BST20120327>

32. Morton JC, Armstrong JA, Sud A, Tepikin A V., Sutton R, Criddle DN. Altered Bioenergetics of Blood Cell Sub-Populations in Acute Pancreatitis Patients. *J Clin Med*. 2019;8(12):220 Available from: <https://doi.org/10.3390/jcm8122201>
33. Schmidt-Rohr K. Oxygen Is the High-Energy Molecule Powering Complex Multicellular Life: Fundamental Corrections to Traditional Bioenergetics. *ACS Omega*. 2020;5(5):2221–33.
34. Gnaiger E, Asander Frostner E, Ehinger J, Elmer E, Piel S, et al Mitochondrial respiratory states and rates. *MitoFit Preprint Arch* 2019; doi:10.26124/mitofit:190001.v6.
35. Ahmad M, Kahwaji CI. Biochemistry, Electron Transport Chain. [Updated 2018 Oct 27]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526105/>