



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Сузана Г. Живојиновић

**УТИЦАЈ СУПЛЕМЕНТАЦИЈЕ ОМЕГА-3 МАСНИМ
КИСЕЛИНАМА НА РЕДОКС СТАТУС,
СЕРУМСКУ КОНЦЕНТРАЦИЈУ ИНТЕРЛЕУКИНА-33
И ДЕНЗИТЕТ НЕУРОСОНОГРАФСКИХ НАЛАЗА
КОД ПРЕВРЕМЕНО РОЂЕНЕ ДЕЦЕ**

докторска дисертација

Крагујевац, 2026.



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Suzana G. Živojinović

**UTICAJ SUPLEMENTACIJE OMEGA-3 MASNIM
KISELINAMA NA REDOKS STATUS,
SERUMSKU KONCENTRACIJU INTERLEUKINA-33
I DENZITET NEUROSONOGRAFSKIH NALAZA
KOD PREVREMENO ROĐENE DECE**

doktorska disertacija

Kragujevac, 2026.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Suzana G. Zivojinovic

**EFFECT OF OMEGA-3 FATTY ACID SUPPLEMENTATION ON
REDOX STATUS, SERUM INTERLEUKIN-33 CONCENTRATION,
AND NEUROSONOGRAPHIC FINDINGS IN PRETERM INFANTS**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2026.

Аутор
Име и презиме: Сузана Живојиновић
Датум и место рођења: 09.03.1985. године, Крагујевац
Садашње запослење: <ul style="list-style-type: none"> - асистент за ужу научну област Педијатрија, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу; - педијатар-неонатолог, Центар за неонатологију, Клиника за педијатрију, УКЦ Крагујевац
Докторска дисертација
Наслов: Утицај суплементације омега-3 масним киселинама на редокс статус, серумску концентрацију интерлеукина-33 и дензитет неуросонографских налаза код превремено рођене деце
Број страница: 125
Број слика: 14, број графикона: 8, број табела: 35
Број библиографских података: 199
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Центар за неонатологију, Клиника за педијатрију, УКЦ Крагујевац
Научна област (УДК): Медицинске науке
Ментор: др Драгана Савић, ванредни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Педијатрија
Датум пријаве теме: 20.10.2023.
Број и датум одлуке Већа универзитета о прихватању теме докторске дисертације: IV-03-181/17; 18.03.2024.

Autor
Ime i prezime: Suzana Živojinović
Datum i mesto rođenja: 09.03.1985. godine, Kragujevac
Sadašnje zaposlenje: <ul style="list-style-type: none"> - asistent za užu naučnu oblast Pedijatrija, Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu; - perijatar-neonatolog, Centar za neonatologiju, Klinika za pedijatriju, UKC Kragujevac
Doktorska disertacija
Naslov: Uticaj suplementacije omega-3 masnim kiselinama na redoks status, serumsku koncentraciju interleukina-33 i denzitet neurosonografskih nalaza kod prevremeno rođene dece
Broj stranica: 125
Broj slika: 14, broj grafikona: 8, broj tabela: 35
Broj bibliografskih podataka: 199
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu, Centar za neonatologiju, Klinika za pedijatriju, UKC Kragujevac
Naučna oblast (UDK): Medicinske nauke
Mentor: dr Dragana Savić, vanredni profesor Fakulteta medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu, za užu naučnu oblast Pedijatrija
Datum prijave teme: 20.10.2023.
Broj i datum odluke Veća univerziteta o prihvatanju teme doktorske disertacije: IV-03-181/17; 18.03.2024.

Author
Name and surname: Suzana Zivojinovic
Date and place of birth: March 9, 1985 Kragujevac
Current employment:
- Teaching Assistant in Pediatrics, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac;
- Pediatrician-Neonatologist at the Neonatology Center, Pediatric Clinic, University Clinical Center Kragujevac
Doctoral Dissertation
Title: Effect of Omega-3 Fatty Acid Supplementation on Redox Status, Serum Interleukin-33 Concentration, and Neurosonographic Findings in Preterm Infants
No. of pages: 125
No. of images: 14, No. of graphs: 8, No of tables: 35
No. of bibliographic data: 199
Institution and place of work:
Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac;
Center for Neonatology, Pediatric Clinic, University Clinical Center Kragujevac
Scientific area (UDK): Medical sciences
Mentor: Dragana Savic, M.D., Ph.D. Assistant Professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac for the narrower scientific field of Pediatrics
Topic Application Date: October 20, 2023
Decision number and date of acceptance of the doctoral dissertation topic: IV-03-181/17; March 18, 2024

Ова докторска дисертација реализована је у Центру за неонатологију, Клинике за педијатрију, Универзитетског клиничког центра у Крагујевцу.

Тему докторске дисертације предложила је и као ментор водила др Драгана Савић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, којој се овом приликом захваљујем.

Неизмерно се захваљујем проф. др Сузани Петровић Савић и доц. др Николи Продановићу на сртучним саветима и подрици коју су ми пружили током израде овог рада.

Најискреније се захваљујем проф. др Александри Симовић на свим сугестијама и коментарима које је дала приликом прегледа и оцене рада.

Посебну захвалност дугујем Катедри за физиологију Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, а нарочито проф.др Јовани Јоксимовић Јовић, проф. др Ивану Срејовићу и проф. др Владимиру Живковићу.

Велико хвала др Јелени Степановић на саветима и безусловној подрици током писања и уређивања рада.

Највећу захвалност дугујем својој продици, мајци Драгици, оцу Градимиру и брату Марку, а посебно супругу Ненаду и ћеркама Миони и Нини, који су мој највећи ослонац и извор снаге да истрајем у свим тешким моментима.

Сажетак

Увод: Докозахексаенска киселина, најзаступљенија омега-3 масна киселина у мозгу, својим неуропротективним, антиинфламаторним и антиоксидационим дејством има важну улогу у неуроразвоју и заштити мозга, посебно код превремено рођене новорођенчади изложене оксидационом стресу.

Циљ: Испитивање ефеката тромесечне суплементације омега-3 масним киселинама на редокс статус, серумску концентрацију интерлеукина-33 и дензитет неуросонографских налаза код превремено рођене новорођенчади.

Материјал и методе: Истраживање је спроведено као проспективна, клиничка студија типа „случај-контрола” у периоду од две године. У студију су укључена превремено рођена новорођенчад са знацима хипоксично-исхемијске лезије мозга, хоспитализована у Одељењу интензивне неонаталне неге Центра за неонатологију, Крагујевац. Терапијску групу чинило је 68 пацијената којима је суплементација омега-3 започета 8. дана живота, а контролну 66 пацијената без или са суплементацијом уведеном по отпусту. Узорковање крви и неуросонографски преглед обављени су у 1. дану, 7. дану и након 3. месеца живота.

Резултати: Тромесечна омега-3 суплементација довела је до пада вредности прооксидационих маркера O_2^- и H_2O_2 , уз пораст активности каталазе. У трећем месецу живота забележен је пораст серумске концентрације IL-33, као и висок проценат уредних трансфонтанеларних ултрасонографских налаза у обе испитиване групе. Вредности прооксидационих маркера (O_2^- и TBARS) и каталазе биле су више код пацијената са тежим облицима перивентрикуларне леукомалације, а концентрација IL-33 код пацијената са патолошким неуросонографским налазом.

Закључак: Примена омега-3 масних киселина код превремено рођене новорођенчади могла би представљати потенцијалну меру за смањење неуролошких последица и превенцију обољења у којима доминирају оксидациони и инфламаторни процеси.

Кључне речи: превремено рођена новорођенчад, омега -3 масне киселине, оксидациони стрес, интерлеукин-33, неуросонографски налаз, конволутивна неуронска мрежа

Abstract

Introduction: Docosahexaenoic acid, the predominant omega-3 fatty acid in the brain, possesses neuroprotective, anti-inflammatory, and antioxidant properties, and plays an important role in neurodevelopment and brain protection, especially in preterm infants

Aim: The primary aim of this study is to assess the impact of three-month omega-3 supplementation on redox status, serum interleukin-33 concentration, and neurosonographic findings in preterm infants.

Materials and methods: This prospective case-control clinical study was conducted over a two-year period and included preterm newborns with hypoxic–ischemic brain injury admitted to the Neonatal Intensive Care Unit of the Neonatology Centre in Kragujevac. The therapeutic group consisted of 68 infants who started omega-3 supplementation on the 8th day of life, while the control group comprised 66 infants who either did not receive supplementation or began it after discharge. Blood samples and cranial ultrasonography were performed on the 1st day, 7th day, and at 3 months of age.

Results: Three months of omega-3 supplementation led to decreased pro-oxidative markers (O_2^- and H_2O_2) and increased catalase activity. At three months of age, serum IL-33 concentration increased, and a high percentage of normal transfontanellar ultrasonographic findings was observed in both study groups. Values of pro-oxidative markers (O_2^- and TBARS) and catalase activity were higher in infants with more severe forms of periventricular leukomalacia, while IL-33 concentrations were elevated in those with pathological ultrasonographic findings.

Conclusion: Omega-3 fatty acid supplementation in preterm infants may help reduce neurological consequences and prevent diseases associated with oxidative and inflammatory processes.

Keywords: preterm infants, omega-3 fatty acids, oxidative stress, interleukin-33, cranial ultrasonography, convolutional neural network

Садржај

1	УВОД	1
1.1	Прематуритет	2
1.2	Ембрионални развој мозга	4
1.3	Рана церебрална оштећења код превремено рођене деце	5
1.3.1	Перивентрикуларна леукомалација	5
1.3.2	Перивентрикуларна/интравентрикуларна хеморагија	10
1.4	Оксидациони стрес и редокс равнотежа	12
1.4.1	Слободни радикали	12
1.4.2	Неонаталне болести повезане са оксидационим стресом	16
1.5	Интерлеукин-33	17
1.6	Омега-3 полинезасићене масне киселине	21
1.7	Савремени трендови у примени дубоког учења у неонатологији	23
2	ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ	26
2.1	Циљеви студије	27
2.2	Хипотезе испитивања	28
3	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	29
3.1	Врста студије	30
3.2	Популација која се истражује	30
3.3	Узорковање	31
3.3.1	Начин обраде узорака	31
3.3.2	Варијабле које су мерене у студији	32
3.4	Обрада неуросонографских слика	34
3.5	Снага студије и величина узорка	48
3.6	Статистичка обрада података	49

4	РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА	50
4.1	Демографске карактеристике пацијената при рођењу	51
4.2	Карактеристике зачећа, порођаја и начина исхране	52
4.3	Потреба за оксигенотерпијом и применом механичке вентилације	53
4.4	Приказ параметара добијених израдом гасних анализа капиларне артеријализоване крви новорођенчади	54
4.4.1	Вредности рН, респираторних гасова и параметара ацидо-базне равнотеже	54
4.4.2	Вредности електролита и глукозе	56
4.4.3	Концентрација хемоглобина, хематокрита и билирубина	57
4.5	Параметри комплетне крвне слике	58
4.6	Биохемијски параметри	60
4.7	Примена фототерапије и микробиолошке анализе	60
4.8	Ехокардиографски налаз	61
4.9	Параметри оксидационог стреса	61
4.9.1	Прооксидациони маркери у контролној групи	61
4.9.2	Прооксидациони маркери у терапијској групи	62
4.9.3	Анализа разлика у вредностима прооксидационих маркера између терапијске и контролне групе	64
4.10	Маркери антиоксидационе заштите	65
4.10.1	Маркери антиоксидационе заштите у контролној групи	65
4.10.2	Маркери антиоксидационе заштите у терапијској групи	66
4.10.3	Анализа разлика у вредностима маркера антиоксидационе заштите између терапијске и контролне групе	67
4.11	Серумска концентрација интерлеукина-33	68
4.11.1	Серумска концентрација IL-33 у контролној и терапијској групи	68
4.11.2	Анализа разлика у концентрацији IL-33 између терапијске и контролне групе	69
4.12	Неуросонографски налаз у односу на групу пацијената	70
4.12.1	Неуросонографски налаз у односу на групу пацијената, 1. дана	70
4.12.2	Неуросонографски налаз у односу на групу пацијената, 7. дана	71

4.12.3	Неуросонографски налаз у односу на групу пацијената, 3. месеца	72
4.13	Повезаност неуросонографског налаза са вредностима прооксидационих маркера и маркера антиоксидационе заштите	72
4.13.1	Повезаност неуросонографског налаза са вредностима прооксидационих маркера, 1. дана	72
4.13.2	Повезаност неуросонографског налаза са вредностима прооксидационих маркера, 7. дана	75
4.13.3	Повезаност неуросонографског налаза са вредностима прооксидационих маркера, 3. месеца	78
4.13.4	Повезаност неуросонографског налаза са вредностима маркера антиоксидационе заштите, 1. дана	81
4.13.5	Повезаност неуросонографског налаза са вредностима маркера антиоксидационе заштите, 7. дана	82
4.13.6	Повезаност неуросонографског налаза са вредностима маркера антиоксидационе заштите, 3. месеца	84
4.13.7	Повезаност неуросонографског налаза са вредностима IL-33	85
4.13.8	Анализа резултата CNN модела	86
5	ДИСКУСИЈА РЕЗУЛТАТА	89
6	ЗАКЉУЧАК	101
7	ЛИТЕРАТУРА	104
	Списак скраћеница	118
	Списак слика и графикона	121
	Списак табела	122
	Биографија	124
	Списак најзначајнијих научних радова	125

1 Увод

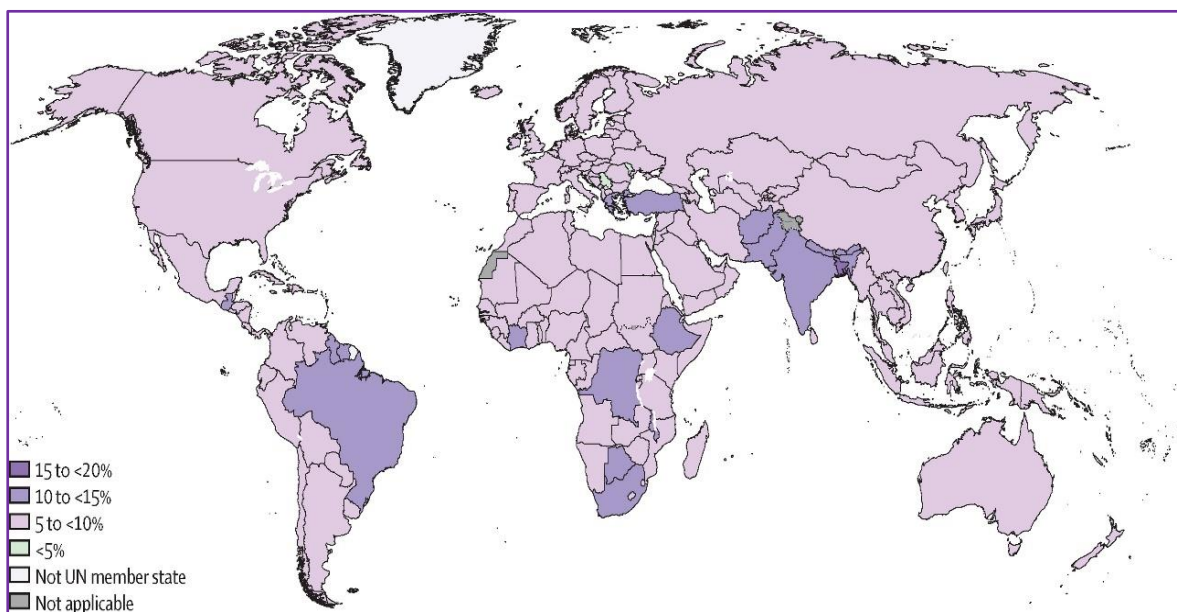
1.1 Прематуритет

Трудноћа представља сложено физиолошко стање које се дефинише као период од оплодње јајне ћелије до порођаја. Током тог периода у организму мајке настају бројне анатомске, хормонске и метаболичке промене, усмерене на обезбеђивање оптималних услова за раст и развој фетуса, као и на формирање постељице која омогућава снабдевање плода хранљивим материјама и одржавање трудноће [1].

Физиолошка трудноћа траје између 259 и 294 дана, односно од почетка 37 0/7 недеље до краја 41 6/7 недеље гестације (ГН). Гестацијска зрелост плода процењује се у недељама рачунајући од првог дана последње менструације мајке [1].

Према дефиницији Светске здравствене организације (СЗО) перинатални период почиње са навршене 22 недеље гестације и траје до краја прве постнаталне недеље. Неонатални период започиње рођењем и обухвата првих 28 дана живота новорођенчета.

Превремено рођење се дефинише као рођење пре навршене 37. недеље гестације [1]. Резултати темељно спроведене десетогодишње (2010. – 2020.) студије Охуме (*Ohuma*) и сарадника, из 2023. године, су показали да је глобална годишња стопа превременог рођења смањена за 0,14%. Процењује се да је број прематуруса широм света у 2020. години износио 13,4 милиона, (9,9% од свих новорођенчади), а у 2010. години 13,8 милиона (са интервалом вероватноће од 95%). На Слици 1.1 дат је приказ глобалне преваленце превременог порођаја у 2020. години [2].



Слика 1.1 Глобална стопа превременог порођаја у 2020. години [преузето из 2].

Данас, развој медицине и медицинских технологија осигурава бољи пренатални исход превремено рођене деце. Званичан податак СЗО из 2020. године указује да се на светском нивоу стопа превременог порођаја кретала од 4 до 16% [3]. У нашој земљи се годишње роди око 6,5% прематуруса (статистички податак из 2020. године) [4].

Кључни параметри према којима је извршена класификација прематуритета су:

- гестациска недеља,
- порођајна телесна маса (ПТМ) и
- поређење порођајне телесне масе и гестациске недеље.

Приказ наведених класификација превремено рођених новорођенчади је дат у Табели 1.1 [5–8].

Табела 1.1 Класификација превремено рођених новорођенчади према (А) гестациској недељи, (Б) порођајној телесној маси и (В) комбиновано, гестациској недељи и порођајној телесној маси

А Класификација према гестациској недељи	
<i>Новорођенчад</i>	ГН
Екстремно претерминска	< 28
Веома рано претерминска	28 – < 32
Умерено претерминска	32 – < 34
Касно претерминска	34 – < 37
Б Класификација према порођајној телесној маси	
<i>Новорођенчад</i>	ПТМ
Микропрематурна новорођенчад	< 800 g
Претерминска екстремно мале порођајне масе (<i>engl. extremely low birth weight</i>)	< 1000 g
Претерминска веома мале порођајне масе (<i>engl. very low birth weight</i>)	< 1500 g
Претерминска мале порођајне масе (<i>engl. low birth weight</i>)	< 2500 g
В Класификација према гестациској недељи и порођајној телесној маси	
<i>Новорођенчад</i>	ГН и ПТМ
Мала за гестациску старост (<i>engl. small for gestational age</i>)	ПТМ < 10. перцентила за гестациску
Велика за гестациску старост (<i>engl. large for gestational age</i>)	ПТМ > 90. перцентила за гестациску
Одговарајућа за гестациску старост (<i>engl. appropriate for gestational age</i>)	ПТМ одговара гестациској

Прематуритет представља водећи узрок неонаталног морбидитета и морталитета на светском нивоу и чини 60 – 80 % од укупне смртности новорођенчади без удружених конгениталних аномалија. Подаци Светске здравствене организације из 2019. године указују да је деветсто хиљада новорођенчади умрло услед последица превременог рођења [9].

Фактори ризика за настанак превременог порођаја су многобројни. Најзначајнији су генетска предиспозиција, године мајке, расна припадност, социо-економски статус, неадекватна исхрана, пушење, злоупотреба супстанци, хипертензија, дијабетес, инфекције и други. Поред наведених, значајан утицај могу имати и малформације плаценте и материце, као и аномалије плода [10,11].

Најчешће болести које се повезују са прематуритетом су респираторни дистрес синдром (РДС), сепса, интракранијална хеморагија, некротизирајући ентероколитис (НЕК), отворени ductus arteriosus (engl. *patent ductus arteriosus*, PDA), бронхопулмонална дисплазија (БПД), анемија и друге [12].

1.2 Ембрионални развој мозга

Интраутерини развој плода представља континуиран процес који се одвија од момента оплођења до рођења. Може се поделити у три стадијума:

- ембрионални период (од оплођења до краја 8. недеље),
- рани фетални период (од 9. до 28. недеље) и
- касни фетални период (од 28. недеље до рођења).

Ембрион за време гаструлације садржи три клицина листића (ендодерм, мезодерм и ектодерм) из којих ће се у процесу органогенезе формирати сва ткива и органи. Унутрашњи слој гастреле представља ендодерм, из кога настају унутрашњи органи, средњи слој је мезодерм, из кога се формирају мишићи, везивно ткиво и кости, док спољашњи слој чини ектодерм чијом диференцијацијом настају нервни систем и кожа [10].

Развој централног нервног система (ЦНС) започиње у трећој недељи гестације и одвија се кроз неколико фаза: неурална индукција, неуролација, прозенцефална фаза и формирање хемисфера, пролиферација и миграција неурона, програмирана ћелијска смрт, синаптогенеза, глиогенеза, мијелинизација и ангиогенеза.

Први вид ембрионалне индукције је неуролација. То је процес у току којег се одвија формирање и моделирање неуралне плоче, као и стварање неуралног жлеба чијим затварањем настаје неурална цев. Неурална цев садржи предњи и задњи отвор, неуропоре. Предња неуропора се затвара око 24. дана а задња око 26. дана гестације. Предњи део неуралне цеви се диференцира у три примарна мождана мехура (прозенцефалон, мезенцефалон, ромбенцефалон). Из задњег дела неуралне цеви настаје кичмена мождина. У периоду од 5. до 10. недеље гестације одвија се прозенцефална фаза и формирање хемисфера. Пролиферацијом ћелија из тзв. „вентрикуларне зоне” настају неуроепителне ћелије које су претеча свих неурона и макгролије. Процењује се да мозак одрасле особе садржи 3 – 100 милијарди неурона [10]. Следећа фаза је миграција неурона

дуж глијалних водича ка будућем кортексу. Одређен број ћелија залута током миграције након чега касније подлеже дегенерацији и смрти [13]. Када неурони заузму свој дефинитивни положај, започиње развој аксона и дендрита како би се омогућила веза са удаљеним можданим структурама. Синаптогенеза започиње од 6. до 8. недеље гестације и наставља се постнатално све до касног одраслог доба. Током периода неурогенезе чак до 70% неурона бива елиминисано физиолошким процесом као што је програмирана ћелијска смрт [14,15]. Ћелије глије чине астроцити, олигодендроцити и микроглије. Њихова основна улога као потпорних ћелија ЦНС је да исхрањују неуроне, формирају мијелински омотач и штите нервне ћелије од патогена. Још увек нема детаљних података о ембрионалном развоју мождане васкулатуре, али се сматра да недостатак мускуларизације незрелих артерија повећава ризик од крварења из герминалног матрикса и беле мождане масе [10].

1.3 Рана церебрална оштећења код превремено рођене деце

Многобројна истраживања су потврдила да је стопа преживљавања превремено рођене деце, посебно екстремно незреле, значајно побољшана током последњих неколико деценија [9,10,12]. Ипак, код већине преживеле деце постоји повећан ризик од појаве неуроразвојних оштећења у каснијој животној доби. Најчешће промене које стоје у основи ових последица су повреда беле мождане масе и интравентрикуларна хеморагија, које могу довести до широког спектра неуролошких компликација као што су церебрална парализа, оштећења вида и слуха, као и различити когнитивни поремећаји.

1.3.1 Перивентрикуларна леукомалација

Превремено рођење носи значајан ризик од оштећења беле мождане масе плода, при чему су најугроженија новорођенчад рођена између 23. и 32. недеље гестације [16]. Термин перивентрикуларна леукомалација (ПВЛ) су први пут увели и окарактерисали Банкер (*Banker*) и Ларош (*Larroche*), 1962. године, на основу карактеристичних обдукционих налаза добијених код 20% новорођенчади чија је смрт наступила у првом месецу живота. Аутори су уједно дали и детаљан опис макроскопских и микроскопских неуропатолошких промена које дефинишу ово обољење [17].

Многобројни штетни фактори својим деловањем током пренаталног, перинаталног и постнаталног периода могу индуковати повреду беле мождане масе. Поједини од ових потенцијалних фактора могу бити довољни да изазову трајно оштећење мозга у развоју, али је највећи ризик присутан у случају ране изложености комбинацији два или више фактора из животне средине или у интеракцији са генетском предиспозицијом. Таква синергија значајно повећава подложност мозга накнадним оштећењима [10]. Сажета класификација кључних фактора потенцијално укључених у

патофизиологију лезија беле масе код превремено рођене деце приказана је у Табели 1.2 [10].

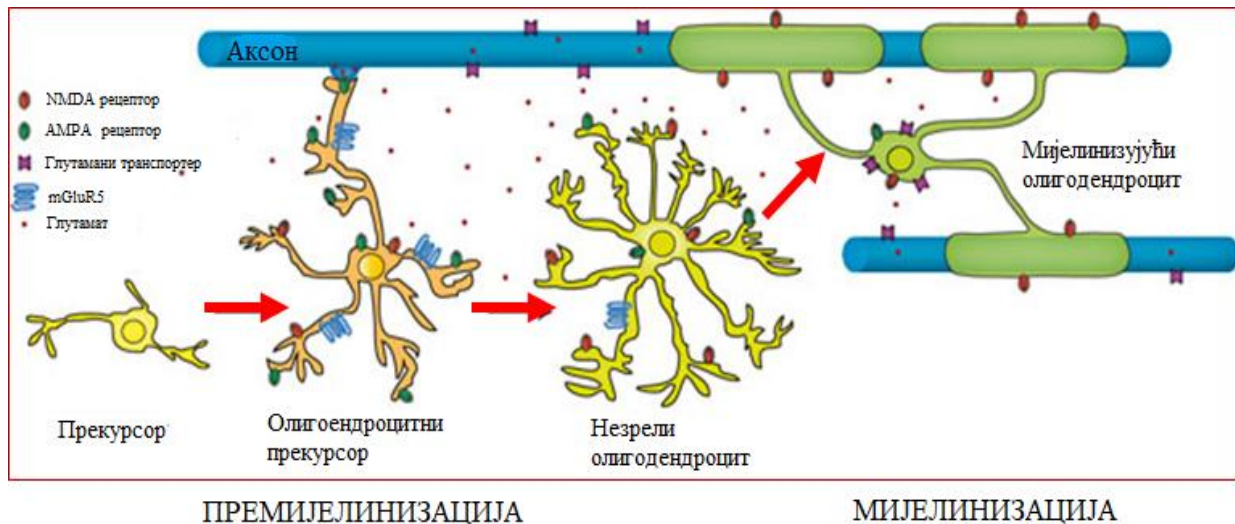
Табела 1.2 Категоризација фактора који индукују или моделирају лезије мозга превремено рођене деце [адаптирано из 10]

Пренатални фактори	Перинатални фактори	Постнатални фактори
Упала, цитокини	Хипоксија–исхемија	Оксидациони стрес
Хипоксија	Глутамат	Упала, цитокини
Оксидациони стрес	Оксидациони стрес	Губитак фактора раста мајке
Токсини	Упала, цитокини	Бол
Неухрањеност	Генетски фактори	Дрога
Стрес мајке/фетуса		Генетски фактори
Генетски фактори		

На основу неуропатолошког налаза оштећење беле масе мозга се може поделити у три патолошка облика: цистична некроза, микроскопска некроза и ненекротична лезија. Цистична некроза представља најтежу форму болести која је праћена деструктивном лезијом свих ћелијских елемената и развојем циста пречника већег од 2 mm. Захваљујући великом напретку перинаталне неге, последњих деценија се овакав вид повреде знатно ређе јавља са учесталошћу мањом од 5%. Микроскопска некроза, тзв. нецистична ПВЛ, је праћена појавом зона некрозе које су мање од 1 mm и временом еволуирају у зоне глиозе. Данас се најчешће јављају ненекротичне лезије које представљају дифузни облик оштећења. За разлику од ирверзибилних некротичних повреда које су последица смрти свих ћелијских елемената, у основи дифузних оштећења је дегенерација премијелинизирајућих олигодендроцита (pre-OL) и поремећај њиховог сазревања [18–20].

Кључну улогу у патогенези оштећења беле масе мозга имају процеси као што су хипоксија-исхемија и инфекција-инфламација, који доводе до оксидационог стреса, ексцитотоксичности посредоване глутаматом и стварања реактивних врста кисеоника (engl. *reactive oxygen species*, ROS), као и проинфламаторних медијатора. Хипоксично-исхемично повреде настају у фазама хипоксије, брадикардије и хипотензије услед неадекватне цереброваскуларне зрелости и ауторегулације. Исхемија изазива оштећење сиве моздане масе и настанак лезија пре свега код терминских новорођенчади. Многобројне студије спроведене на животињским моделима су показале да хипоксично-исхемичне повреде удружене са генетском предиспозицијом имају значајну улогу у оштећењу беле масе мозга превремено рођене деце [21,22]. Глутамат је примарни неуротрансмитер у ЦНС који регулише процесе у ембрионалном развоју мозга попут пролиферације, миграције и диференцијације неурона. Испољава снажно ексцитотоксично дејство везујући се за своје јонотропне рецепторе као што су *N*-метил-D-аспартат (NMDA) и α -амино-3-хидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионат (AMPA). Хипоперфузија доводи до ослобађања глутамата из оштећених ћелија, након

чега он делује као неуротоксин. Активација NMDA рецептора условљава рану активацију микроглије, макрофага и смрт ћелија астроцита, док активација AMPA рецептора индукује смрт преолигодендроцита [23]. На Слици 1.2 је шематски приказана функција глутаматних рецептора на мијелинизирајућим олигодендроцитима и ћелијама прекурсорима олигодендроцита [24].



Слика 1.2 Експресија глутаматског рецептора у ћелијама олигодендроцитне лозе [преузето из 24].

Глутамат и цистин користе исти транспортер, па вишак екстрацелуларног глутамата инхибира преузимање цистина и на тај начин ремети синтезу глутатиона, снажног ендемог антиоксиданса. Недостатак ћелијског глутатиона чини ћелије осетљивим на токсично дејство слободних радикала [25]. Примарна таргет ћелија у оштећењу беле масе је pre-OL. Експресија супероксид дизмутазе (engl. *superoxide dismutase*, SOD), SOD1 и SOD2 је знатно нижа код незрелих олигодендроцита између 20. и 29. ГН, што их чини подложним оштећењу и неспремним за кисеоник богато постнатално окружење [26]. Бак (*Back*) и сарадници су у својој студији пронашли повишене нивое F2-изопростана, корисног биомаркера липидне пероксидације у лезијама беле масе, али не и у можданој кори [27]. Даља испитивања су показала да овај биомаркер предвиђа оштећење беле мождане масе, али не предвиђа двогодишње исходе, истичући сложеност фактора који се односе на исте. Међутим, ова студија има знатна ограничења, попут мале величина узорка, што додатно ограничава могућност откривања значајне улоге других потенцијалних посредничких или интерактивних фактора на исход [26,28].

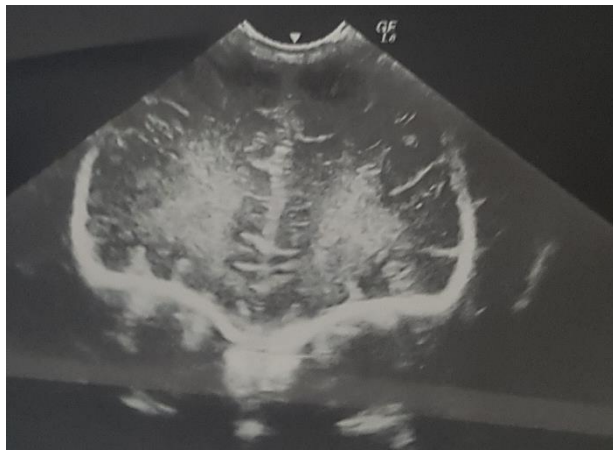
Најчешћи узрок настанка инфламације код превремено рођене деце су сепса и некротизирајући ентероколитис [21]. Инфламација је праћена активацијом микроглијалних ћелија путем Toll-like рецептора, који су важни урођени имуно рецептори који не само да упозоравају имунски систем на присуство микробне инвазије, већ и прилагођавају одговарајући имунски одговор патогену. Иницијално, активација

микроглијалних ћелија је неопходна за развој мозга, али продужена активација доводи до неуродегенерације. Активирана микроглија мигрира у оштећену регију ослобађајући проинфламаторне медијаторе који су одговорни за дегенерацију прекурсора олигодендроцита названих премијелинизирајући олигодендроцити [21]. Изостанак диференцијације pre-OL у зреле ћелије које стварају мијелин доводи до хипомијелинизације, водећег патофизиолошког процеса у оштећењу беле материје код недоношчади. Управо процес дисматурације има кључну улогу у настанку хроничних дифузних повреда беле мождане масе, које се данас и најчешће јављају. У току су испитивања која се баве проучавањем ефикасности примене блокатора хијалуронидазе као агенса који стимулишу сазревање pre-OL [21].

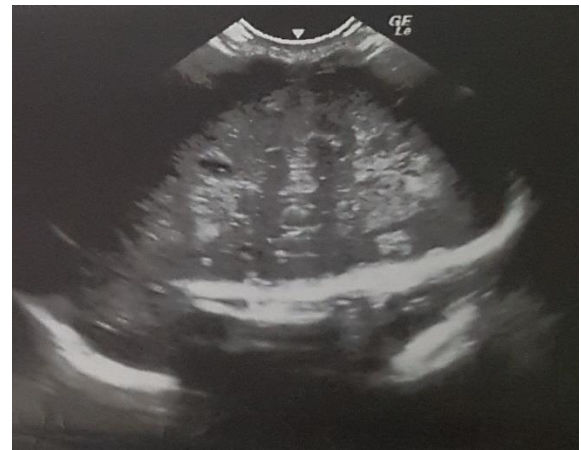
Кранијална ултрасонографија, као једна од главних техника за снимање неонаталног мозга, се најчешће користи за постављање дијагнозе ПВЛ. Дензитет перивентрикуларне ехогености пореди се са ехогеним потенцијалом хороидног плексуса. Ехогеност се оцељује као патолошка када је једнака или већа од ехогености хороидног плексуса. На основу неуросонографског налаза де Вриес (*de Vries*) и сарадници. су предложили класификацију ПВЛ у четири степена [29]. Први степен карактерише пролазна хиперехогеност (ХЕ) која траје дуже од 7 дана, без формирања цистичних промена. Формирање цистичних лезија у фронталном и фронтотријеталним деловима беле материје представља други степен. Мноштво циста широко распрострањених све до паријето-окципиталне регије одговара трећем степену. Најтежи, четврти степен, одликује присуство цистичних лезија у субкортикалном региону [29]. На Слици 1.3 приказани су трансфонтанеларни ултрасонографски налази карактеристични за сва четири степена ПВЛ.

Амерички научници Даман (*Dammann*) и Левитон (*Leviton*) су предложили класификацију перивентрикуларних ХЕ према дужини трајања на кратке, које су присутне до 6 дана, средње, са дужином трајања до 13 дана и продужене које перзистирају 14 и више дана. Трајање перивентрикуларних ХЕ је у корелацији са тежином повреде, као и са дугорочним исходом, чак и када не еволуирају у цисте [30].

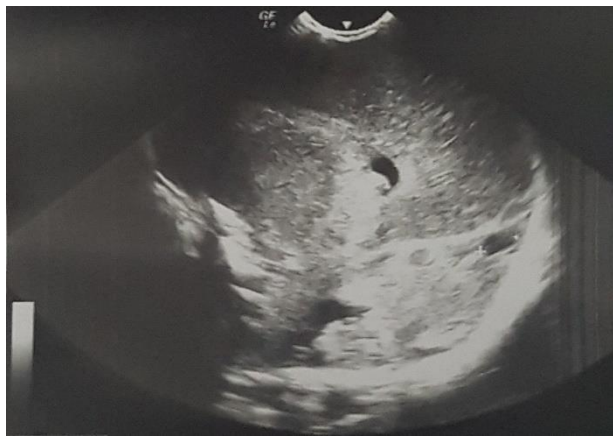
Препоруке Америчке академије за педијатрију и Канадског педијатријског друштва су да се код веома незрелих новорођенчади спроводи серија ултразвучних снимања у првој недељи живота, након тога од 4. до 6. недеље и непосредно пред отпуст. Постоје мање разлике у смерницама за извођење првог ултразвучног прегледа у зависности од гестацијске старости [21]. Неуросонографија представља методу избора за дијагнозу цистичне ПВЛ, али је његова примена ограничена у откривању дифузног оштећења беле масе. Показало се да је магнетна резонанца (*engl. magnetic resonance imaging, MRI*) мозга новорођенчади метода избора за детекцију дифузних облика ПВЛ. Недостаци MRI су пре свега доступност, потреба за седацијом, транспорт, што отежава извођење код критично оболелих новорођенчади. Утврђено је да ранија примена MRI, око 32 недеље гестације, омогућава приказ суптилнијих жаришних лезија које се не морају визуализовати на каснијим снимцима [21].



I степен



II степен



III степен



IV степен

Слика 1.3 Трансфонтанеларни ултрасонографски налаз ПВЛ.

Бела моздана маса обезбеђује ефикасну комуникацију између кључних региона мозга, као што су моторни кортекс, базалне ганглије и мали мозак. Очувана мијелинизација ових структура од пресудног је значаја за контролу моторичких функција, посебно оних које захтевају флуентност, прецизну координацију и аутоматизацију покрета. Услед тога, повреде беле масе се могу манифестовати у широком спектру клиничких исхода, од поремећаја развојне координације до појаве церебралне парализе [31]. Цистична ПВЛ је високо предиктивна за настанак церебралне парализе. Локализација циста је уско повезана са дугорочним исходима, при чему билатералне цисте у фронто-паријето-окципиталном или паријето-окципиталном региону представљају највећи ризик за настанак спастичне диплегијне церебралне парализе или квадриплегије. Продужена перивентрикуларна хиперехоногеност, чак и у одсуству цистичних промена, представља фактор ризика не само за неповољне

моторичке исходе, већ и за визуелне и когнитивне дефиците [21]. Резултати недавно спроведене двадесетогодишње студије у Новој Шкотској, у Канади су показали да 80% превремено рођене деце у периоду између 22. и 31. ГН са екстензивним цистичним лезијама, је развило церебралну парализу [32]. Неколико студија показало је повишену стопу дугорочних когнитивних оштећења у школском узрасту код превремено рођене деце са очигледним оштећењима беле масе мозга. Слично као и код моторичких исхода, тежина повреде директно је повезана са степеном когнитивног оштећења [33].

За сада није откривен поступак који би омогућио превенцију или лечење ПВЛ. Препорука је да се избегавају фактори ризика који доприносе повреди беле моздане масе и развоју неонаталне инфекције. Савремена истраживања усмерена су на испитивање терапијских стратегија које имају за циљ унапређење процеса мијелинизације и смањење ризика од настанка дифузних оштећења беле масе. Један од таквих агенаса је еритропоетин који захваљујући свом антиоксидационом и антиинфламаторном дејству остварује снажан неуропротективни ефекат и делује као иницијатор неурогенезе [34].

1.3.2 Перивентрикуларна/интравентрикуларна хеморагија

Инциденца перивентрикуларне/интравентрикуларне хеморагије (ПВХ/ИВХ) код недonoшчади значајно је опала током осамдесетих и деведесетих година прошлог века, захваљујући напретку у неонаталној интензивној нези. Међутим, током последње две деценије учесталост је готово непромењена и није дошло до даљег значајног пада [35]. Интравентрикуларна хеморагија се и даље често јавља код екстремно незреле новорођенчади, нарочито у ситуацијама која захтевају хитан порођај и када није могуће спровести комплетну примену кортикостероидне терапије [36]. Према актуелним подацима око 15% екстремно незрелих новорођенчади има најтежи вид крварења. Крварење потиче из герминативног матрикса који се простира претежно око главе и тела каудатног језгра, али се може наћи и у перивентрикуларној белој маси. Субепендимални герминативни матрикс је структура растресите, желатинозне грађе, богато васкуларизирана гранама из вертебробазиларног и каротидног слива са мноштвом фрагилних крвних судова. Овај регион је најпроминентнији између 24. и 34. ГН са инволуцијом до 36. ГН, стога је ризик од крварења знатно већи са смањењем зрелости новорођенчета [35,36].

Крварење може бити ограничено на регион герминативног матрикса што се означава као ИВХ I степена [37]. Локализација зависи од ГН новорођенчета па се код незрелијих јавља око тела а код зрелијих око главе нуклеуса каудатуса. Продирањем крви из епендима у латералну комору настаје ИВХ II степена. Уколико је крварење обилно и доводи до дилатације бочних комора развија се ИВХ III степена. Најтежи облик крварења је крварење у паренхим и представља IV степен крварења, а назива се још и перивентрикуларни хеморагијски инфаркт. Овај облик крварења је увек једностран и представља подручје хеморагијске некрозе различите величине унутар перивентрикуларне масе, дорзално и бочно од спољашњег угла бочне коморе [6,37].

Инфекција амниона представља значајан ризик за настанак ПВХ/ИВХ. Мишљења о утицају начина порођаја на учесталост ПВХ/ИВХ нису уједначена; поједине студије указују на већи ризик од крварења након вагиналног порођаја, док друге нису показале значајну разлику у односу на царски рез [38,39]. Транспорт новорођенчади рођених ван

терцијарне установе такође се показао као значајан фактор ризика за настанак ПВХ/ИВХ [40]. Постанатални фактори ризика укључују прематуритет, екстремно малу ПТМ, мушки пол, РДС, и потребу за механичком вентилацијом [41]. Хиперкапнија и ацидоза су честе компликације механичке вентилације; делују као снажни церебрални вазодилататори и на тај начин доприносе развоју ПВХ/ИВХ. Ризик од тешких облика ИВХ код неинтубираних новорођенчади износи мање од 10%. Осцилације крвног притиска такође директно утичу на церебрални проток, па је осетљивост капилара герминативног матрикса повећана и током хипертензије и током хипотензије [42]. Како би се превенирао настанак већег степена крварења препоруке су да се код ових пацијената спроводи минимална манипулација уз спречавање флукуације крвног притиска и парцијалног притиска угљен-диоксида. Недавно су, де Бајл-Маркус (*de Bijl-Marcus*) и сарадници предложили протокол који подразумева држање главе у средњој линији уз благо подизање узглавља постељице у инкубатору, избегавање наглог повлачења артеријске крви и интравенског испирања, као и избегавање подизања ногу приликом мењања пелена [43].

Патофизиолошки механизми који повезују удружену појаву крварења и повреде беле мождане масе још увек нису у потпуности разјашњени. Ова два стања се најчешће јављају истовремено, будући да су перивентрикуларна бела маса и герминативни матрикс региони граничне циркулације са повећаним ризиком за настанак исхемије, нарочито у условима системске хипотензије [35].

Око 25-50% новорођенчади неће испољити клиничке знаке услед настанка ПВХ/ИВХ. Међутим, код тежих степена крварења могуће је нагло клиничко погоршање које се манифестује потребом за оксигенотерапијом и механичком вентилацијом, појавом конвулзија, хипотензије или развојем метаболичке ацидозе. У појединим случајевима се само уочава пад хематокрита (Hct) без пратећих промена у општем клиничком стању новорођенчета [36].

Дијагноза се поставља трансфонтанеларним ултрасонографским прегледом, а по потреби се допуњује компјутеризованом томографијом или магнетном резонанцом ендокранијума. Већина крварења, готово 90%, се јавља у првој недељи након рођења, при чему је ризик највећи у првих 48 сати. Код новорођенчади телесне масе мање од 1000 g крварење најчешће наступа у првом дану живота [44]. Након иницијалног ултразвучног прегледа и уочавања било ког степена хеморагије у првој недељи живота, потребно је снимања понављати минимум два до три пута недељно, како би се на време откриле две најзначајније компликације попут постхеморагичне интравентрикуларне дилатације и ПВЛ. Виши степен крварења са собом носи већи ризик за развој постхеморагичне интравентрикуларне дилатације, која се најчешће јавља две до три недеље након почетног крварења. Клинички се манифестује појавом пуне фонтанеле, дијастазом шавова и убрзаним порастом обима главе [45].

Кључну улогу у превенцији и смањењу инциденце ИВХ има антенатална примена глукокортикоида. Глукокортикоиди директно утичу на сазревање мозга, али истовремено смањују ризик од развоја тешког облика РДС, а самим тим и потребу за механичком вентилацијом [46]. Поред тога, модулацијом васкуларних фактора раста, применом глукокортикоида подстиче се и сазревање и стабилизација крвних судова герминативног матрикса [46]. Потврђено је да прееклампсија мајке смањује ризик од ПВХ/ИВХ. Сматра се да је највероватнији механизам заштитног дејства хипертензије убрзано сазревање фетуса [47].

Морталитет расте сразмерно са повећањем тежине крварења и достиже и до 40% код тешких облика перивентрикуларног хеморагијског инфаркта. Код преживелих

новорођенчади са тежим степеном ИВХ постоји значајно повећан ризик од неуроразвојних поремећаја, пре свега моторичког и когнитивног дефицита. Многобројне студије које су испитивале антенаталну примену лекова као што су фенобарбитон, магнезијум-сулфат, витамин К и индометацин нису показале очекивани заштитни ефекат [21].

1.4 Оксидациони стрес и редокс равнотежа

Раст фетуса се одвија у релативно хипоксичној средини. Ипак, адекватна метаболичка равнотежа одржава се захваљујући повећаном афинитету феталног хемоглобина (Hgb) за кисеоник и већој брзини перфузије ткива. Потрошња, а самим тим и потреба за кисеоником током интраутериног развоја је знатно мања него у постнаталном периоду. Пресецањем пупчане врпце обуставља се трансплацентарна гасна размена гасова и започиње спонтано дисање. Артеријски парцијални притисак кисеоника тада расте са 25-30 mmHg, колико износи код фетуса, на 75-85 mmHg код новорођенчета у првим минутима живота [10].

Нагло повећање доступности кисеоника непосредно по рођењу доводи до настанка физиолошког оксидационог стреса, који активира антиоксидационе одбрамбене механизме и тиме омогућава успостављање редокс равнотеже. Међутим, у случају настанка перинаталне асфиксије, хипоксично-исхемични процеси доводе до формирања слободних радикала и развоја патолошког оксидационог стреса. Активација антиоксидационог система, који обухвата антиоксидационе ензиме и нискомолекуларне антиоксидансе, представља најважнију компоненту заштите од развоја оксидационих лезија [48].

1.4.1 Слободни радикали

Слободни радикали представљају високо реактивне честице које настају као нуспроизвод физиолошких метаболичких процеса, али и под утицајем различитих патолошких стања. Јављају се у облику атома, молекула или јона који садрже један или више неспарених електрона у спољашњој атомској или молекулској орбитали што их чини изразито нестабилним и подложним брзим реакцијама са околним молекулима. Због такве електронске конфигурације, слободни радикали лако ступају у интеракцију са биолошки значајним једињењима, као што су фосфолипиди, протеини и нуклеинске киселине, изазивајући иреверзибилна оштећења у виду липидне пероксидације, карбонилације протеина и оксидације дезоксирибонуклеинске киселине (ДНК), са настанком ћелијске смрти као крајњим исходом. Слободни радикали стога представљају главне медијаторе оксидационог оштећења и имају централну улогу у патогенези оксидационог стреса [49–52].

Посебну групу електрофилних молекула представљају тзв. реактивне врсте, које у себи садрже слободне радикале или учествују у њиховој продукцији током различитих хемијских реакција. У ову групу убрајају се: реактивне врсте кисеоника (ROS),

реактивне врсте азота (engl. *reactive nitrogen species*, RNS), реактивне врсте хлора (engl. *reactive chlorine species*, RCS), реактивне врсте брома (engl. *reactive bromine species*, RBrS) и реактивне врсте сумпора (engl. *reactive sulphur species*, RSS) [53]. Од свих наведених, у живим организмима највећи биолошки значај имају ROS и RNS [54].

У физиолошким условима, више од 90% молекулског кисеоника (O_2) се у митохондријама редукује до воде деловањем терминалног ензима, цитохром с-оксидазе, у оквиру митохондријалног ланца транспорта електрона. Преостали мањи проценат кисеоника (приближно 10%) се непотпуно редукује при чему настају ROS, молекули који поседују јака редуциона или оксидациона својства [53].

У литератури се користи велики број различитих термина за описивање кисеоничних радикала и сродних (нерадикалних) молекула. Појам реактивних врста кисеоника обухвата како кисеонични радикале, тако и одређене нерадикале који делују као оксидациони агенси и/или се лако конвертују у слободне радикале. Најзначајније ROS су: супероксид анјон радикал ($O_2^{\cdot-}$), хидроксил радикал (HO^{\cdot}), пероксил радикал (ROO^{\cdot}), алкоксил радикал (RO^{\cdot}), хидропероксил радикал (HOO^{\cdot}), као и нерадикалне форме као што су водоник пероксид (H_2O_2), озон (O_3), кисеонични синглет и (1O_2) органски пероксиди ($ROOH$).

Посебно је значајан водоник-пероксид, који, иако нерадикална ROS, показује знатно већу реактивност у односу на молекулски кисеоник. У његовом присуству прелазни метали (на пример, Fe^{2+} или Cu^+) могу катализовати формирање високо токсичног хидроксил радикала (HO^{\cdot}) путем процеса познатог као Фентонова реакција [55]:



Овим процесом генерисан хидроксил радикал спада међу најреактивније ROS, способан да оштети липиде, протеине и ДНК, што га чини једним од кључних медијатора оксидационог оштећења ћелија.

Поред ROS, значајну улогу у ћелијској физиологији и патофизиологији имају и реактивне врсте азота. У ову групу убрајају се радикалне форме, као што су азот оксид радикал (NO^{\cdot}) и азот диоксид радикал (NO_2^{\cdot}), као и бројне нерадикалне врсте међу којима су најзначајније пероксинитрит анјон ($ONOO^-$) и нитроксил анјон (NO^-) [56]. Посебно се истиче азот оксид радикал, који у физиолошким условима делује као сигнални молекул у регулацији васкуларног тонуса, неуротрансмисији и имунолошком одговору. Међутим, његова прекомерна продукција, као и интеракција са ROS, доводе до настанка нитрозативног стреса оштећења ћелијских структура [57]. Најзначајнија је реакција са супероксид анјон радикалом, при чему се формира пероксинитрит анјон, снажан оксидациони и нитрациони агенс:

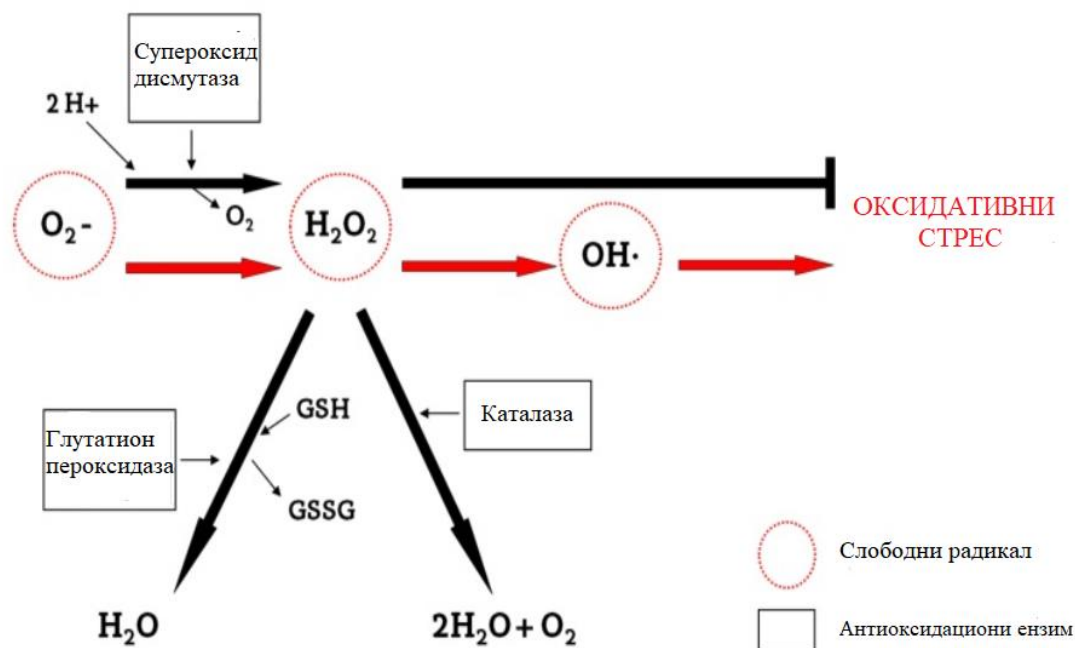


Овим путем се успоставља директна веза између оксидационог и нитрозативног стреса, будући да пероксинитрит у високим концентрацијама доводи до нитрације

тирозинских остатака у протеинима, инактивације ензима и поремећаја митохондријске функције [58].

ROS и RNS могу бити ендеогеног или егзогенног порекла. Ендеогени облици слободних радикала настају у физиолошким и патолошким процесима као што су митохондријално дисање, активација имунских ћелија, аутооксидација биолошких молекула, инфекције, као и током исхемије/реперфузије. Са друге стране, егзогени облици ROS и RNS настају под утицајем фактора животне средине, укључујући загађен ваздух и воду, јонизујуће и ултраљубичасто зрачење, присуство тешких и прелазних метала, као и деловањем појединих лекова. По доспевању у организам, ова једињења се могу разградити или метаболисати у слободне радикале, чиме доприносе оксидационом и нитрозативном стресу [59]. Ипак, слободни радикали и реактивне врсте изведене из њих не испољавају искључиво штетне ефекте. При ниским или умереним концентрацијама, ROS и RNS имају важне физиолошке функције, учествујући у контроли раста, пролиферације и деобе ћелија, одржавању редокс равнотеже и трансдукцији сигнала. Поред тога, они играју значајну улогу у одбрамбеном систему домаћина, јер фагоцитне ћелије (неутрофили, макрофаги и моноцити) ослобађају слободне радикале ради елиминације патогених микроорганизама [60].

У неутралисању слободних радикала учествују бројни ензимски и неензимски молекули који представљају саставни део антиоксидационог одбрамбеног система. Антиоксиданси свој заштитни ефекат остварују преносом електрона на слободне радикале чиме их стабилизују и смањују њихову реактивност. У неензимске компоненте антиоксидационог система убрајају се протеини који везују прелазне метале (церулоплазмин, трансферин, лактоферин, феритин, албумини), витамини који спречавају липидну пероксидацију (А, С и Е), као и једињења мале молекулске масе способна да редукују реактивне врсте. Најзначајнији антиоксидациони ензими су супероксид дисмутаза, каталаза (engl. *catalase*, CAT), глутатион пероксидаза (engl. *glutathione peroxidase*, GPx) [61]. Међу њима, посебно место заузимају изоформе SOD, као што су манган-зависна супероксид дисмутаза (MnSOD) и екстрацелуларна супероксид дисмутаза (EC-SOD), које се сматрају најзначајнијим антиоксидационим ензимима [62]. Манган-зависна супероксид дисмутаза делује у митохондријама, где катализује конверзију супероксидних радикала у водоник-пероксид, док екстрацелуларна супероксид дисмутаза која садржи Cu/Zn као кофакторе, делује у ванћелијском простору и катализује дисмутацију два супероксидна радикала у водоник-пероксид и молекуларни кисеоник. Каталаза, локализована у пероксизомима разлаже H₂O₂ у воду и кисеоник, спречавајући његово акумулирање и потенцијално токсично дејство [63]. Антиоксидациони систем глутатиона обухвата три међусобно повезана ензима: глутатион-пероксидазу, која користи редуковани глутатион (GSH) за разградњу H₂O₂ и липидних пероксида; глутатион-редуктазу, која ресинтетише редуковани глутатион из његовог оксидованог облика и глутатион-S-трансферазу која учествује у детоксикацији катализујући коњугацију токсичних електрофилних једињења са глутатионом [62,64]. Ефекти антиоксидационих ензима на слободне радикале у неонаталном мозгу приказани су на Слици 1.4 [63].



Слика 1.4 Ефекти антиоксидационих ензима на слободне радикале у неонаталном мозгу. Црне стрелице – деловање антиоксидационих ензима (заштита од оштећења); Црвене стрелице – продукција слободних радикала и настанак оксидационог оштећења [63].

Оксидациони стрес представља поремећај равнотеже између производње слободних радикала и њихове неутрализације, који настаје услед прекомерног стварања ROS и RNS, недовољно развијених антиоксидационих механизма или узајамним дејством оба наведена фактора.

Трудноћа и порођај су физиолошка стања током којих је трудница изложена повећаном оксидационом стресу. Истраживања су показала да су нивои маркера оксидационог стреса на рођењу виши у крви из пупчане врпце новорођенчета у односу на крв мајке, што се објашњава нижом концентрацијом антиоксиданаса у плазми фетуса [65]. Сматра се да начин порођаја не утиче на степен феталног оксидационог стреса [66]. Превремени порођај често настаје као последица трудноћа компликованих прееклампсијом, инфекцијом мајке или интраутериним застојем раста фетуса, стања удружена са повећаном продукцијом ROS. Изложеност штетним ефектима оксидационог стреса стога може започети знатно пре рођења, утичући како на исход трудноће, тако и на здравље новорођенчета [67]. Са друге стране, у физиолошким условима у последњим недељама трудноће долази до појачане активности ензимског антиоксидационог система, када је истовремено повећан и трансплацентарни пренос неензимских антиоксиданаса, што представља механизам заштите плода од оксидационих оштећења [56].

Код превремено рођене деце овај заштитни механизам није у потпуности развијен, па непосредно након рођења често захтевају реанимационе мере које укључују вентилацију позитивним притиском уз употребу додатног кисеоника. Вишак кисеоника у условима незрелог антиоксидационог система погодује настанку реактивних врста кисеоника и нарушавању ћелијске равнотеже услед оксидационог стреса [56]. Изражена

хиперпродукција слободних радикала се јавља приликом примене чистог кисеоника у поступку реанимације. Сагласно најновијим препорукама, иницијална терапија кисеоником треба да започне у концентрационом опсегу од 21% до 30% у зависности од гестациске старости, након чега се дозирање титрира на основу вредности пулсне оксиметрије и срчане фреквенце [68,69]. Недовољно развијен антиоксидациони систем, повећана подложност инфекцијама, повишена концентрација слободног гвожђа, потреба за парентералном исхраном која садржи компоненте које се могу оксидовати, као и примена кисеоника у високим концентрацијама, додатно додатно нарушавају равнотежу између оксидационих и антиоксидационих механизма код недоношчади [70].

1.4.2 Неонаталне болести повезане са оксидационим стресом

„Појам „болести кисеоничних радикала у неонатологији” увео је Саугстад (*Saugstad*) 1988. године, формулишући хипотезу о постојању групе болести у неонаталном периоду [71]. Сва новорођенчад, а нарочито превремено рођена, подложна су оксидационом стресу. Водећи фактори ризика укључују хипоксично-хипероксичне промене које се јављају на самом рођењу, повећану склоност ка инфекцијама услед имунодефицијенције, снижене механизме антиоксидационе заштите, као и повишен ниво слободног гвожђа [60]. Као последица наведених механизма, оксидационо оштећење ћелија може се, у зависности од погођеног органа, клинички манифестовати као ретинопатија прематуритета (РОП), бронхопулмонална дисплазија, респираторни дистрес синдромом, некротични ентероколитис, интравентрикуларна хеморагија или оштећење беле моздане масе [56].

Једна од првих болести описаних као последица хипероксије и токсичног дејства кисеоника јесте управо РОП, која представља најважнији узрок доживотног оштећења вида код деце у развијеним земљама. Патофизиолошки механизми обухватају деловање реактивних облика кисеоника и апоптозу ендотелних ћелија, што доводи до стварања аваскуларних зона мрежњаче [72].

Оксидациони стрес има веома значајну улогу у настанку респираторних болести недоношчади као што су респираторни дистрес синдром и бронхопулмонална дисплазија. Такође, учествује у патогенези перзистентне плућне хипертензије која додатно погоршава клинички ток БПД. Услови хипероксигенације доводе до повећане продукције ROS, што уз активацију инфламаторних ћелија и ослобађање проинфламаторних цитокина, подстиче оштећење епитела респираторног тракта и инактивирање сурфактанта [59,73]. Како сурфактант представља хетерогену смешу фосфолипида, протеина и простих липида, подлеже липидној пероксидацији и оксидационим модификацијама протеинских компоненти, што доводи до губитка његових површински активних својстава и убрзава прогресију хроничних плућних болести, пре свега БПД [73].

Некротизирајући ентероколитис се дефинише као исхемијско-инфламаторна некроза црева која се најчешће јавља код превремено рођене деце чија се учесталост повећава са смањењем гестациске старости и порођајне телесне масе. Међу бројним факторима ризика издвајају се прематуритет, цревна дисбиоза, исхрана млечним формулама, интестинална исхемија, транфузија деплазматисаних еритроцита. Наведени чиниоци стимулишу повећану продукцију цитокина, ROS и других слободних радикала који у великој мери доприносе оштећењу цревне баријере и развоју некротичних промена [74].

У развоју оксидативне повреде мозга недоношчади главну улогу имају следећи патофизиолошки механизми: церебрална хипоксија-исхемија и реперфузија, повећано ослобађање слободног хемоглобина и инфламација [10].

Мозак недоношчета, иако метаболички један од најактивнијих органа, има ограничену способност одржавања редокс равнотеже у условима хипоксије-исхемије и реперфузије. Патофизиолошка основа хипоксично-исхемичне повреде заснива се на смрти неурона, која се одвија у две фазе: раној (примарној) и одложеној (секундарној). Примарна смрт неурона наступа у року од неколико минута до сати од иницијалног оштећења и последица је енергетског дефицита, насталог услед смањеног дотока кисеоника у мозак. Овај дефицит енергије доводи до активације анаеробне гликолизе, акумулације лактата и ћелијске некрозе као доминантног облика смрти неурона. Секундарна смрт неурона настаје након више сати или дана од примарног оштећења и идукована је ексцитотоксичним медијаторима, оксидационим стресом и инфламаторним процесима. Ова фаза је карактерисана апоптотичким механизмима ћелијске смрти. На крају, због ограничене способности регенерације мозга недоношчета, исход је хронично оштећење мозга [10].

Код превремено рођене деце услед незрелости можданих структура, повећана је пермеабилност крвно-мождане баријере што интензивира токсичне ефекте оксидационог стреса. Најчешће захваћена подручја мозга код недоношчади су регије васкуларизоване пенетрирајућим гранама предње, средње и задње мождане артерије [75]. Код терминских новорођенчади најчешће су захваћене, базалне ганглије и тамалус, због високе заступљености глутаматних рецептора у овим регијама. Глутамат покреће активацију протеаза и липаза што резултира повећаним стварањем слободних масних киселина, ROS и синтезом простагландина [56,75].

Оксидационо оштећење мозга у склопу ИВХ настаје као последица накупљања слободног хемоглобина и неуротоксичних метаболита насталих разградњом компоненти крви. Њихов пролазак кроз незреле структуре крвно-мождане баријере подстиче интензивну продукцију слободних радикала у суседним регијама мозга, што додатно погоршава оштећење нервног ткива [76].

Инфламаторни процеси праћени активацијом неутрофила, лимфоцита и макрофага, доводе до ослобађања цитокина, протеаза и ROS који доприносе оштећењу мозга [77]. Хориоамнионитис, бронхопулмонална дисплазија и неонаталне инфекције представљају важне предиспонирајуће инфламаторне факторе који повећавају ризик за настанак цистичне и нецистичне ПВЛ [56].

1.5 Интерлеукин-33

Интерлеукин-33 (engl. *interleukin-33*, IL-33) припада породици цитокина IL-1 и првобитно је био означен као IL-1F11. Први пут је откривен 1999. године на моделима паса, у ендотелним ћелијама можданих крвних судова након субарахноидалне хеморагије [78]. Неколико година касније, 2003. године, описана је његова локализација у високим ендотелним венулама људских лимфних чворова што је указало на његову потенцијалну улогу у имунолошким и васкуларним процесима [79]. Коначно, 2005. године Шмиц (*Schmitz*) и сарадници су систематском анализом чланова IL-1 фамилије,

сврстали IL-33 у ову групу имуномодулаторних цитокина и идентификовали га као лиганда рецептора ST2 (engl. *suppression of tumorigenicity 2*, ST2), што је представљало кључни корак у разумевању његове биолошке улоге и механизма деловања [80].

Главни ћелијски извори IL-33 у људским ткивима су ендотелне, епителне и фибробластне стромалне ћелије, које у физиолошким условима, али и током различитих патолошких процеса као што су инфекције, инфламација, малигне болести, представљају водеће произвођаче овог цитокина. IL-33 је најзаступљенији у језгру ендотелних ћелија готово свих људских органа. Овако широка распрострањеност IL-33 потврђује улогу ендотела као централног имунолошког сензора, способног да брзо препозна оштећење ткива и иницира одговарајући имуно-инфламаторни одговор [81,82]. IL-33 ослобођен из епителних ћелија баријерних ткива – коже, слузокоже респираторног (bronхије, назофаринкс) и гастроинтестиналног тракта (желудац), као и пљувачних жлезда – има кључну улогу у покретању алергијске упале и ћелијског имунитета типа 2 [81,83]. Поред тога, фибробластне ретикуларне ћелије у периферним лимфоидним органима (лимфним чворовима, слезини, крајницима) показују високе нивое нуклеарног IL-33, нарочито у раним фазама имунолошког одговора, што указује на њихову фундаменталну улогу у одржавању локалне имунске хомеостазе и иницирању активације имунских ћелија путем IL-33-зависних механизма [84,85].

Патолошки процеси као што су оштећење ћелија, повреда ткива, изложеност алергенима и инфекције изазване паразитима или вирусима, представљају главне стимулансе за ослобађања ендогеног нуклеарног IL-33, у облику протеина пуне дужине (engl. *full-length form*) у естрацелуларни простор. Након ослобађања IL-33 делује као сигнал опасности, „алармин”, који омогућава детекцију и пренос информације о оштећењу ткива локалним имунским ћелијама, чиме иницира одговарајућу имуно реакцију [86].

Бројна истраживања показују да се IL-33, у облику протеина пуне дужине, у екстрацелуларном простору може цепати дејством протеаза које потичу из алергена животне средине или из инфламаторних ћелија као што су неутрофили и мастоцити. Оваквом разградњом настају „хиперактивни”, зрели облици IL-33, чија је биолошка активност 30–60 пута већа у односу на IL-33 пуне дужине. Хиперактивни облици могу индуковати инфламаторни одговор типа 2 и типа 1 у зависности од физиолошких или патолошких услова (хомеостаза, инфективна или инфламаторна болест) [84]. Повишене вредности екстрацелуларног IL-33 указују на оштећења ћелија и/или повреде ткива, али и даље постоји недоумица да ли се IL-33 може ослобађати у ниским концентрацијама у одсуству ћелијске смрти, као што је случај током хомеостазе ткива. Показано је да ниво екстрацелуларног IL-33 пролазно расте током првог сата након повреде, док се након 24 часа вредности враћају на почетни ниво. Овакав брз и пролазан пораст концентрације IL-33 у серуму, плазми, урину и брохоалвеоларном лавату запажен је након исхемијско-реперфузионог оштећења бубрега и јетре, као и након тешких траума [87–89].

Регулацију биолошких ефеката IL-33 одређују бројни фактора који могу појачати његову активност када је она потребна или је инхибирати када постоји ризик од штетног дејства. Неколико молекуларних механизма ограничава биолошку активност IL-33: секвестрација у једрима ћелија које га производе, инактивација деловањем каспаза 3 и 7 током апоптозе, екстрацелуларна инактивација путем оксидације цистеинских остатака неопходним за правилно савијање цитокинског домена и секвестрација растворљивим ST2 рецептором (sST2) у биолошким течностима [84].

Сигнализација IL-33 се одвија путем рецепторског комплекса кога чине IL1RL1 познат као супресор туморигености 2 (ST2), и помоћни протеин рецептора за IL-1 (engl. *Interleukin-1 receptor accesory protein*, IL-1RAcP). Описане су две изоформе ST2 рецептора: трансмембранска (ST2L) и растворљива (sST2). Трансмембранска форма ST2L омогућава активацију сигналног пута IL-33, док растворљива форма sST2 делује као „рецептор мамац” везујући IL-33 и тиме инхибира његове ефекте [90]. Експресија форме ST2L је најизраженија на помоћним Th2 ћелијама, (engl. *T helper cells type 2*, Th2), урођеним лимфоидним ћелијама типа 2 (engl. *Innate lymphoid cells*, ILC2), мастоцитима, базофилима и еозинофилима. Њиховом активацијом долази до ослобађања цитокина као што су IL-4, IL-5 и IL-13, који додатно појачавају Th2 имуне одговоре [80].

Иако IL-33 има кључну улогу у покретању и појачавању Th2 имунских одговора, прекомерна активација овог пута може довести до оштећења ткива, углавном услед развоја патолошке фиброзе која је највероватније последица активације еозинофила и мастоцита. Поред првобитно описане улоге IL-33 као индуктора Th2 одговора, каснија експериментална истраживања, показала су да IL-33 може деловати и на друге имуне ћелије, укључујући ILC2, регулаторне Т ћелије (engl. *regulatory T cells*, Treg), помоћне Th1 лимфоците, (engl. *T helper cells type 1*, Th1), цитотоксични лимфоцити (engl. *cytotoxic T lymphocytes*, CD8⁺ T) и ћелије природне убице (engl. *Natural killer cells*, NK) [83].

Активација ST2L рецептора у ендотелним ћелијама индукује секрецију IL-6 и IL-8, поспешује ангиогенезу и побољшава васкуларну пермеабилност [91]. Слично томе, производња урођених хемокина и цитокина у епителним ћелијама одвија се посредством активације ST2L [92]. Солубилни sST2 везујући IL-33 инхибира његову функцију. Код људи је показано да sST2 спонтано производе ћелије у срцу, плућима, бубрезима и танком цреву. Повишене концентрације sST2 се могу наћи у склопу инфламаторних, кардиоваскуларних, алергијских обољења, чиме се супримирају штетни ефекти повишених нивоа системског IL-33 [93].

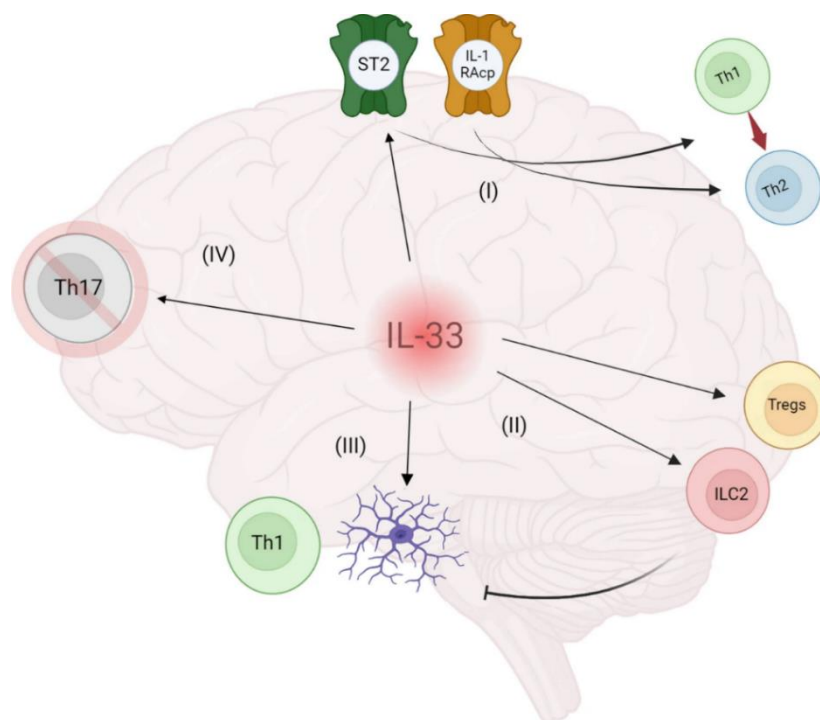
Из свега наведеног може се закључити да IL-33, у зависности од услова, може или иницирати и пролонгирати инфламаторни одговор (нпр. путем Th2 ћелија и мастоцита), или га смањити и допринети заштити од инфламаторних реакција (нпр. преко ILC2 или регулаторних Т ћелија присутних у ткиву) [94].

У можданом ткиву главни извори IL-33 су глијалне ћелије пре свега астроцити и олигодендроцити, док микроглија углавном не производи овај цитокин. IL-33 ослобођен из олигодендроцита након оштећења мозга делује као алармин који стимулише регенерацију, док IL-33 из астроцита промовише формирање микроглијалних синапси и развој неуронских кола [95,96]. Поред глијалних ћелија, део неурона у хипокампусу такође синтетиче IL-33, који стимулише микроглијално ремоделирање екстрацелуларног матрикса [97].

Регије мозга са најинтензивнијом експресијом IL-33 варирају у зависности од животне доби. IL-33 се детектује већ током касног ембрионалног периода, са повећањем нивоа између 2. и 9. дана живота и постепеним опадањем до 23. дана по рођењу. У овом развојном периоду доминантну експресију IL-33 показују астроцити и преолигодендроцити [98]. Током раног постнаталног сазревања синапси, повећана експресија IL-33 се запажа у астроцитима кичмене мождине и таламуса у сивој материји [99]. Испитивања на одраслим мишевима показала су да су највиши нивои IL-33 детектовани у таламусу, хипокампусу, жуљевитом телу (engl. *corpus callosum*) и малом мозгу, док је у глијалним и неуронским ћелијама његова експресија релативно ниска [79,100].

Сигнални пут IL-33/ST2 има важну улогу у бројним инфективним и инфламаторним обољењима, при чему може деловати двоструко – активирати патолошки имунски одговор или подстицати репарацију оштећеног ткива, што указује на сложеност његове функције у мозгу [101]. Бројна истраживања су показала да IL-33 учествује у патогенези поремећаја ЦНС као што су исхемијске повреде мозга, инфекције и неуродегенеративне болести [100]. Код исхемијских оштећења мозга IL-33 испољава антиинфламаторни ефекат: везивањем за рецепторе ST2 и IL-1RAcP, активира Th2-тип имуног одговора, успоставља равнотежу између Th1 и Th2 одговора и тиме смањује ризик од настанка цереброваскуларних и инфламаторних обољења. Истовремено инхибира Th17-тип имуног одговора [102].

Интеракцијом са ILC2 и Tregs ћелијама IL-33 инхибира активацију M1 фенотипа микроглијалних ћелија и активацију Th1 лимфоцита. M1 микроглијалне ћелије ослобађају проинфламаторне медијаторе који изазивају запаљење и неуротоксичност, док M2 микроглијалне ћелије имају антиинфламаторни и неуропротективни ефекат [103–105]. Шематски приказ ових механизма, укључујући регулацију равнотеже Th1/Th2 и M1/M2 микроглијалног одговора, дат је на Слици 1.5.



Слика 1.5 Имунорегулаторни одговор мозга изазван IL-33 код исхемијског možданог удара. (I) IL-33 се везује за ST2 рецептор и IL-1RAcP, чиме појачава Th2-тип имуног одговора и има заштитне ефекте код цереброваскуларних и инфламаторних болести, обезбеђујући равнотежу између Th1 и Th2 одговора. (II) IL-33 регулише активност Treg ћелија и ILC2 у možданом ткиву. (III) Treg ћелије и ILC2 инхибирају активацију микроглијалних M1 и Th1 ћелија. (IV) IL-33 Th17-тип имуног одговора [102].

Међутим, поред описаног неуропротективног и антиинфламаторног дејства IL-33 код исхемијског možданог удара, утврђено је да овај цитокин може допринети системској имуносупресији посредством Th2 одговора, што повећава ризик од инфекција и морталитета [102]. Јиао (*Jiao*) и сарадници испитивали су улогу IL-33 у хипоксично-исхемичном оштећењу неонаталног мозга на анималним моделима и закључили да егзогена примена IL-33 активирањем ST2 рецептора на астроцитима стимулише ослобађање протективних фактора, значајних за преживљавање неурона у условима недостатка глукозе и кисеоника [106].

С друге стране, IL-33 у условима инфекција може деловати проинфламаторно, нарушавајући функцију ендотелних ћелија и интегритет крвно-моздане баријере. Ово наглашава његову изразито комплексну и условно зависну улогу у централном нервном систему [107].

1.6 Омега-3 полинезасићене масне киселине

Омега-3 и омега-6 полинезасићене масне киселине играју кључну улогу у регулацији метаболичких, имунолошких и неурофизиолошких процеса у организму. Припадају групи полинезасићених масних киселина (engl. *polyunsaturated fatty acids*, PUFA) и сматрају се „есенцијалним” јер је њихова ендогена синтеза минимална па се оптимални нивои у организму обезбеђују исхраном и суплементацијом. У биолошком смислу најзначајније омега-3 масне киселине су: α -линоленска киселина (ALA), докозахексаенска киселина (DHA) и еикозапентаенска киселина (EPA), док је код омега-6 полинезасићених масних киселина кључна арахидонска киселина (ARA) [108].

По својој хемијској структури, докозахексаенска киселина је полинезасићена масна киселина из групе омега-3 (n-3 PUFA), која садржи 22 угљеникова атома и шест двоструких веза. Истраживања спроведена средином XX века потврдила су да је DHA једна од главних масних киселина присутних у рибљем уљу, док су Кленк (*Klenk*) и Бонард (*Bongard*) 1952. године први идентификовали њено присуство у мозгу [109,110]. Као саставни део сложених липида, фосфолипида, DHA је распрострањена у свим ћелијским мембранама и игра кључну улогу у очувању њихове флуидности [111]. Подаци показују да цео људски мозак садржи приближно 3,47 g DHA, што је чини најзаступљенијом n-3 PUFA, са уделом од око 7,7% укупних масних киселина мозга [112].

С обзиром на доминантну заступљеност у мозгу и способност да модификује својства ћелијских мембрана и интрацелуларне сигналне путеве, DHA представља кључни молекул у остваривању биолошких ефеката омега-3 масних киселина. Испољавају неуропротективно, антиинфламаторно и антиоксидационо дејство, што се приписује њиховој инкорпорацији у мембране, као и активацији интрацелуларних или недавно откривених рецептора слободних масних киселина на површини ћелија (engl. *free fatty acid receptors*, FFAR). Такође, омега-3 масне киселине имају значајну улогу у активацији имунских ћелија и имуномодулацији како урођеног тако и стеченог имунитета. Антиинфламаторни ефекат остварују тако што стимулишу фагоцитни капацитет макрофага и поларизацију ка M2 фенотипу, што резултује смањењем

продукције проинфламаторних медијатора и повећаним ослобађањем антиинфламаторних цитокина.

Током интарутериног развоја трансплацентарно се одвија пренос масних киселина, при чему је интезитет транспорта дуголанчаних полинезасићених масних киселина највећи у последњем триместру трудноће и може достићи до 70 mg дневно [113]. Људски мозак непрекидно акумулира ДНА од 27. гестацијске недеље просечно до 18. године живота [114]. Истраживања су показала да је нагомилавање ДНА у мозгу од 36. до 40. ГН једнако акумулацији ДНА током првих 35 недеља [115]. Услед тога, превремено рођена деца имају знатно нижи ниво есенцијалних PUFA. Арахидонска и докозахексанска киселина чине трећину укупних масних киселина мозга и имају суштинску улогу у неурогенези, мијелинизацији, неуротрансмисији, укључујући и имуномодулаторне процесе. Синтеза ДНА током феталног развоја из прекурсора ALA је минимална, тако да фетални ниво ДНА директно зависи од концентрације ДНА у плазми мајке. Постнатално, новорођенче се снабдева ДНА путем мајчиног млека или адаптираних млечних формула (АМФ). Превремено рођеној деци је често потребан дужи период да успоставе пун ентерални унос, што уз ускраћен трансплацентарни транспорт доприноси знатно нижем новоу ДНА у односу на терминску новорођенчад [116,117]. Недавна студија показала је да ентерална суплементација са АРА (100 mg/kg) и ДНА (50 mg/kg) може модулисати системску упалу у прве четири недеље живота код превремено рођених новорођенчади [118].

Повећан унос ДНА током трудноће доприноси већем складиштењу у феталним ткивима, и истовремено смањује ризик од превременог порођаја захваљујући антиинфламаторним и имуномодулаторном ефектима. Карлсон (*Carlson*) и сарадници недавно су спровели мултицентричну студију у којој су испитивали дозно зависне ефекте примене ДНА у трудноћи на превремени порођај и закључили да труднице са нижом дозом суплементације имају већу учесталост превременог порођаја [119]. Концентрација ДНА у мајчином млеку и крви новорођенчета на рођењу је директно пропорционална гестацијској старости, што указује на значај адекватног снабдевања ДНА током трудноће и раног постнаталног периода. Упркос бројним доказима о позитивним ефектима ДНА који се испољавају најинтезивније од феталног периода па све до друге године живота, још увек не постоје универзалне препоруке за суплементацију у току трудноће, нарочито у случајевима ризика за превремени порођај или код дојења превремено рођене деце [120].

Истраживања на моделима пацова показала су да примена суплементације омега-3 масним киселинама код трудних женки а потом и код њихових младунаца са хипоскично-исхемијском повредом мозга, значајно редукује оштећење можданог ткива и побољшава дугорочне неуролошке исходе [121]. Досадашња испитивања ефеката суплементације ДНА са или без АРА на хуманим моделима, показала су побољшано сазревања беле мождане материје [122]. Такође је уочен бољи когнитивни и визуелни развој новорођенчади [123,124].

Ниво ДНА и АРА у хуманом млеку пре свега зависи од начина исхране мајке. Најзаступљенија намирница за ДНА је масна риба, док се АРА налази у већини намирница животињског порекла (јунеће, свињско и живинско месо, јаја, житарице) које се и најчешће користе у свакодневной исхрани.

Амарел (*Amaral*) и сарадници су у свом ревијалном раду изнели податке из 22 студије суплементације ДНА код трудница и дојиља и показали позитивну корелацију примене ДНА и њеног нивоа у хуманом млеку [125]. Просечан ниво ДНА у зрелом

мајчином млеку се креће $0,32 \pm 0,22\%$ укупних масних киселина, док виши нивои ($> 1\%$) се јављају код жена у приобалним подручјима услед конзумирања морске хране [126]. У Србији, као једној од европских земаља са најнижим уносом рибе у исхрани, концентрације ДНА у хуманом млеку су значајно ниже и крећу се од $0,14\%$ до $0,17\%$ укупних млечних масти, што одговара макисмалној концентрацији до $6 \text{ mg DHA}/100 \text{ mL}$ млека. Уз дневни унос мајчиног млека $750\text{--}800 \text{ mL}$, новорођенчад у Србији овим путем прима до 50% препорученог дневног уноса ДНА.

Уколико из било ког разлога није могућа исхрана новорођенчади хуманим млеком, примењују се адаптиране млечне формуле. Према препорукама Европског удружења педијатријске гатроентерологије, хепатологије и нутриције (ESPGHAN) и Светског удружења за перинаталну медицину, млечним формулама намењеним терминским новорођенчадима пожељно је додати ДНА у количини од $0,2\text{--}0,5\%$ укупног садржаја масти. Уз ДНА препоручује се и додатак АРА, при чему је најпожељнији однос АРА : ДНА $1,5:1$. Уобичајеним дневним уносом адаптираних млечних формула обезбеђује се 70% дневних потреба за дуголанчане полинезасићене масне киселине, док специјалне формуле намењене превремено рођеној деци садрже и до два пута већу концентрацију ових PUFA [127].

Код превремено рођене деце због прекинутог трансплацентарног преноса ДНА као и пролонгираног периода за успостављање пуног енетаралног уноса, суплементација додатним препаратима представља кључни поступак за обезбеђење оптималних концентрација PUFA. На тај начин се подстиче не само нормалан раст и развој мозга, већ и имунолошка и антиинфламаторна функција код новорођенчета, смањујући ризик од неуролошких и системских компликација у раном периоду живота.

1.7 Савремени трендови у примени дубоког учења у неонатологији

Развој вештачке интелигенције у последњој деценији значајно је утицао на савремену медицину и отворио нове могућности у области дијагностике, прогнозе и терапијског планирања. Са напретком рачунарских технологија и доступношћу великих количина медицинских података, вештачка интелигенција је постала један од кључних покретача унапређења здравствене заштите. Посебно изражен напредак остварен је у неонатологији, где је брза, поуздана и прецизна дијагностика од пресудне важности за смањење неонаталног морбидитета и морталитета [128].

Појава алгоритама дубоког учења, а нарочито конволутивних неуронских мрежа (CNN), довела је до суштинске трансформације у начину на који се приступа анализи и интерпретацији медицинских снимака. CNN представља један од најснажнијих модела дубоког учења, дизајниран да самостално препознаје и издваја сложене структуре, шаблоне и аномалије у визуелним подацима. Способност CNN алгоритама да „уче“ из великих количина података и прилагођавају се различитим клиничким сценаријима значајно смањује потребу за ручном интерпретацијом снимака и уноси нови ниво објективности у дијагностичке процесе [128–133].

Примена CNN модела у неонатологији представља један од најзначајнијих помака у савременој медицинској пракси, јер доноси бројне предности које директно

утичу на квалитет неге и исход лечења новорођенчади. Брза и поуздана дијагноза кључна је за благовремено реаговање и превенцију трајних неуролошких оштећења. Код новорођенчади је сваки минут критичан, а кашњење у интервенцији може довести до неповратних последица. Управо зато аутоматизована анализа снимака применом CNN алгоритама значајно скраћује време потребно за доношење клиничких одлука и омогућава раније препознавање патолошких промена [129,130].

Једна од највећих предности ових алгоритама јесте смањење ризика од људске грешке, што је од посебне важности у неонатолошким јединицама интензивне неге. У таквим условима, због великог обима података и потребе за брзим одлучивањем, могућност прегледа и интерпретације великог броја снимака у кратком времену представља велики изазов. CNN алгоритми обезбеђују стандардизован, репродуктиван и објективан приступ анализи снимака, чиме се повећава поузданост дијагностике и укупна ефикасност процеса лечења. На овај начин, алгоритми преузимају рутинске и временски захтевне задатке анализе, ослобађајући клиничаре да се усредсреде на критичке процене и доношење сложених терапијских одлука [128–130].

Ефикасност овог приступа потврђена је бројним истраживањима. Хендерсон (*Henderson*) и сарадници развили су алат заснован на архитектури ResNet-50 за аутоматско препознавање катетера и тубуса на радиолошким снимцима новорођенчади, чиме је значајно побољшана тачност и поузданост дијагностике [129]. Шиа (*O'Shea*) и сарадници предложили су CNN модел за детекцију неонаталних напада анализом EEG сигнала, чиме је решен један од најсложенијих изазова у интерпретацији можданих активности код новорођенчади [130]. Оба истраживања показују да CNN алгоритми не само да убрзавају дијагностички процес већ и смањују субјективне грешке, чиме директно унапређују квалитет неге.

Поред примене CNN модела у анализи радиолошких и електрофизиолошких снимака, значајан напредак постигнут је и у процени физиолошких параметара новорођенчади. Ergvural и Seylan развили су CNN модел за аутоматску процену телесне температуре и термалне симетрије, што је од великог значаја за континуирано праћење здравственог стања и правовремено откривање потенцијалних ризика код новорођенчади [131]. Слично томе, Абиси (*Abbasi*) и сарадници предложили су CNN модел за идентификацију тихог сна код одојчади, што представља брзу, поуздану и неинвазивну методу која се користи као индиректан показатељ зрелости мозга [132]. Како је процена фазе тихог сна важна за праћење неуролошког развоја, овај приступ омогућава рано препознавање потенцијалних развојних поремећаја и обезбеђује могућност правовремене интервенције.

Висок потенцијал CNN алгоритама потврђен је и у области офталмологије, где њихова примена значајно доприноси раној дијагностици и благовременој интервенцији. Салих (*Salih*) и сарадници развили су CNN модел за детекцију и класификацију ретинопатије код новорођенчади, чиме је омогућено правовремено лечење и значајно смањен ризик од трајног губитка вида [133]. С обзиром на то да ретинопатија недоношчади представља један од водећих узрока слепила, могућност аутоматизованог препознавања промена на очном дну има велики клинички значај.

Примена ових напредних алгоритама показала се као веома ефикасна, јер омогућава бржу, поузданију и објективнију анализу медицинских снимака у односу на традиционалне методе. Аутоматизовани системи значајно смањују оптерећење лекара преузимајући рутинске и временски захтевне задатке, док истовремено минимизују ризик од људске грешке. На овај начин клиничари добијају више простора да се

усредсреде на планирање терапије и доношење кључних одлука, што директно утиче на унапређење исхода лечења и квалитета неге.

Интеграција CNN модела у свакодневну клиничку праксу показала је да примена аутоматизованих техника анализе медицинских снимака доприноси побољшаним терапијским исходима, смањењу стопе смртности и унапређењу квалитета здравствене заштите најмлађих пацијената. На основу досадашњих резултата, јасно је да је примена алгоритама дубоког учења један од најзначајнијих праваца развоја савремене неонатологије, са потенцијалом да трајно промени начин на који се приступа дијагностици и лечењу у овој области [128–133].

2 Циљеви и хипотезе

2.1 Циљеви студије

Главни циљ испитивања

Главни циљ истраживања у оквиру ове докторске дисертације је проучавање ефеката тромесечне суплементације омега-3 масним киселинама на редокс статус, серумску концентрацију интерлеукина-33 и дензитет неуросонографских налаза код превремено рођене новорођенчади.

Специфични задаци испитивања

1. Утврдити значајност разлике у вредностима биомаркера оксидационог стреса и активности елемената антиоксидационе заштите код превремено рођене новорођенчади након тромесечне суплементације омега-3 масним киселинама.
2. Утврдити значајност разлике у серумској концентрацији IL-33 код превремено рођене новорођенчади након тромесечне суплементације омега-3 масним киселинама.
3. Утврдити значајност разлике у степену дензитета неуросонографских налаза код превремено рођене новорођенчади са хипоксично-исхемичном лезијом ЦНС након тромесечне суплементације омега-3 масним киселинама.
4. Утврдити значајност разлике појединачних вредности нивоа биомаркера оксидационог стреса, параметара антиоксидационе заштите и концентрације IL-33 са неуросонографским налазом анализом степена хиперехогености и појаве циста у паренхиму мозга.
5. Утврдити значајност разлике у степену дензитета неуросонографских налаза након тромесечне суплементације омега-3 масним киселинама коришћењем софтверске анализе снимака.

2.2 Хипотезе испитивања

Полазне хипотезе на којима се заснива ова докторска дисертација су:

1. Вредности маркера оксидационог стреса значајно су више пре започињања суплементације омега-3 масним киселинама у односу на вредности добијене након три месеца од увођења суплементације.
2. Вредности маркера антиоксидационе заштите значајно су ниже пре започињања суплементације омега-3 масним киселинама у односу на вредности добијене након три месеца од увођења суплементације.
3. Степен дензитета исхемичних промена беле мождане масе показује смањење након три месеца од почетка суплементације омега-3 масним киселинама.
4. Вредности нивоа IL-33 су више пре започињања примене омега-3 масних киселина у односу на вредности добијене након три месеца од увођења суплементације.
5. Софтверска обрада снимака ЦНС новорођенчади са хипоксично-исхемичном лезијом омогућава прецизну процену терапијског ефекта примене омега-3 ДНА масних киселина.

3 Материјал и методе

3.1 Врста студије

Студија је дизајнирана као проспективна, клиничка, опсервациона и аналитичка, по типу „случај-контрола”. Истраживање је спроведено у периоду од 2 године. У студију су укључена превремено рођена новорођенчад хоспитализована у Одељењу интензивне неонаталне неге (ОИИН), Центра за неонатологију, Клинике за педијатрију, УКЦ Крагујевац.

3.2 Популација која се истражује

У истраживање су укључена превремено рођена новорођенчад, рођена пре навршене 37. гестацијске недеље, која се хоспитализују са територија централне и југозападне Србије (из 13 породилица) у ОИИН Центра за неонатологију, Клинике за педијатрију, УКЦ Крагујевац.

Планирано истраживање обухвата групу од 134 пацијената од чега 68 чини циљну, а 66 контролну групу.

Студија је одобрена од стране надлежног Етичког одбора Универзитетског клиничког центра Крагујевац (број: 01/22-26, датум: 24.1.2022.). За сваког пацијента добијен је писани пристанак родитеља за учествовање у испитивању уз очување свих права на приватност. Поступање са пацијентима се одвијало у складу са етичким начелима (Хелсиншка декларација) и принципима добре клиничке праксе.

Пацијенти су распоређени у две групе:

1) прва група (n=68) – циљна група (превремено рођена новорођенчад којима је започета суплементација омега-3 масним киселинама у дози од 100 mg/дневно почев од 8. дана живота),

2) друга група (n=66) – контролна група (превремено рођена новорођенчад код којих суплементација није започета или је касније укључена, након отпуста).

Узорковање крви и трансфонтанеларна ултрасонографија мозга спроведени су у три временска периода (1. дан, 7. дан и са навршена 3. месеца живота) код обе групе пацијената.

Критеријуми за укључење у студију

1. Превремено рођена новорођенчад (рођена пре 37. гестацијске недеље) са знацима хипоксично-исхемијске лезије ЦНС.

2. Превремено рођена новорођенчад која су толерисала ентерални унос, што је омогућило започињање суплементације од 8. дана живота.
3. Превремено рођена новорођенчад чији су родитељи потписали Информисани пристанак за учешће у испитивању.

Критеријуми за искључивање из студије

1. Превремено рођена новорођенчад са конгениталним аномалијама.
2. Превремено рођена новорођенчад код које је примена суплементације прекинута након 8. дана живота, због потпуно обустављеног пероралног уноса (из медицинских разлога).
3. Превремено рођена новорођенчад којима је обустављена примена суплементације по отпусту, а пре навршеног 3. месеца живота.
4. Превремено рођена новорођенчад чији родитељи нису потписали Информисани пристанак за учешће у испитивању.
5. Превремено рођена новорођенчад са конгениталном инфекцијом, васкуларним и другим аномалијама ЦНС, коагулопатијама, хромозомским аберацијама и сродним поремећајима.

3.3 Узорковање

3.3.1 Начин обраде узорака

За одређивање вредности варијабли које су мерене у студији, извршена је пункција периферне вене и издвајено 2,5 mL крви у епрувету са натријум-цитратом као антикоагулансом (1:9), као и 1 mL крви у епрувету са сепарационим гелом. Из добијене плазме одређиване су вредности маркера оксидационог стреса. Лизирани еритроцити коришћени су за одређивање активности ензима антиоксидационе заштите, док је из издвојеног серума одређивана концетрација IL-33.

Поступак одвајања плазме

Поступак одвајања плазме обухватао је центрифугирање узорка крви у трајању од 10 минута при 3000 обртаја у минути, чиме је у супернатанту издвојена плазма. Након пипетирања узорака плазме, настављен је поступак лизирања еритроцита који су преостали у епрувети. У епрувету је додат физиолошки раствор у односу 1/3 еритроцита + 2/3 физиолошког раствора, након чега је узорак поново центрифугиран 10 минута при 3000 обртаја у минути. По завршеном центрифугирању аспириран је супернатант и исти поступак поновљен три пута. Након трећег центрифугирања, аспириран је супернатант, пипетиран 1 mL еритроцита и пребачен у нову епрувету у коју су затим додата 3 mL хладне дестиловане воде.

Поступак одвајања серума

Поступак одвајања серума подразумевао је узорковање крви у епрувету са сепарационим гелом. Након узорковања, епрувете су остављане на собној температури најмање 20 минута пре центрифугирања. Центрифугирање је трајало 10 минута при 3000 обртаја у минути, чиме се у супернатанту се издвајао серум.

Након центрифугирања, плазма, лизирани еритроцити и серум замрзавани су и чувани до обраде узорака. Обрада узорака је обављена на Институту факултета медицинских наука у Крагујевцу.

3.3.2 Варијабле које су мерене у студији

Биомаркери оксидационог стреса: индекс липидне пероксидације (engl. tiobarbituric acid reactive substances, TBARS), нитрити (NO_2^-), супероксид анион радикал (O_2^-), водоник пероксид (H_2O_2), одређивани су спектрофотометријском методом.

Одређивање индекса липидне пероксидације

Одређивање индекса липидне пероксидације вршено је индиректно путем продуката реакције липидне пероксидације са тиобарбитурном киселином (ТВА). Принцип методе заснива се на мерењу нивоа липидних пероксида, на основу реакције малонилдиалдехида (MDA), једног од продуката пероксидације, са ТВА. Апсорбанција је мерена на таласној дужини од $\lambda=530 \text{ nm}$ [134,135].

Одређивање концентрације нитрита

Процена ослобођеног азот монооксида (NO) вршена је на основу концентрације ослобођених нитрита. Метод се заснива на примени Griess реагенса, који у присуству нитрита формира диазо-комплекс љубичасте боје. Мерење апсорбанције је вршено на таласној дужини $\lambda=550 \text{ nm}$ [134,135].

Одређивање концентрације супероксид анион радикала

Принцип одређивања концентрације супероксид анион радикала (O_2^-) у узорцима крвне плазме заснива се на реакцији O_2^- са нитро тетразолијум плавим (engl. *nitro blue tetrazolium*, NBT) при чему настаје нитроформазан плави. Мерење апсорбанције је вршено на таласној дужини $\lambda=550 \text{ nm}$ [134,135].

Одређивање концентрације водоник пероксида

Метод одређивања концентрације водоник пероксида (H_2O_2) заснован је на оксидацији фенол црвеног путем реакције водоник пероксида, коју катализује ензим пероксидаза из корена рена (engl. *horse radish peroxidase*, HRP). Коначни производ ове реакције је једињење са максимумом апсорпције на таласној дужини $\lambda_{\text{max}}= 610 \text{ nm}$ [134,135].

Одређивање концентрације оксидованог липопротеина ниске густине

Концентрација оксидованог липопротеина ниске густине, оксидовани LDL, (engl. *oxidized low-density lipoprotein*, OxLDL) одређивана је употребом комерцијално доступног ензимског имуноензимског теста (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA). Узорци серума пацијента, након адекватне припреме и разблажења у складу са упутством произвођача, наношени су у бунарчиће плоче где је долазило до везивања присутних молекула OxLDL за имобилисана антитела. Након серије корака прања, ради уклањања невезаних компоненти, додавана су секундарна антитела коњугована са ензимом HRP. Овај комплекс омогућавао је даљу детекцију путем додавања специфичног супстрата 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМВ) који у присуству HRP развија карактеристичну плаву боју. Интензитет формиране боје био је пропорционалан количини везаног OxLDL у узорку. Оптичка густина читавана је фотометријски на таласној дужини од 450 nm, коришћењем читача микротитар плоча. Концентрације OxLDL у узорцима израчунате су помоћу стандардне криве добијене мерењем серије стандарда тачно познатих концентрација. На тај начин добијене вредности представљале су директан показатељ нивоа OxLDL у серуму пацијената [136,137].

Активност елемената антиоксидационе заштите

Одређивање активности супероксид дисмутазе

Активност SOD одређивана је адреналинском методом. Ова метода припада групи метода „негативног” типа, чији је основни принцип праћење смањења брзине аутооксидације адреналина у алкалној средини, која је зависна од супероксид анјон радикала. Како се O_2^- уклања од стране SOD, долази до инхибиције реакције аутооксидације адреналина. Брзина промене аутооксидације адреналина праћена је спектрофотометријски на таласној дужини 480 nm, при чему је апсорбанција обрнуто пропорционална активности SOD [134,135].

Одређивање активности каталазе

Активност CAT одређивана је спектрофотометријском методом по Beutler-у. Принцип методе заснива се на праћењу брзине разградње водоник-пероксида у присуству каталазе на таласној дужини 230 nm, при којој водоник пероксид апсорбује светлост [134,135].

Одређивање активности редукованог глутатиона

Активност GSH одређивана је спектрофотометријском методом по Beutler-у. Принцип методе се заснива на оксидацији глутатиона помоћу 5,5'-дитио-бис-(2-нитробензоеве) киселине (DTNB), при чему се формира жут дериват 5'-тио-2-нитробензоеве киселине (TNB). Мерење апсорбанције је вршено на таласној дужини $\lambda=412$ nm [134,135].

Израда гасних анализа

За израду гасних анализа (pH, pCO₂, pO₂, HCO₃⁻, базни ексцес и лактати) коришћена је капиларна артеријализована крв добијена из пете превремено рођених новорођенчади. Узорци су обрађивани помоћу апарата GEM premier 5000.

Лабораторијске анализе: Ц-реактивни протеин (engl. *C-reactive protein*, CRP), прокалцитонин (PCT), комплетна крвна слика са леукоцитарном формулом (ККС).

Одређивања серумске концентрације IL-33

Серумска концентрација IL-33 одређивана је из добијеног серума ELISA методом, према утврђеном протоколу произвођача (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Анализа је обављена у лабораторијама Центра за молекулску медицину и истраживања матичних ћелија, Факултета медицинских наука у Крагујевцу.

Трансфонтанеларна неуросонографија

Трансфонтанеларна неуросонографија спровођена је помоћу ултразвучног апарата LOGIQ е - секторском сондом од 8 MHz у 1., 7. дану живота, као и са навршена 3. месеца живота.

Кроз акустички прозор (велику фонтанелу), снимање је обављано у стандардним короналним и сагиталним пресецима и свим пацијентима је урађен и фотографски снимак ултразвучног налаза.

Обрада трансфонтанеларних ултразвучних снимака ЦНС вршена је уз помоћ софтверског окружења *MATLAB* пре и након примене суплементације омега-3 масних киселина.

3.4 Обрада неуросонографских слика

Ултразвук представља неинвазивну дијагностичку методу која користи звучне таласе високе фреквенције за приказ унутрашњих структура људског тела. У медицини, а посебно у неонатологији, ултразвучне слике имају кључну улогу у праћењу развоја и стања мозга код новорођенчади. Добијене слике се састоје од мреже пиксела, при чему сваки пиксел представља интензитет одраза ултразвучних таласа од различитих ткивних структура [138].

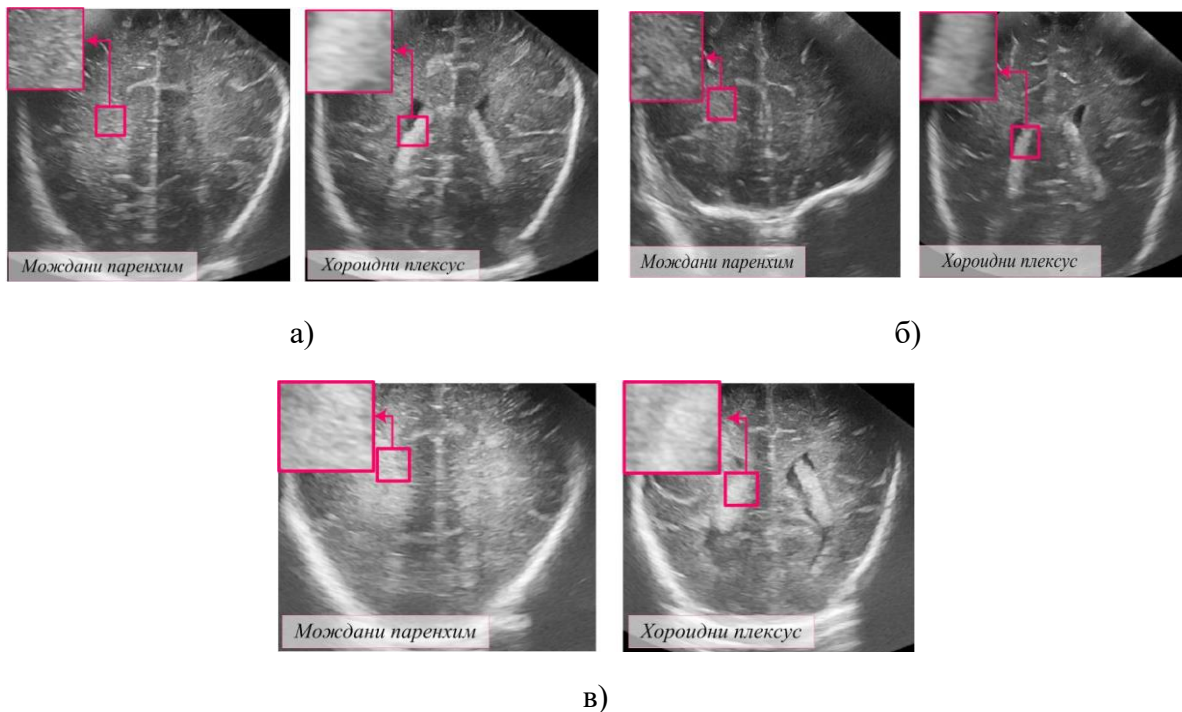
Кроз примену најсавременијих алгоритама и техника обраде слика, могуће је детектовати и најсуптилније промене у густини и структури ткива, што је од изузетног значаја за рану дијагностику, праћење патолошких процеса и процену прогнозе лечења.

Досадашња истраживања која су се бавила анализом хипоксично-исхемијске енцефалопатије код новорођенчади углавном су се ослањала на субјективну процену лекара, засновану на визуелној интерпретацији густине ултразвучних снимака мозга

[138–140]. Процена се најчешће вршила поређењем два кључна региона на снимцима: хороидног плексуса и možданог паренхима.

На основу визуелних разлика у густини и структури ткива, лекари су доносили закључке о степену оштећења, који се сврставао у три основне категорије [138]:

- Нормално стање карактерише хомогена густина možданог ткива без видљивих абнормалности (Слика 3.1а).
- Умерено оштећење одликују суптилне промене у структури и густини ткива, које могу укључивати присуство малих хиперехогених или хипоехогених зона (Слика 3.1б).
- Интензивно оштећење показује изражене промене у густини ткива, што указује на тежа хипоксично-исхемијска оштећења. Ова категорија се најчешће манифестује појавом пространих хиперехогених или хипоехогених области (Слика 3.1в).



Слика 3.1 Неуросонографски приказ паренхима мозга и хороидног плексуса: а) нормално, б) умерено, в) интензивно.

Иако је овај приступ заснован на визуелној процени, показало се да је ограничен у погледу поузданости, јер је високо подложен субјективним разликама међу лекарима. Овај проблем је довео до потребе за развојем објективнијих и аутоматизованих метода обраде ултразвучних слика, које омогућавају квантитативну анализу густине ткива и прецизнију класификацију стања мозга код новорођенчади.

Прикупљање и припрема ултразвучних снимака

Ултразвучни снимци мозга новорођенчади прикупљени су у оквиру истраживања у Универзитетском клиничком центру Крагујевац, са циљем да се обезбеде конзистентност и тачност добијених резултата. Сви снимци су изведени по јединственом протоколу, чиме је минимизирана могућност систематских грешака и обезбеђен висок ниво поузданости у даљој анализи [128].

Добијени волуметријски ултразвучни записи конвертовани су у jpg формат фиксне резолуције 1024×1024 пиксела. За даљу обраду коришћене су дводимензионалне пројекције мозга, снимљене у две паралелне равни, што је омогућило јасну визуелну идентификацију хоридног плексуса и možданог паренхима. Ови сегменти су потом коришћени као референтне зоне за упоређивање густине ткива и процену могућих структурних промена.

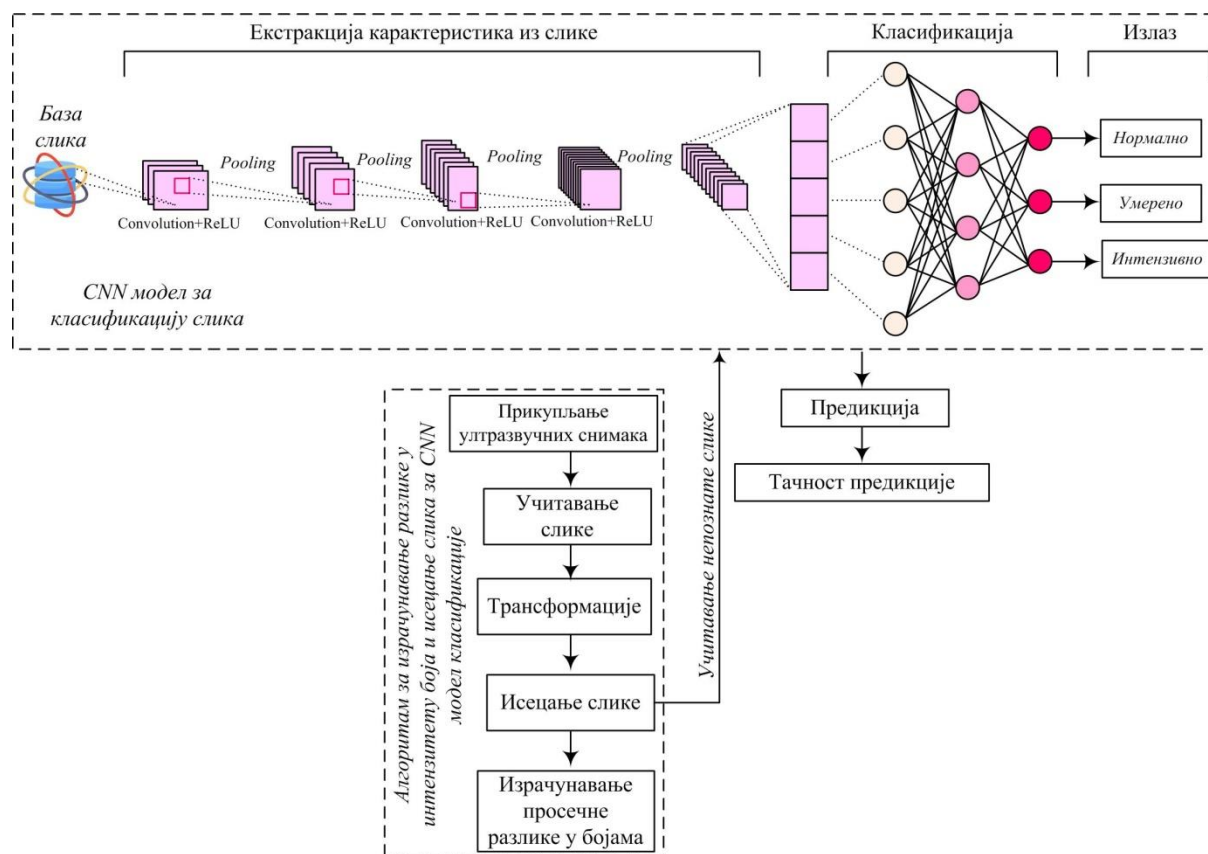
За сваког пацијента прикупљено је 12 сетова ултразвучних снимака, снимљених у различитим временским тачкама, што је омогућило праћење динамичких промена у развоју мозга. Кључне тачке мерења обухватале су: први дан живота (у првих 6 сати након рођења), седми дан живота, стоти дан живота.

Све ултразвучне прегледе обавио је субспецијалиста неонатологије са додатном стручном едукацијом из области трансфонтанеалне неуросонографије, чиме је осигурана валидност и квалитет података пре њихове употребе у даљој обради.

Примена модела за обраду и класификацију ултразвучних снимака

Обрада ултразвучних снимака мозга новорођенчади спроведена је у оквиру Центра за интегрисани развој производа и процеса и интелигентне системе на Факултету инжењерских наука Универзитета у Крагујевцу, коришћењем MATLAB програмског окружења (www.mathworks.com). Избор MATLAB-а као примарног софтверског алата био је стратешки, јер овај систем омогућава интеграцију напредних алгоритама за анализу слика, аутоматизацију процеса и примену техника дубоког учења. На тај начин је омогућено ефикасно руковање великим бројем узорака, као и добијање репродуктивних, стабилних и поузданих резултата [128].

Развијени модел за обраду и анализу ултразвучних снимака мозга новорођенчади, приказан на Слици 3.2, представља интегрисани систем који обједињује два комплементарна алгорита – алгорита за класификацију слика и алгорита за одређивање разлика у густини ткива. Ова два алгорита функционишу као јединствен аналитички механизам, који комбинује аутоматску детекцију релевантних карактеристика слике и квантитативну процену промена у структури ткива, чиме се обезбеђује свеобухватна и поуздана анализа ултразвучних снимака.



Слика 3.2 Алгоритам за класификацију.

Алгоритам за класификацију заснива се на примени CNN, које представљају једну од најсавременијих техника дубоког учења у области анализе медицинских слика. CNN модел је дизајниран тако да аутоматски издваја најрелевантније карактеристике из ултразвучних снимака, без потребе за ручним означавањем или претходном селекцијом параметара. Мрежа обухвата више конволутивних и *pulling* слојева који омогућавају редукцију димензионалности података, али при томе задржавају кључне структурне информације неопходне за дијагностичку процену [128,131,132]. Издвојене карактеристике се затим прослеђују ка завршним, потпуно повезаним слојевима мреже који врше финалну класификацију снимака у једну од три категорије:

- I нормално стање, које се карактерише хомогеном густином можданог ткива без видљивих абнормалности;
- II умерено оштећење, које подразумева присуство суптилних структурних промена и ограничених хиперехогених или хипоехогених зона;
- III интензивно оштећење, које указује на изражене промене густине и морфологије ткива, са доминантним подручјима високе или ниске ехогености, што је карактеристично за тежа хипоксично-исхемијска оштећења.

Паралелно са класификацијом, у оквиру овог модела примењен је и алгоритам за квантитативну анализу разлика у густини ткива, који се заснива на прецизном израчунавању промена у боји и интензитету пиксела унутар пажљиво дефинисаних региона од интереса [128]. Да би се обезбедила стабилност и поузданост мерења, све

ултразвучне слике се трансформишу из стандардног RGB простора боја у CIE Lab модел боја. Ова трансформација је од кључне важности јер Lab модел раздваја параметре светлине од колоритних компоненти, што омогућава много прецизније мерење разлика у структури ткива и чини резултате независним од осветљења, контраста и квалитета снимања.

Квантитативно одређивање разлика у густини боје

Након конверзије волуметријских ултразвучних снимака у .jpg формат, слике се убацују у развијени алгоритам који прво врши трансформацију из RGB колор-простора у CIE Lab простор боја (Слика 3.3). Ова трансформација је од изузетног значаја јер Lab модел представља перцептивно усклађен простор боја, у коме се информације о светлини и колоритним компонентама третирају одвојено. Такав приступ омогућава знатно прецизнију анализу боја и нијанси, што је посебно важно код медицинских снимака, где чак и суптилне промене густине ткива могу имати значајну дијагностичку вредност [128].

Предности примене CIE Lab простора у односу на RGB су вишеструке:

- обезбеђује независност од услова осветљења,
- омогућава већу осетљивост на светлосне разлике,
- пружа тачнију анализу нијанси боја у односу на класичне моделе.

Након трансформације у Lab простор, корисник ручно дефинише регион од интереса (РОИ) на ултразвучном снимку, постављајући границе редова и колона унутар којих ће се вршити анализа. РОИ се одређује изразом [141]:

$$I_{cropped} = I(row_1:row_2, col_1:col_2), \quad (3.1)$$

I – оригинална слика у матричном облику,

$row1, row2$ – почетни и крајњи ред анализираног региона,

$col1, col2$ – почетна и крајња колона.

Овим кораком се издвајају само релевантни делови снимка – најчешће хороидни плексус и мождани паренхим – како би се добили прецизни и стабилни параметри за даљу анализу, и то:

\bar{L} – просечна вредност светлине,

\bar{a} – просечна вредност црвено-зелене компоненте,

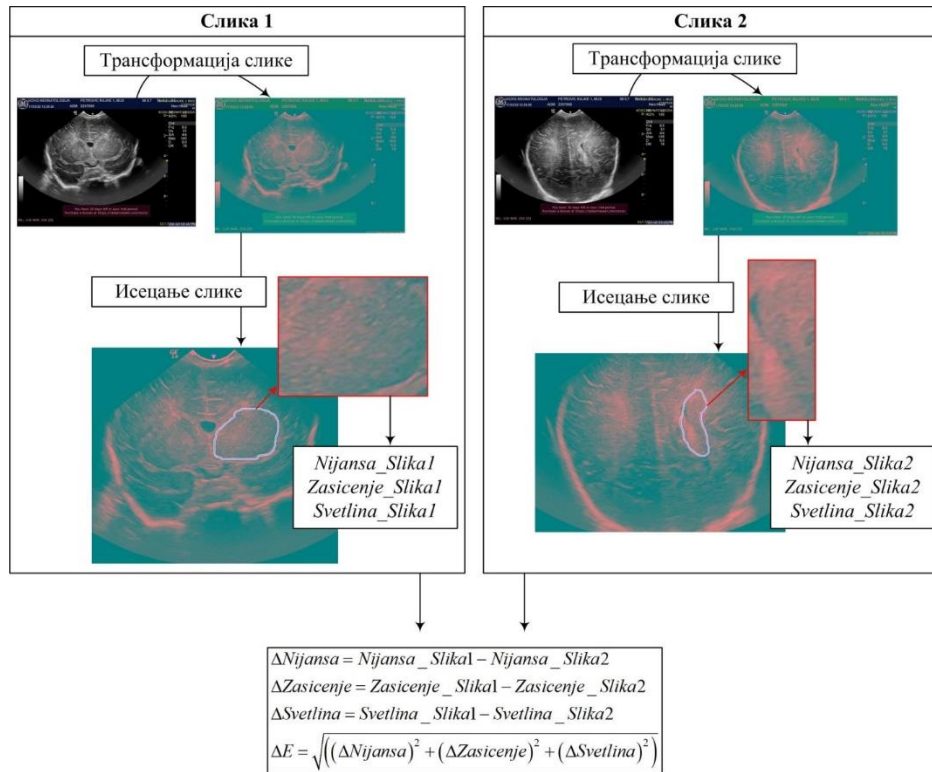
\bar{b} – просечна вредност плаво-жуте компоненте.

Ове вредности добијају се применом формула:

$$\bar{L} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N L_i, \quad (3.2)$$

$$\bar{a} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N a_i, \quad (3.3)$$

$$\bar{b} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N b_i. \quad (3.4)$$



Слика 3.3 Трансформација слика из RGB колор-простора у CIE Lab простор боја.

За сваки дефинисани регион израчунавају се просечне вредности три канала. Другим речима, унутар издвојених региона израчунавају се просечне вредности канала светлине L , црвено-зеленог канала a и плаво-жутог канала b за обе упоредне слике. Затим се користи метрика ΔE CIE76 за израчунавање разлика у бојама између два региона, која представља еуклидско растојање између две тачке у Lab простору и дефинише се следећим изразом:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}, \quad (3.5)$$

где су

ΔL – разлика у средњим вредностима канала светлине између две слике,

Δa – разлика у средњим вредностима црвено-зеленог канала, и

Δb – разлика у средњим вредностима плаво-жутог канала.

Добијена вредност ΔE користи се као објективан параметар за процену промена густине ткива. На основу иницијалне анализе базе постојећих снимака, дефинисани су прагови за класификацију, односно [141]:

$\Delta E > 40 \rightarrow$ нормално стање

$10 \leq \Delta E \leq 40 \rightarrow$ умерена оштећења

$\Delta E < 10 \rightarrow$ интензивна оштећења.

Након израчунавања разлика, две упоредне слике се комбинују у један композитни приказ, чиме се олакшава даља анализа. Тај приказ, даље, представља улаз у CNN модел за финалну класификацију.

Комбиновањем квантитативне анализе густине и дубоког учења постиже се значајно повећање прецизности, репродуктивности и поузданости резултата, што овај приступ чини супериорним у односу на традиционалне методе које се ослањају искључиво на субјективну визуелну процену лекар.

Класификација ултразвучних слика помоћу CNN

Као што је рааније поменуто, развијени модел класификације заснива се на примени CNN и састоји се из два главна дела: екстракције карактеристика и класификације (Слика 3.2). За тренирање модела коришћен је скуп података од 200 ултразвучних слика димензија 100×200 пиксела, које су категоризоване у три класе на основу степена оштећења ткива (Слика 3.4):

- нормално – без патолошких промена,
- умерено – умерено оштећење и
- интензивно – интензивно оштећење.



Слика 3.4 Категорије тренинг података.

Сви прикупљени подаци су организовани у јединствену базу и класификовани на основу процене густине. Скуп података подељен је на три дела: тренинг скуп (70%), валидациони скуп (15%) и тест скуп (15%). Поред стандардне поделе, ради детаљније процене генерализационе способности и стабилности модела, примењена је и петострука унакрсна валидација (enl. *5-fold cross-validation*).

Пре тренирања мреже, све слике су скалиране на исте димензије како би се обезбедила конзистентност приликом обраде. За сваку слику у скупу, која је иницијално имала димензије $M \times N \times C$ (где су M и N ширина и висина слике, а C број канала, нпр. 3 за RGB слике), примењена је линеарна трансформација на нове димензије $P \times Q$ према релацији:

$$d_i(\text{resized}) = \text{transformation}(d_i, P, Q) \quad (3.6)$$

Овом нормализацијом обезбеђено је да све слике буду уједначене величине, што је предуслов за ефикасно тренирање модела.

Развијени CNN модел састоји се од више слојева са различитим структурама и параметрима [142]:

$$L = (L_1, L_2, L_3, \dots, L_N) \quad (3.7)$$

где је L цео скуп слојева мреже, а L_1, L_2, \dots, L_n представљају појединачне слојеве (улазни, конволутивни, слојеви нормализације, pooling слојеви и потпуно повезани слојеви), сваки са својом специфичном улогом.

Предложени модел садржи четири конволутивна блока. Сваки блок обухвата конволутивни слој, Batch Normalization, ReLU (engl. *Rectified Linear Unit*) функцију активације и MaxPooling слој. Улазне слике димензија $100 \times 100 \times 3$ пролазе кроз први конволутивни слој (*Conv1*) са 16 филтера величине 3×3 , након чега следи нормализација и активација. MaxPooling редукује просторну резолуцију на 50×50 , чиме се смањује број параметара и повећава робусност модела.

У другом блоку број филтера се повећава на 32, што омогућава екстракцију комплекснијих карактеристика. Након трећег блока, са 64 филтера, димензије се свде на 12×12 , док четврти блок примењује 128 филтера, што омогућава апстрактно представљање високог нивоа карактеристика. Издвојене карактеристике затим пролазе кроз потпуно повезани слој (engl. *Fully Connected Layer*) који производи вектор излаза са три компоненте. Ове вредности се на крају обрађују помоћу Softmax функције, која резултат претвара у вероватноће припадности свакој од три класе.

Детаљне карактеристике слојева модела приказане су у Табели 3.1.

Основна операција у CNN моделима је конволуција, која омогућава екстракцију карактеристика из улазних података. Конволутивни филтери (језгра) су мале матрице које се крећу преко улазне слике и на свакој позицији врше елемент-по-елемент множење између вредности пиксела и вредности језгра. Резултати множења се затим сабирају и формирају једну вредност излазне мапе коришћењем pooling слојева [132,142]:

$$y[i, j] = \max(x[2i, 2j], x[2i, 2j + 1], x[2i + 1, 2j + 1]), \quad (3.8)$$

где су:

$y[i, j]$ – резултат конволуције на позицији (i, j) ,

$x[m, n]$ – вредност пиксела улазне слике,

$h[i-m, j-n]$ – вредност филтера на позицији $(i-m, j-n)$.

Табела 3.1 Крактеристике слојева CNN модела

Layer	Корак	Изразне димензије	Изразни канали	Величина језгра
Input	-	100x100x3	-	
Conv1	1	100x100	16	3x3
BatchNorm1	-	100x100	16	-
ReLU1	-	100x100	16	-
MaxPool1	2	50x50	16	2x2
Conv2	1	50x50	32	3x3
BatchNorm2	-	50x50	32	-
ReLU2	-	50x50	32	-
MaxPool2	2	25x25	32	2x2
Conv3	1	25x25	64	3x3
BatchNorm3	-	25x25	64	-
ReLU3	-	25x25	64	-
MaxPool3	2	12x12	64	2x2
Conv4	1	12x12	128	-
BatchNorm4	-	12x12	128	-
ReLU4	-	12x12	128	-
Fully Connected	-	1x1	3	-
Softmax	-	1x1	3	-
Classification	-	1x1	3	-

Овај процес омогућава мрежи да препозна ивице, текстуре и облике који су кључни за класификацију. Другим речима, на овај начин се смањује сложеност модела и спречава пренаглашено прилагођавање (*overfitting*).

Модел користи ReLU функцију за уношење нелинеарности [132,142]:

$$f(x) = \max(0, x), \quad (3.9)$$

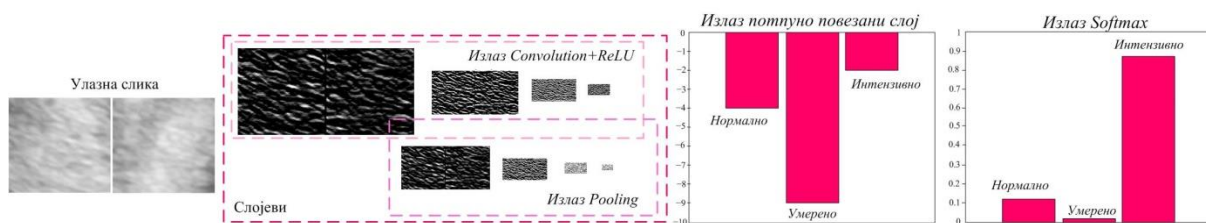
ReLU омогућава ефикасније тренирање и бржу конвергенцију. На завршном слоју примењује се Softmax функција, која претвара вредности излазног вектора у вероватноће припадности класама [141]:

$$\text{softmax}(z)_j = \frac{e^{z_j}}{\sum_{k=1}^K e^{z_k}}, \quad (3.10)$$

где је K укупан број класа, а $\text{softmax}(z)_j$ вероватноћа припадности класи j .

На Слици 3.5 приказан је процес обраде ултразвучних снимака кроз различите слојеве конволутивне неуронске мреже. Улазна слика која се доводи на улаз мреже пролази кроз серију конволутивних и pooling слојева, у којима се екстрахују различите карактеристике слике, као што су ивице, текстуре и нијансе. Након pooling слојева, добијене карактеристике се резимирају, а димензионалност улазне слике се значајно смањује. Излаз из потпуно повезаног слоја комбинује све карактеристике екстраховане из претходних слојева у један финални вектор карактеристика. Вредности овог вектора приказане су у графику и представљају резултат рада мреже пре примене завршне класификације.

Softmax слој на излазу генерише вероватноће припадности за сваку од три класе. На графику се јасно види која класа доминира – у овом примеру класа интензивно оштећење има вероватноћу приближну 1, што указује на високу поузданост модела у доношењу одлуке.



Слика 3.5 Процес обраде неуросонографских снимака.

Са припремљеним тренинг скупом, дефинисаном архитектуром CNN и изабраним параметрима тренирања, спроведен је поступак обучавања модела. Тренирање CNN представља процес прилагођавања тежина мреже како би се минимизовала функција губитка, односно повећала тачност класификације.

У овом раду коришћен је RMSProp оптимизатор, који ажурира тежине W у складу са стопом учења η и градијентом функције губитка $\nabla J(W_t)$, према следећој релацији [143]:

$$W_{t+1} = W_t - \eta \cdot \nabla J(W_t), \quad (3.11)$$

где су:

W_t – тежине CNN модела у текућој итерацији,

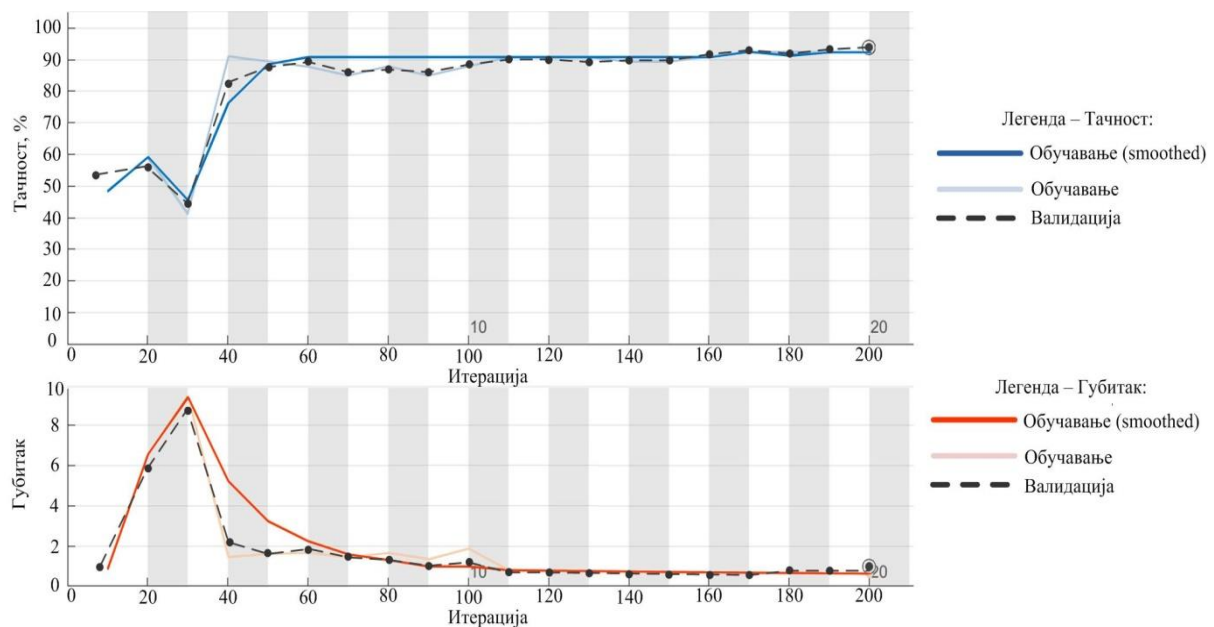
η – стопа учења,

$J(W_t)$ – функција губитка,

$\nabla J(W_t)$ – градијент функције губитка.

Овај поступак понавља се током више епоха, све док се вредност функције губитка не минимизује и не постигне оптималан модел за класификацију ултразвучних снимака.

Слика 3.6 приказује процес тренирања CNN модела [128]. На горњем графику прати се промена тачности током 200 итерација. У почетној фази тренирања тачност је ниска, али након првих четрдесетак итерација долази до наглог пораста и достиже око 60%. Како се тренирање наставља, тачност се постепено повећава и након извесног броја итерација стабилизује се на нивоу изнад 90%, што показује да модел ефикасно учи и препознаје релевантне карактеристике.



Слика 3.6 Ток тренирања CNN модела.

Крива валидационог скупа прати сличан ток као и тренирајући скуп, што указује на добру способност модела за генерализацију и одсуство израженог overfitting-a.

Доњи график на истој слици приказује промену функције губитка током тренирања. У почетним итерацијама вредност губитка је висока и достиже максимум између 20. и 30. итерације. Након тога следи континуирано смањење, а приближно након стоте итерације губитак се стабилизује у близини нуле.

Ови резултати показују да модел током тренирања постепено побољшава своје перформансе – тачност расте, губитак опада, а стабилност се постиже након већег броја епоха. Због тога је избор од 200 епоха оптималан, јер обезбеђује поуздан рад модела,

смањује ризик од overfitting-а и омогућава добру примену на новим, непознатим подацима.

Евалуација перформанси CNN модела

Након развоја предложеног модела за класификацију ултразвучних снимака, било је неопходно извршити свеобухватну процену његових перформанси како би се утврдило у којој мери модел може прецизно и поуздано да разликује различите степене оштећења можданог ткива код новорођенчади. Циљ евалуације није био само да се потврди ефикасност модела у оквиру тренинг скупа, већ и да се процени његова генерализациона способност – односно могућност да правилно класификује нове, непознате снимке [144].

Матрица конфузије (Слика 3.7) представља један од најважнијих алата за евалуацију перформанси CNN модела, јер омогућава јасан визуелни приказ тачности класификације. Редови матрице представљају стварне класе, док колоне означавају предвиђене класе. На пресеку редова и колона налази се број снимака који су правилно или погрешно класификовани у оквиру сваке категорије.

		Стварна класа		
		Нормално	Умерено	Интензивно
Предвиђена класа	Нормално	TP	FP	FP
	Умерено	FN	TP	FP
	Интензивно	FN	FN	TP

Слика 3.7 Матрица конфузије.

У овом истраживању, матрица је тродимензионална јер се врши класификација у три категорије оштећења можданог ткива:

- Normal – снимци без патолошких промена,
- Moderate – снимци са умереним оштећењем,
- Intensive – снимци са израженим оштећењем.

Вредности које се налазе дуж главне дијагонале представљају број правилно класификованих снимака, односно True Positives за сваку класу. Супротно томе, вандијагонални елементи показују погрешно класификоване снимке. Када снимак заиста припада одређеној класи, али га је модел сврстао у другу, говоримо о случајевима False Negatives. С друге стране, када снимак не припада одређеној класи, али га је модел нетачно означио као да јој припада, реч је о случајевима False Positives.

У практичним приказима конфузионе матрице често се користи колорна скала, при чему интензитет боје указује на проценат исправно класификованих снимака. Тамније боје означавају бољу препознатљивост одређене класе, док светлије нијансе указују на већи број грешака у класификацији.

За процену ефикасности модела коришћене су најзначајније метрике које се стандардно примењују у анализи медицинских слика: тачност, осетљивост, специфичност, прецизност, F1 мера, AUC анализа (engl. *Area Under the Curve*) и матрица конфузије. Комбиновањем ових показатеља добија се свеобухватна слика о понашању CNN модела, његовој способности детекције оштећења и поузданости у доношењу класификационих одлука [132,133,144,145].

Све наведене метрике заснивају се на елементима матрице конфузије, која пружа јасан преглед односа између стварних стања и предвиђања модела. Матрица се састоји од четири кључна параметра: TP (*True Positive*) – број снимака који заиста припадају класи оштећења и које је модел исправно класификовао, TN (*True Negative*) – број здравих снимака које је модел тачно препознао као здраве, FP (*False Positive*) – број здравих снимака који су погрешно класификовани као оштећени и FN (*False Negative*) – број оштећених снимака које је модел погрешно препознао као здраве.

Правилно тумачење ових параметара омогућава да се прецизно процени укупни ниво тачности модела, као и његова способност да поуздано разликује клинички релевантне случајеве.

Осетљивост представља меру способности модела да правилно идентификује снимке код којих оштећење заиста постоји. Висока вредност овог параметра значи да модел ретко пропушта случајеве оштећења, што је од изузетног значаја у клиничкој пракси, јер пропуштене дијагнозе могу имати озбиљне последице по здравље новорођенчета.

$$\text{Осетљивост} = \frac{TP}{TP+FN}, \quad (3.12)$$

У контексту овог истраживања, висока осетљивост модела значи да је способан да детектује чак и суптилне промене густине ткива, што је кључно за рану дијагностику хипоксично-исхемијских оштећења.

За разлику од осетљивости, која се фокусира на правилно препознавање оштећених снимака, специфичност мери способност модела да правилно идентификује здраве снимке:

$$\text{Специфичност} = \frac{TN}{TN+FP} \quad (3.13)$$

Висока специфичност осигурава да се здрави пацијенти не означавају погрешно као ризични, чиме се избегавају непотребни медицински поступци и смањује психолошки стрес код родитеља.

Тачност представља свеобухватни показатељ укупне исправности модела, односно проценат случајева у којима је модел донео исправну класификацију:

$$\text{Тачност} = \frac{TP+TN}{TP+TN+FP+FN} \quad (3.14)$$

Међутим, у проблемима као што је класификација медицинских снимака, где може постојати дисбаланс између броја здравих и оштећених снимака, тачност сама по себи није довољна. Због тога је важно анализирати и друге метрике.

Прецизност показује поузданост позитивних предвиђања модела, односно колики проценат снимака које је модел означио као оштећене заиста припада тој категорији:

$$\text{Прецизност} = \frac{TP}{TP+FP} \quad (3.15)$$

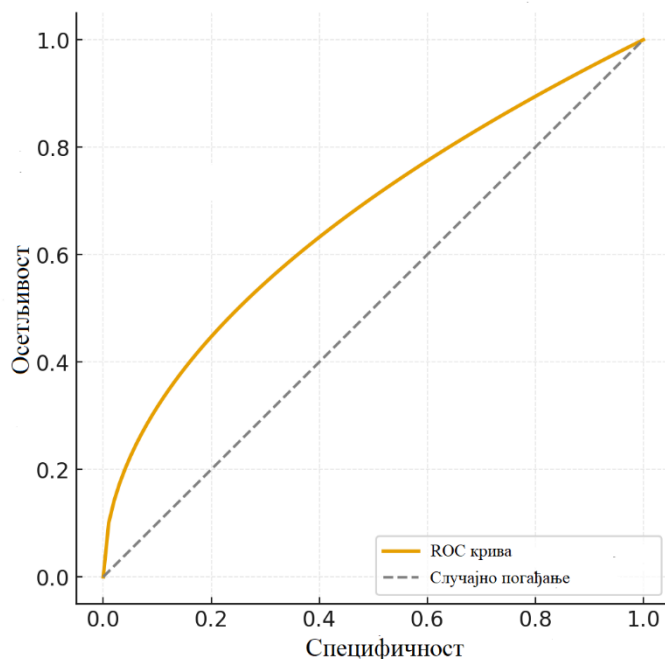
Висока прецизност значи да модел ретко „прави лажне аларме”, што је значајно за избегавање непотребних интервенција.

F1 мера комбинује осетљивост и прецизност у један показатељ, представљајући њихову хармонијску средину:

$$F1 \text{ мера} = \frac{2 \cdot \text{Прецизност} \cdot \text{Сензитивност}}{\text{Прецизност} + \text{Сензитивност}} \quad (3.16)$$

F1 је посебно користан када је неопходно постићи равнотежу између способности откривања оштећења и поузданости у тим предвиђањима. У анализи медицинских снимака ова мера има кључну улогу, јер пропуштање позитивних случајева или претерано означавање здравих као ризичних могу имати озбиљне последице.

ROC (engl. *Receiver Operating Characteristic*) (Слика 3.8) крива представља графички приказ односа између True Positive Rate (TPR) и False Positive Rate (FPR) за различите прагова класификације. Она показује колико је модел успешан у разликовању позитивних од негативних случајева. Што је ROC крива ближа горњем левом углу графика, то је боља дискриминативна способност модела.



Слика 3.8 Теоријски ROC график.

Вредност AUC представља површину испод ROC криве и користи се као један од кључних показатеља укупних перформанси модела. Што је вредност AUC ближа 1, то модел има већу способност да правилно разликује класе, што указује на високу ефикасност и поузданост класификације. Супротно томе, вредност AUC приближна 0.5 означава да модел нема бољу тачност од случајног погађања, што указује на недовољну дискриминативну способност.

3.5 Снага студије и величина узорка

Прорачун величине узрока је извршен на основу резултата претходно објављене студије која је показала ефекте хроничне суплементације омега-3 полинезасићеним масним киселинама код пацова указујући на њихово неуропротективно дејство у хемипаркинсонском моделу индукованом 6-хидроксидопамином [146].

Одређивање величине узорка за ово истраживање засновано је на полазним параметрима: снага студије 95% , вероватноће да ће се десити грешка првог типа од 0,05 и величине ефекта омега-3 масних киселина, изражен у виду промене нивоа нитрата у префронталном кортексу забележеног у претходном истраживању. Израчуната величина ефекта је 0,724. Применом двосмерне анализе и односа група 1:1 потребан је минимално 51 пацијент по групи, укупно 102. Коришћен је *Student-ov t*-тест за две независне групе у програму G power.

3.6 Статистичка обрада података

Подаци о основним карактеристикама пацијената су обрађени и приказани методама дескриптивне статистике. Категоријске варијабле приказане су као број и учесталост (проценти), док су континуалне варијабле приказане као средње вредности \pm стандардна девијација када је утврђено да прате нормалну расподелу, односно медијана и интерквartilни распон (IQR) када нормалност расподеле није утврђена. Нормалност расподеле вредности процењена је *Kolmogorov–Smirnov* тестом.

За поређење континуалних варијабли између две групе коришћен је *Student-ov t* тест уколико је утврђена нормална расподела података, односно *Mann-Whitney U* тест када тај услов није био испуњен. За поређење више од две групе коришћен је *One Way ANOVA*, а као непараметријска алтернатива примењен је *Kruskal-Wallis* тест. За процену промена вредности унутар исте групе током периода праћења, примењен је *Friedman-ов* тест. Уколико је *Friedman-ов* тест показао статистички значајну разлику, накнадна поређења између појединачних временских тачака извршена су *Wilcoxon-овим* тестом. Разлике између група у учесталости категоријских варијабли процењиване су χ^2 – тестом, односно *Fisher-овим* тестом стварне вероватноће у случајевима када је очекивана учесталост у појединим пољима била мала.

4 Резултати истраживања

4.1 Демографске карактеристике пацијената при рођењу

У истраживање је првобитно било укључено 143 пацијената, од којих је деветоро искључено због непотпуних података (седам смртних исхода и два транспорта у другу здравствену установу ради наставка лечења). Коначан број пацијената обухваћених студијом износио је 134.

Просечна гестацијска старост пацијената била је $32,94 \pm 3,20$ недеље. Телесна тежина на рођењу износила је у просеку $2079,00 \pm 575,51$ g, док је телесна дужина износила $45,45 \pm 4,76$ cm. Обим главе био је у просеку $31,02 \pm 2,67$ cm, а обим грудног коша $27,73 \pm 3,21$ cm. На основу суплементације омега-3 масним киселинама, сви пацијенти су подељени у две групе: терапијску групу чинило је 68 (50,7%) пацијената, а контролну 66 (49,3%) пацијената.

При анализи расподеле полова између терапијске и контролне групе није утврђена статистички значајна разлика ($p > 0,05$). Медијане гестацијске старости, телесне тежине, телесне дужине, обима главе и обима грудног коша биле су сличне у терапијској и контролној групи (Табела 4.1).

Табела 4.1 Демографске и антропометријске карактеристике пацијената при рођењу

Параметар		Контролна група N(%)	Терапијска група N(%)	$\chi^2/df/p$
Пол	Мушки пол	37(56,1)	42(61,8)	0,451/1/0,502
	Женски пол	29(43,9)	26(38,2)	
Параметар		Контролна група Медијана(IQR)	Терапијска група Медијана(IQR)	U/p
Гестацијска старост (недеља)		33,0 (3)	34,0(3)	1872,00/0,09 4
Телесна тежина (cm)		1950,0(748)	2040,0(868)	2013,00/0,30 4
Телесна дужина (cm)		45,0(6)	45,5(8)	1950,50/0,19 1
Обим главе (cm)		31,0 (3)	31,0(3)	1955,5/0,195
Обим грудног коша (cm)		28,0(4)	27,0(4)	2205,50/0,98 4

IQR – опсег међуквартила, χ^2 – Вредност *Chi-Square* теста, df – степени слободе, p – значајност, U – вредност *Mann Whitney U* теста.

Групе су биле међусобно хомогене и у погледу вредности *Apgar* скора у првом и петом минути живота. Медијане ових параметара нису показале статистички значајну разлику између група ($p > 0,05$), што је приказано у Табели 4.2.

Табела 4.2 Вредности *Apgar* скора у испитиваним групама

Параметар	Контролна група Медијана(IQR)	Терапијска група Медијана(IQR)	U/p
<i>Apgar</i> скор 1. минут	7,0(2)	8,0(1)	1805,50/0,079
<i>Apgar</i> скор 5. минут	7,0(2)	7,0(1)	296,00/0,335

IQR – опсег међуквртила, U – вредност *Mann Whitney U* теста, p – значајност.

4.2 Карактеристике зачећа, порођаја и начина исхране

Није показана статистички значајна разлика у погледу присуства *in vitro* фертилизације, начина порођаја и начина исхране ($p > 0,05$). *In vitro* фертилизација била је нешто чешћа у терапијској групи (13,2%) у поређењу са контролном групом (6,1%), (Табела 4.3), али без статистички значајне разлике ($p > 0,05$).

Што се тиче типа порођаја, у обе посматране групе забележена је висока учесталост царског реза (63,1% у контролној и 54,4% у терапијској групи). Након хоспитализације, већина новорођенчади је храњена адаптираном млечном формулом (71,9% контролна, 70,5% терапијска), док је мањи број био на исхрани мајчиним млеком (22,8% контролна, 19,7% терапијска) (Табела 4.3).

Табела 4.3 Карактеристике зачећа, порођаја и начина исхране

Параметар		Контролна група N (%)	Терапијска група N (%)	$\chi^2/df/p$
<i>In vitro</i> фертилизација	Не	62(93,9)	59(86,8)	1,234/1/0,267
	Да	4(6,1)	9(13,2)	
Тип порођаја	Природни порођај	24(36,9)	31(45,6)	1,031/1/,310
	Царски рез	41(63,1)	37(54,4)	
Начин исхране након хоспитализације	Мајчино млеко	13(22,8)	12(19,7)	0,953/2/0,621
	АМФ	41(71,9)	43(70,5)	
	Комбинована	3(5,3)	6(9,8)	

χ^2 – Вредност *Chi-Square* теста, df – степени слободe, p – значајност.

4.3 Потреба за оксигенотерпијом и применом механичке вентилације

Већина новорођенчади у обе групе захтевала је примену оксигенотерапије (контролна група 96,8%, терапијска група 94,1%), док је механичку вентилацију захтевао мањи број пацијената (контролна 12,7%, терапијска 10,3%). Ни у једном од ових параметара није утврђена статистички значајна разлика између група ($p > 0,05$), што је приказано у Табели 4.4.

Табела 4.4 Карактеристике примене оксигенотерапије и механичке вентилације

Параметар		Контролна група N (%)	Терапијска група N (%)	$\chi^2/df/p$
Оксигенотерапија	Не	2(3,2)	4(5,9)	0,104/1/0,747
	Да	61(96,8)	64(94,1)	
Механичка вентилација	Не	55(87,3)	61(89,7)	0,025/1/0,875
	Да	8(12,7)	7(10,3)	

χ^2 – Вредност *Chi-Square* теста, df – степени слободe, p – значајност.

Показана је статистички значајна разлика у броју дана оксигенотерапије између група, при чему је медијана трајања терапије била мања у терапијској групи (5,0 дана) у односу на контролну групу (7,0 дана) ($p = 0,005$). Медијане трајања механичке вентилације биле су једнаке у обе групе (8,5 дана), без статистички значајне разлике ($p > 0,05$). Трајање оксигенотерапије и механичке вентилације по групама приказано је у Табели 4.5.

Табела 4.5 Трајање оксигенотерапије и механичке вентилације

Параметар	Контролна група Медијана(IQR)	Терапијска група Медијана(IQR)	U/p
Оксигенотерапија (број дана)	7,0(8)	5,0(6)	1415,00/0,005
Механичка вентилација (број дана)	8,5(4)	8,5(48)	23,50/0,950

IQR – опсег међуквартила, U – вредност *Mann Whitney U* теста, p – значајност.

4.4 Приказ параметара добијених израдом гасних анализа капиларне артеријализоване крви новорођенчади

4.4.1 Вредности рН, респираторних гасова и параметара ацидо-базне равнотеже

Вредност рН је 2. и 7. дана била статистички значајно виша у поређењу са 1. даном, у обе испитиване групе ($p < 0,001$). Обе групе су показале сличне резултате параметара гасне размене, без статистички значајне разлике ($p > 0,05$), (Табела 4.6).

Вредности парцијалног притика кисеоника (pO_2) су показале статистички значајне разлике између група 1. и 2. дана, при чему је медијана pO_2 била значајно нижа у терапијској групи у односу на контролу како 1. ($p = 0,025$), тако и 2. дана ($p = 0,009$), (Табела 4.6).

Вредности pCO_2 у терапијској групи 7. дана биле су статистички значајно ниже у односу на 1. и 2. дан ($p < 0,05$). Вредности pO_2 2. и 7. дана биле су статистички значајно више у поређењу са 1. даном ($p < 0,001$) у обе испитиване групе, (Табела 4.6).

Табела 4.6 Вредности гасних анализа (pH , pO_2 и pCO_2) у контролној и терапијској групи

Параметар		Контролна група Медијана(IQR)	Терапијска група Медијана(IQR)	U/p
pH	1. дан	7,30(0,09)	7,27(0,10)	2132,50/0,619
	2. дан	7,38(0,08)**	7,38(0,07)**	2154,50/0,690
	7. дан	7,38(0,09)**	7,39(0,07)**	1727,50/0,096
pCO₂ (mmHg)	1. дан	6,70(2,4)	6,80(2,0)	2080,50/0,467
	2. дан	5,00(1,7)	5,05(1,4)	2155,50/0,694
	7. дан	5,20(1,7)	4,90(1,1)*.#	1668,50/0,052
pO₂ (mmHg)	1. дан	6,80(2,2)	6,20(1,5)	1711,50/0,025
	2. дан	7,10(2,2)**	6,30(1,9)**	1627,00/0,009
	7. дан	7,05(1,2)**	6,70(1,6)**	1741,50/0,111

IQR – опсег међуквартила, U – вредност *Mann Whitney U* теста, p – значајност, *- $p < 0,05$ у односу на 1. дан; **- $p < 0,001$ у односу на 1. дан; #- $p < 0,05$ у односу на 2. дан; ##- $p < 0,001$ у односу на 2. дан.

За вредности бикарбоната нису утврђене статистички значајне разлике између група ($p > 0,05$). У обе групе, вредности HCO_3^- 2. дана биле су статистички значајно више у односу на 1. дан ($p < 0,05$). У терапијској групи, вредности HCO_3^- 7. дана биле су статистички значајно више у односу на 1. дан ($p < 0,001$) и 2. дан ($p < 0,05$), (Табела 4.7).

При поређењу између група није утврђена статистички значајна разлика у вредностима базног ексцеса и лактата ни у једном тренутку мерења ($p > 0,05$). Међутим, у обе групе вредности лактата 7. дана биле су статистички значајно ниже у односу на 1. дан ($p < 0,001$) и 2. дан ($p < 0,001$) (Табела 4.7).

Табела 4.7 Вредности, HCO_3^- , базног ексцеса и лактата у контролној и терапијској групи

Параметар		Контролна група Медијана(IQR)	Терапијска група Медијана(IQR)	U/p
HCO_3^- (mmol/L)	1. дан	21,65(3,6)	21,60(3,3)	1807,00/0,052
	2. дан	22,50(2,5)*	22,35(2,5)*	2069,00/0,436
	7. дан	22,95(3,0)**,#	22,90(2,0)*,#	1931,00/0,796
Базни ексцес (mmol/L)	1. дан	-2,30(5,3)	-2,75(3,7)	2015,50/0,309
	2. дан	-2,80(4,5)	-3,00(4,4)	2123,00/0,695
	7. дан	-2,15(4,4)	-2,10(3,5)	2107,00/0,981
Лактати (mmol/L)	1. дан	2,40(1,7)	2,70(1,3)	1799,50/0,064
	2. дан	2,50(1,9)	2,40(1,3)*	2185,00/0,907
	7. дан	1,30(1,0)**,#	1,40(0,8)**,#	2051,50/0,893

IQR – опсег међуквртила, U – вредност *Mann Whitney U* теста, p – значајност, *- $p < 0,05$ у односу на 1. дан; **- $p < 0,001$ у односу на 1. дан; #- $p < 0,05$ у односу на 2. дан; ##- $p < 0,001$ у односу на 2. дан.

У контролној и терапијској групи, вредности засићења хемоглобина кисеоником (SaO_2) 2. и 7. дана биле су статистички значајно више у односу на 1. дан ($p < 0,001$). Посматрано међу групама, 1. дана вредности SaO_2 биле су статистички значајно више у терапијској групи у односу на контролу ($p = 0,000$). Сличан резултат је добијен и 7. дана када је утврђена статистички значајна разлика у корист терапијске групе ($p = 0,007$). Међутим, 2. дана разлика између група није била статистички значајна ($p = 0,080$), (Табела 4.8).

Табела 4.8 Вредности SaO₂ у контролној и терапијској групи

Параметар		Контролна група Медијана(IQR)	Терапијска група Медијана(IQR)	U/p
SaO ₂	1. дан	94,00(4)	96,00(4)	1383,50/0,000
	2. дан	97,50(3)**	98,00(1)**	1864,50/0,080
	7. дан	97,00(3)**	98,00(2)**	1524,00/0,007

IQR – опсег међуквартила, U – вредност *Mann Whitney U* теста, p – значајност, *-p<0,05 у односу на 1. дан; **-p<0,001 у односу на 1. дан; #-p<0,05 у односу на 2. дан; ##-p<0,001 у односу на 2. дан.

4.4.2 Вредности електролита и глукозе

При поређењу међу групама, вредности Na⁺ биле су статистички значајно више у терапијској групи 1. дана (p=0,002) и 2. дана (p=0,042). Вредности K⁺ су 1. дана такође биле значајно више у терапијској групи (p=0,010), док 2. и 7. дана није утврђена значајна разлика (p>0,05). За вредности Ca²⁺ и глукозе није утврђена статистички значајна разлика међу групама ниједног од посматраних дана (p>0,05), (Табела 4.9).

У обе групе вредности Na⁺ су показале значајан пораст током периода праћења. Вредности 2. и 7. дана биле су статистички значајно више у односу на 1. дан (p<0,001), док је 7. дана утврђена и статистички значајна разлика у односу на 2. дан (p<0,05). Вредности K⁺ су 7. дана у обе групе биле статистички значајно ниже у односу на 1. и 2. дан (p<0,001). Вредности Ca²⁺ су 2. дана биле статистички значајно ниже у односу на 1. дан (p<0,001), док су 7. дана биле статистички значајно више у односу на 2. дан (p<0,001) у обе групе (Табела 4.9).

Вредности глукозе су 2. и 7. дана биле статистички значајно више у односу на 1. дан при чему је разлика била израженија у терапијској групи (p<0,001) него у контролној (p<0,05), (Табела 4.9).

Табела 4.9 Вредности електролита и глукозе по данима у контролној и терапијској групи

Параметар		Контролна група Медијана(IQR)	Терапијска група Медијана(IQR)	U/p
Na ⁺ (mmol/L)	1. дан	130,50(5)	133,00(6)	1555,50/0,002
	2. дан	133,50(5)**	135,00(5)**	1788,00/0,042
	7. дан	135,50(5)**,#	137,00(4)**,#	1678,00/0,057
K ⁺ (mmol/L)	1. дан	5,40(1,1)	5,80(1,8)	1665,00/0,010
	2. дан	5,30(1,3)	5,40(1,4)	2023,00/0,325
	7. дан	4,55(0,9)**,##	4,70(1,1)**,##	1964,00/0,584
Ca ²⁺ (mmol/L)	1. дан	1,29(0,16)	1,26(0,17)	1873,00/0,099
	2. дан	1,11(0,19)**	1,11(0,16)**	2102,00/0,527
	7. дан	1,32(0,14)##	1,30(0,11)##	1845,50/0,269
Глукоза (mmol/L)	1. дан	3,75(2,1)	3,15(1,8)	2216,00/0,901
	2. дан	4,50(2,2)**	4,70(2,0)*	2116,50/0,570
	7. дан	4,65(1,1)**	4,70(1,4)*	2007,00/0,731

IQR – опсег међуквртила, U – вредност *Mann Whitney U* теста, p – значајност, *-p<0,05 у односу на 1. дан; **-p<0,001 у односу на 1. дан; #-p<0,05 у односу на 2. дан; ##-p<0,001 у односу на 2. дан.

4.4.3 Концентрација хемоглобина, хематокрита и билирубина

При поређењу између група није утврђена статистички значајна разлика у вредностима хемоглобина и хематокрита ниједног од посматраних дана (p>0,05).

Вредности Hgb су у обе групе 2. и 7. дана биле статистички значајно ниже у односу на 1. дан (p<0,001), (Табела 4.10).

Вредности Hct су 2. дана биле статистички значајно ниже у односу на 1. дан (p<0,05 у контролној и p<0,001 у терапијској групи), а 7. дана је у обе групе утврђено додатно статистички значајно смањење у односу на 2. дан (p<0,001), (Табела 4.10).

Вредности билирубина су 1. и 7. дана биле статистички значајно више у терапијској групи у поређењу са контролном (p=0,001 и p=0,005). У оквиру обе групе, 2. и 7. дана вредности билирубина су биле значајно више у односу на 1. дан (p<0,001), а 7. дана је утврђено додатно статистички значајно повећање у односу на 2. дан (p<0,001), (Табела 4.10).

Табела 4.10 Вредности Hgb, Hct и билирубина у контролној и терапијској групи

Параметар		Контролна група Медијана(IQR)	Терапијска група Медијана(IQR)	U/p
Hgb (g/L)	1. дан	194,00(41)	199,50(35)	1636,50/0,156
	2. дан	189,00(32)**	191,00(31)**	1919,00/0,540
	7. дан	178,00(34)**,#	178,00(22)**,#	1896,00/0,386
Hct (%)	1. дан	58,00(13)	59,00(10)	2078,50/0,461
	2. дан	54,00(13))*	55,00(10))**	2081,50/0,469
	7. дан	50,00(12))**,##	50,00(9))**,##	1990,00/0,671
Билирубин (umol/L)	1. дан	34,00(0)	27,00(33)	1003,50/0,001
	2. дан	88,00(43)**	85,00(59)**	1724,50/0,709
	7. дан	126,00(76)**,#	152,00(78)**,#	1212,50/0,005

IQR – опсег међуквартила ,U – вредност *Mann Whitney U* теста, p – значајност, *-p<0,05 у односу на 1. дан; **-p<0,001 у односу на 1. дан; #-p<0,05 у односу на 2. дан; ##-p<0,001 у односу на 2. дан.

4.5 Параметри комплетне крвне слике

Вредности лимфоцита, еозинофила и тромбоцита 7. дана биле су статистички значајно више у обе посматране групе у поређењу са 1. даном (p<0,05). Вредности еритроцита, хемоглобина, хематокрита, просечног волумена еритроцита (MCV), просечне количине хемоглобина (MCH) и неутрофила 7. дана биле су статистички значајно ниже у обе посматране групе у односу на 1. дан (p<0,05). За вредност базофила и моноцита није утврђена статистички значајна промена 7. дана у поређењу са 1. даном (p>0,05).

При поређењу међу групама, 7. дана утврђена је статистички значајна разлика у вредностима неутрофила (p=0,010), еозинофила (p=0,001), базофила (p=0,001) и тромбоцита (p=0,017), док код осталих параметара није било статистички значајних разлика (p>0,05). Разлика између контролне и терапијске групе није уочена 1. дана за испитиване хематолошке параметаре (p>0,05). Хематолошки параметри су приказани у Табели 4.11.

Табела 4.11 Вредности хематолошких параметара у контролној и терапијској групи

Параметар		Контролна група Медијана(IQR)	Терапијска група Медијана(IQR)	U/p
Еритроцити (10 ¹² /L)	1. дан	4,95(0,57)	4,96(0,96)	2181,00/0,896
	7. дан	4,09(0,79)**	4,16(1,03)**	1814,00/0,708
Хемоглобин (g/L)	1. дан	181,00(26)	183,00(37)	2186,00/0,914
	7. дан	145,00(35)**	153,00(32)**	1730,00/0,424
Хематокрит (%)	1. дан	53,10(8)	54,00(11)	2176,50/0,880
	7. дан	42,00(10)**	44,00(10)**	1820,00/0,730
Леукоцити (10 ⁹ /L)	1. дан	15,60(6,33)	16,61(9,99)	1845,00/0,100
	7. дан	12,85(5,16)**	12,93(5,25)**	1875,50/0,950
Лимфоцити (10 ⁹ /L)	1. дан	28,90(16,6)	28,20(19,4)	2093,00/0,598
	7. дан	45,40(14,7)**	50,35(25,4)**	1582,50/0,122
Неутрофили (10 ⁹ /L)	1. дан	58,00(17,8)	61,35(20,2)	2011,00/0,370
	7. дан	43,60(15,1)*	35,05(25,1)**	1376,00/0,010
Моноцити (10 ⁹ /L)	1. дан	6,20(8,3)	4,00(8,7)	1813,00/0,097
	7. дан	7,60(7,3)	5,50(9,8)	1805,00/0,674
Еозинофили (10 ⁹ /L)	1. дан	0,50(0,9)	0,20(0,3)	1535,00/0,002
	7. дан	1,40(2,5)**	0,50(1,4)*	1233,50/0,001
Базофили (10 ⁹ /L)	1. дан	0,70(0,7)	0,50(0,8)	1065,00/0,065
	7. дан	0,60(0,5)	0,25(0,6)	802,50/0,001
Тромбоцити (10 ⁹ /L)	1. дан	199,00(99)	190,50(92)	1942,50/0,229
	7. дан	285,00(173)**	220,50(130)**	1415,00/0,017
MCV (fL)	1. дан	110,20 (7,5)	108,50 (9,3)	2141,00/0,756
	7. дан	103,50 (7,2)**	103,15 (9,8)**	1849,00/0,843
MCH (pg)	1. дан	36,70 (2,5)	36,40 (3,6)	2182,50/0,901
	7. дан	35,20 (2,6)**	35,30 (3,8)**	1796,00/0,641

IQR – опсег међуквартила, U – вредност *Mann Whitney U* теста, p – значајност, *-p<0,05 у односу на 1. дан; **-p<0,001 у односу на 1. дан.

4.6 Биохемијски параметри

Биохемијски параметри су приказани у Табели 4.12. Вредности Ц-реактивног протеина, прокалцитонина, урее и креатинина нису показале статистички значајну разлику између контролне и терапијске групе ($p > 0,05$).

Табела 4.12 Вредности CRP, PCT, урее и креатинина у контролној и терапијској групи

Параметар	Контролна група Медијана(IQR)	Терапијска група Медијана(IQR)	U/p
CRP (mg/L)	2,15 (3,67)	1,55 (3,33)	2007,50/0,292
PCT (ng/mL)	0,54 (0,95)	0,52 (1,18)	2008,50/0,736
Уреа (mmol/L)	3,10 (3,00)	2,70 (2,10)	1809,50/0,122
Креатинин (umol/L)	71,00 (21)	68,00 (19)	1879,50/0,221

IQR – опсег међуквартила, U – вредност *Mann Whitney U* теста, p – значајност.

4.7 Примена фототерапије и микробиолошке анализе

Није уочена статистички значајна разлика између контролне и терапијске групе у учесталости фототерапије, као ни у учесталости позитивних налаза хемокултуре и уринокултуре. Негативни налази хемокултура су били често заступљени у обе посматране групе (97,0% у контролној и 94,1% у терапијској групи), као и негативни налази уринокултура (93,9% у контролној и 97,1% у терапијској групи) (Табела 4.13).

Табела 4.13 Учесталост фототерапије и позитивних налаза хемокултуре и уринокултуре у контролној и терапијској групи

Параметар		Контролна група N(%)	Терапијска група N(%)	$\chi^2/df/p$
Фототерапија	Не	45 (68,2)	42 (61,8)	0,606/1/0,436
	Да	21 (31,8)	26 (38,2)	
Хемокултура	Негативна	64 (97,0)	64 (94,1)	-1/0,681*
	Позитивна	2 (3,0)	4 (5,9)	
Уринокултура	Негативна	62 (93,9)	66 (97,1)	-1/0,437*
	Позитивна	4 (6,1)	2 (2,9)	

χ^2 – Вредност *Chi-Square* теста, df – степени слободe, p – значајност, * – *Fisher's Exact Test*.

4.8 Ехокардиографски налаз

У ехокардиографским налазима најчешће је детектовано присуство перзистентне феталне циркулације, односно перзистентног овалног отвора (engl. *patent foramen ovale*, PFO) и перзистентног ductus arteriosus.

Већина пацијената није имала урођене срчане мане, PFO или PDA. Није утврђена статистички значајна разлика између контролне и терапијске групе у учесталости забележених урођених срчаних мана (атријални и вентрикуларни септални дефект), као ни у учесталости PFO и PDA. Учесталост урођених срчаних мана била је већа у терапијској (19,1%) него у контролној групи (6,1%) (Табела 4.14).

Табела 4.14 Учесталост урођених срчаних мана, PFO и PDA у контролној и терапијској групи

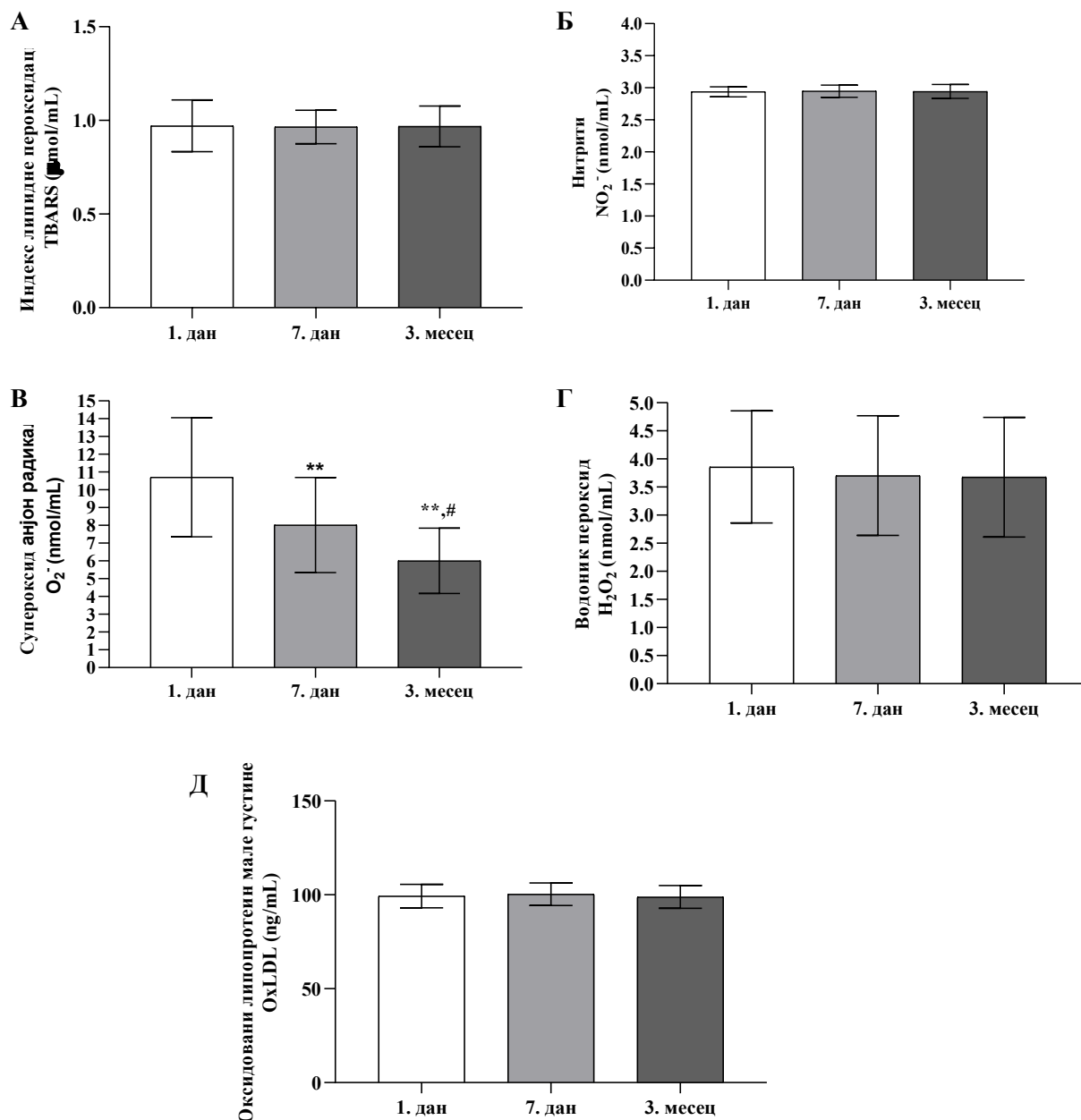
Параметар		Контролна група N (%)	Терапијска група N (%)	$\chi^2/df/p$
PFO	Не	56 (84,8)	59 (86,8)	0,101/1/0,751
	Да	10 (15,2)	9 (13,2)	
PDA	Не	62 (93,9)	66 (97,1)	-/1/0,437*
	Да	4 (6,1)	2 (2,9)	
Урођене срчане мане	Не	62 (93,9)	55 (80,9)	4,746/1/0,029
	Да	4 (6,1)	13 (19,1)	

χ^2 – Вредност *Chi-Square* теста, df – степени слободе, p – значајност, * – *Fisher's Exact Test*.

4.9 Параметри оксидационог стреса

4.9.1 Прооксидациони маркери у контролној групи

У контролној групи, током посматраног периода, није забележена статистички значајна промена у вредностима већине прооксидационих маркера. Вредности нитрита, водоник пероксида, индекса липидне пероксидације и оксидованог липопротеина ниске густине нису се значајно разликовале током три времена мерења ($p > 0,05$). Насупрот томе, вредности супероксид анјон радикала биле су статистички значајно ниже након 3. месеца у односу на 1. и 7. дан ($p < 0,001$ и $p < 0,05$, респективно), као и 7. дана у односу на 1. дан ($p < 0,001$). Преглед вредности прооксидационих маркера у контролној групи дат је на Графикону 4.1.



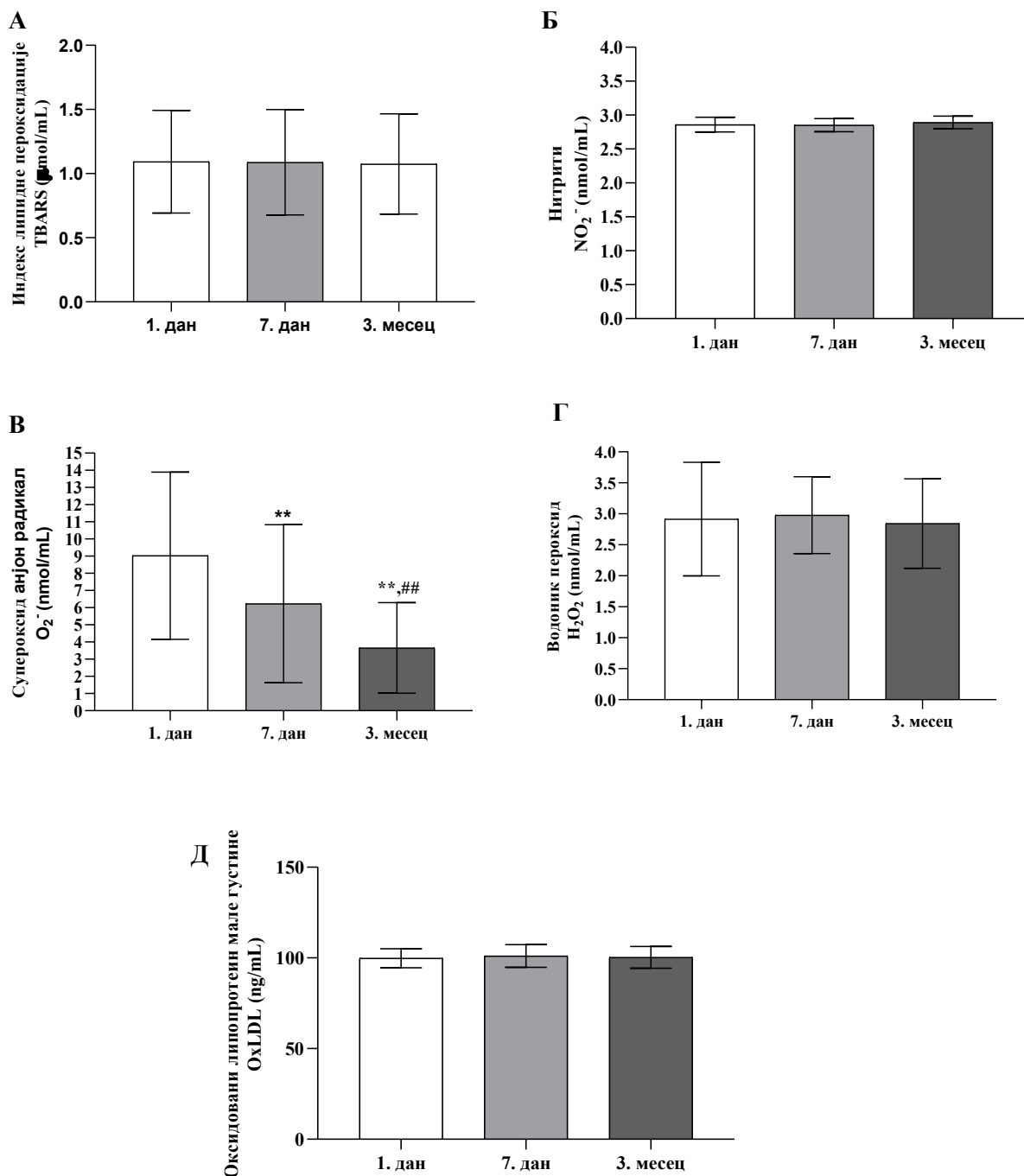
Графикон 4.1 Вредности прооксидационих маркера у контролној групи: (А) TBARS; (Б) NO₂⁻; (В) O₂⁻; (Г) H₂O₂; (Д) OxLDL.

*-p<0,05 у односу на 1. дан; **-p<0,001 у односу на 1. дан; #-p<0,05 у односу на 7. дан; ##-p<0,001 у односу на 7. дан. Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација.

4.9.2 Прооксидациони маркери у терапијској групи

Слично као у контролној групи, током посматраног периода у терапијској групи није забележена значајна промена у вредностима NO₂⁻, H₂O₂, TBARS и OxLDL. Вредности прооксидационих маркера се нису значајно разликовале током три времена

мерања ($p > 0,05$). Међутим, за вредности O_2^- уочене су статистички значајне разлике између сва три тренутка мерења ($p < 0,001$), при чему су најниже вредности забележене након 3. месеца. Вредности прооксидационих маркера у терапијској групи су приказане на Графикону 4.2.

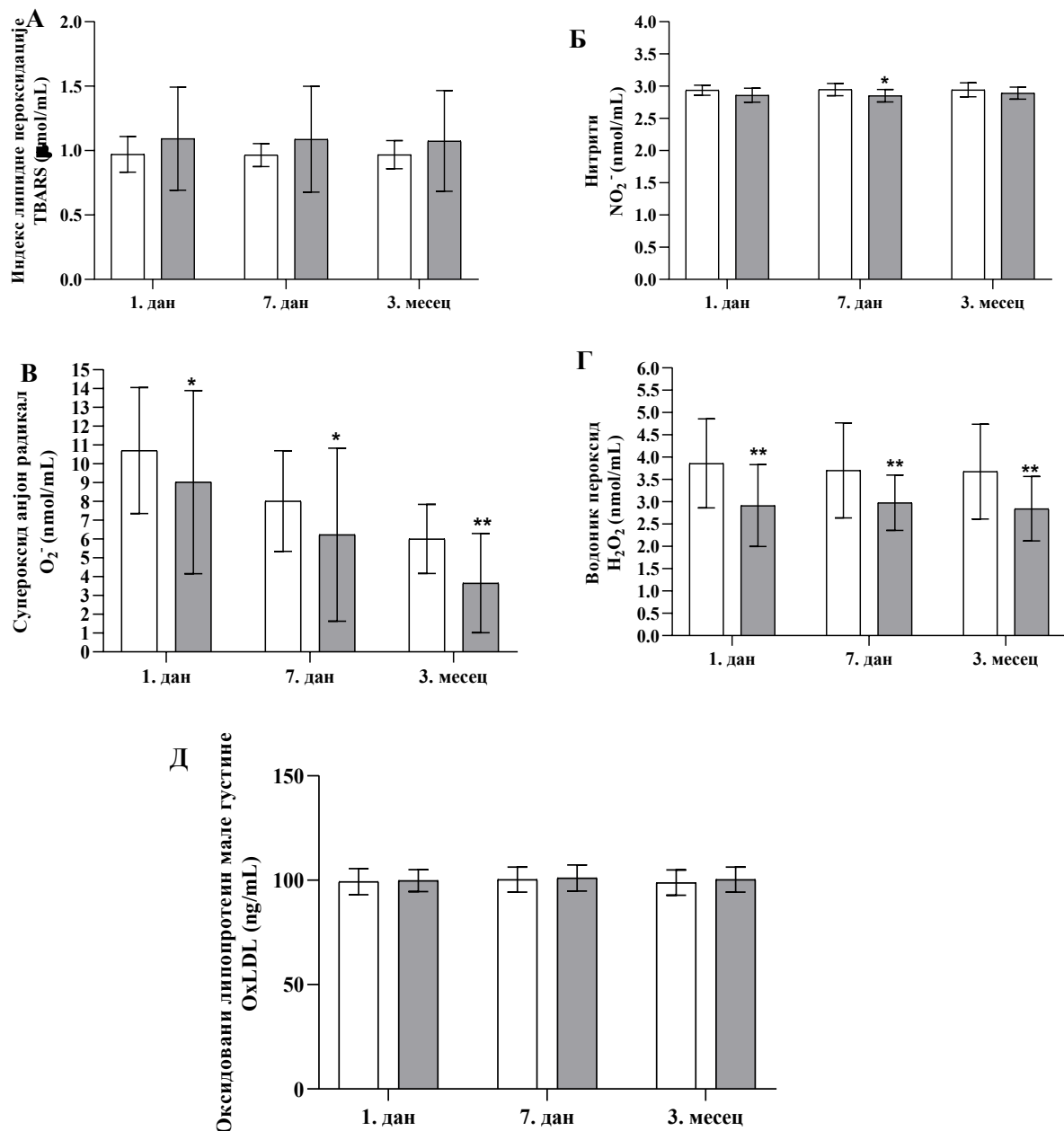


Графикон 4.2 Вредности прооксидационих маркера у терапијској групи: (А) TBARS; (Б) NO_2^- ; (В) O_2^- ; (Г) H_2O_2 ; (Д) OxLDL.

*- $p < 0,05$ у односу на 1. дан; **- $p < 0,001$ у односу на 1. дан; #- $p < 0,05$ у односу на 7. дан; ##- $p < 0,001$ у односу на 7. дан. Вредности су приказане као средња вредност \pm стандардна девијација.

4.9.3 Анализа разлика у вредностима прооксидационих маркера између терапијске и контролне групе

Вредности прооксидационог маркера O_2^- биле су статистички значајно ниже у терапијској групи 1. дана ($p < 0,05$), 7. дана ($p < 0,05$) и након 3. месеца ($p < 0,001$). Приказ вредности прооксидационих маркера дат је на Графикону 4.3.



Графикон 4.3 Вредности прооксидационих маркера између терапијске и контролне групе: (А) TBARS; (Б) NO_2^- ; (В) O_2^- ; (Г) H_2O_2 ; (Д) OxLDL.

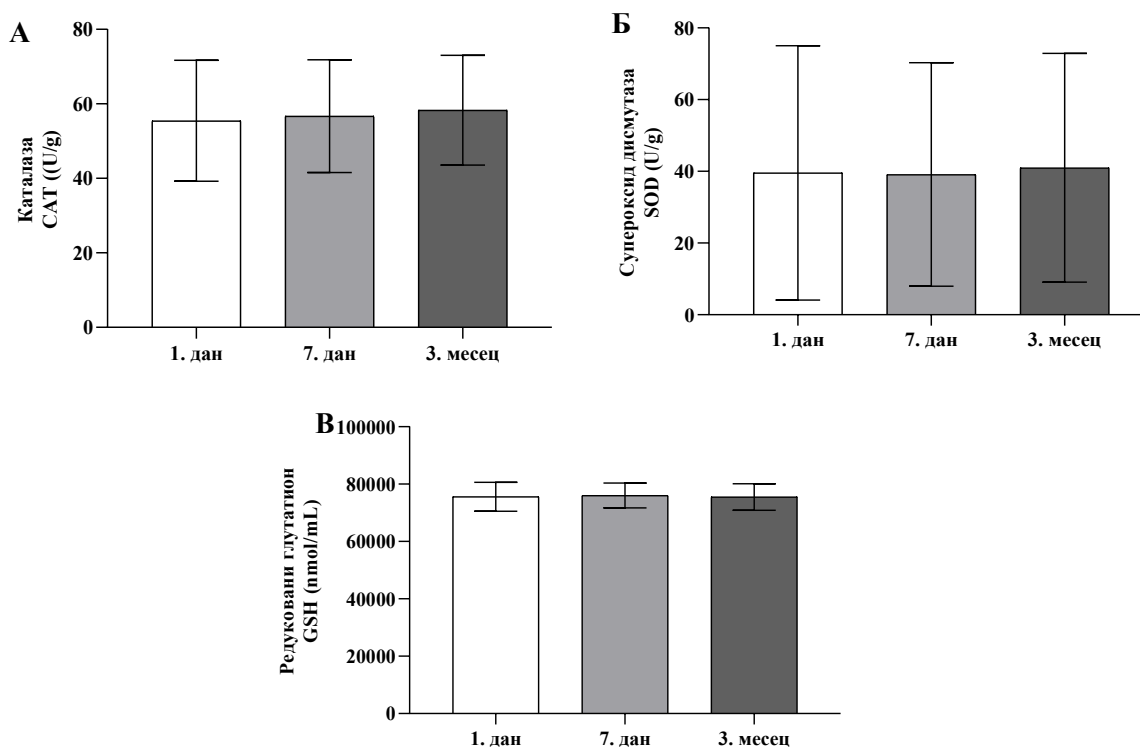
*- $p < 0,05$ у односу на исти тренутак мерења контролне групе; **- $p < 0,001$ у односу на исти тренутак мерења контролне групе. □ – контролна група; ■ – терапијска група. Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација.

Такође, у терапијској групи су измерене статистички значајно ниже вредности H_2O_2 у сва три тренутка мерења ($p < 0,001$). Вредности NO_2^- су показале значајну разлику само 7. дана ($p < 0,05$), док за TBARS и OxLDL није било статистички значајних разлика ни у једном тренутку мерења ($p > 0,05$).

4.10 Маркери антиоксидационе заштите

4.10.1 Маркери антиоксидационе заштите у контролној групи

Током периода праћења, у контролној групи није детектована значајна промена у вредностима испитиваних маркера антиоксидационе заштите. Иако су просечне вредности каталазе и супероксид дисмутазе биле највише након 3. месеца, као и у случају редукованог глутатиона, оне се нису статистички значајно разликовале током три различита тренутка мерења ($p > 0,05$). Вредности маркера антиоксидационе заштите у контролној групи су приказане на Графикону 4.4.

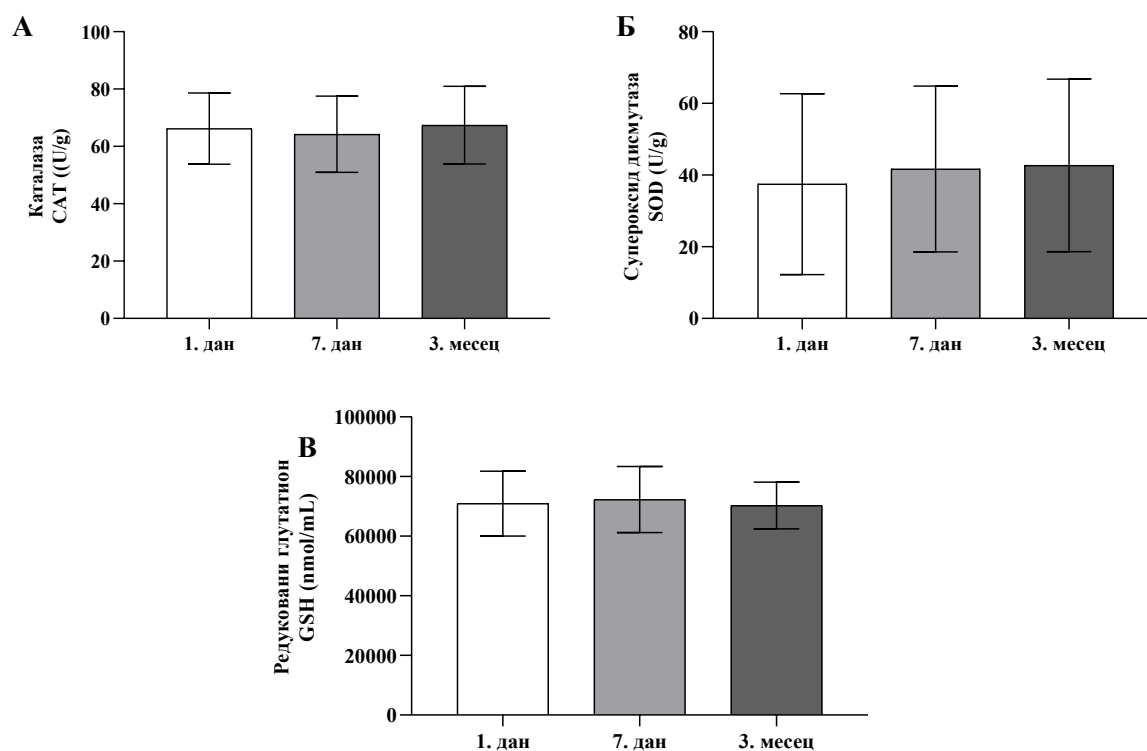


Графикон 4.4 Вредности маркера антиоксидационе заштите у контролној групи: (А) CAT; (Б) SOD; (В) GSH.

Вредности су приказане као средња вредност \pm стандардна девијација.

4.10.2 Маркери антиоксидационе заштите у терапијској групи

Слично као у контролној групи, током посматраног периода у терапијској групи није забележена значајна промена вредности маркера антиоксидационе заштите. Највише вредности CAT и SOD забележене су након 3. месеца, а GSH након 7. дана, али разлике нису биле статистички значајне ($p > 0,05$). Вредности маркера антиоксидационе заштите у терапијској групи су приказане на Графикону 4.5.

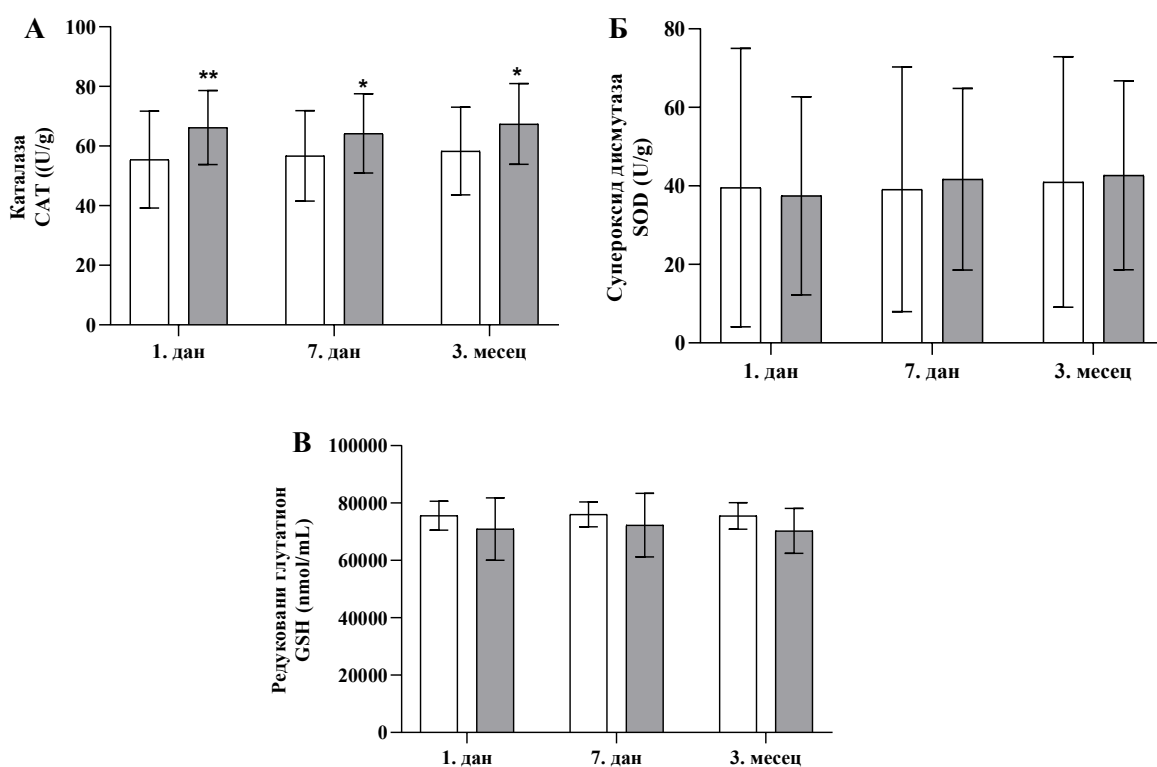


Графикон 4.5 Вредности маркера антиоксидационе заштите у терапијској групи: (А) CAT; (Б) SOD; (В) GSH.

Вредности су приказане као средња вредност \pm стандардна девијација.

4.10.3 Анализа разлика у вредностима маркера антиоксидационе заштите између терапијске и контролне групе

Анализом вредности маркера антиоксидационе заштите између терапијске и контролне групе, утврђено је да су вредности CAT биле статистички значајно више у терапијској групи 1. дана ($p < 0,001$), 7. дана ($p < 0,05$) и након 3. месеца ($p < 0,05$). Вредности SOD и GSH нису показале значајне разлике ни у једном тренутку мерења ($p > 0,05$). Вредности маркера антиоксидационе заштите између терапијске и контролне групе су приказане на Графикону 4.6.



Графикон 4.6 Вредности маркера антиоксидационе заштите између терапијске и контролне групе: (А) CAT; (Б) SOD; (В) GSH.

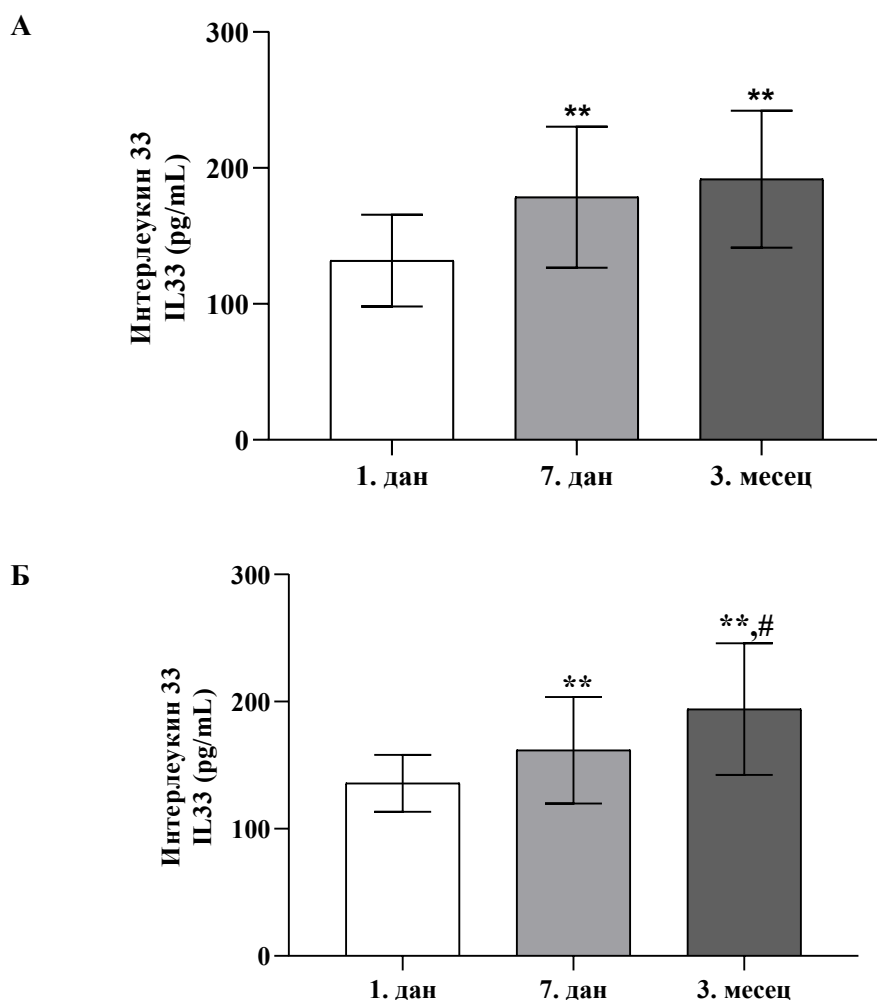
*- $p < 0,05$ у односу на исти тренутак мерења контролне групе; **- $p < 0,001$ у односу на исти тренутак мерења контролне групе.

□ – контролна група; ■ – терапијска група. Вредности су приказане као средња вредност \pm стандардна девијација.

4.11 Серумска концентрација интерлеукина-33

4.11.1 Серумска концентрација IL-33 у контролној и терапијској групи

У обе испитиване групе, током посматраног периода, забележено је статистички значајно повећање концентрације интерлеукина-33 након 7. дана и 3. месеца, у односу на прво мерење ($p < 0,001$). Поред тога, у терапијској групи је концентрација IL-33 након 3. месеца била статистички значајно виша у поређењу са 7. даном мерења ($p < 0,005$). Серумске концентрације IL-33 у контролној и терапијској групи су приказане на Графикону 4.7.

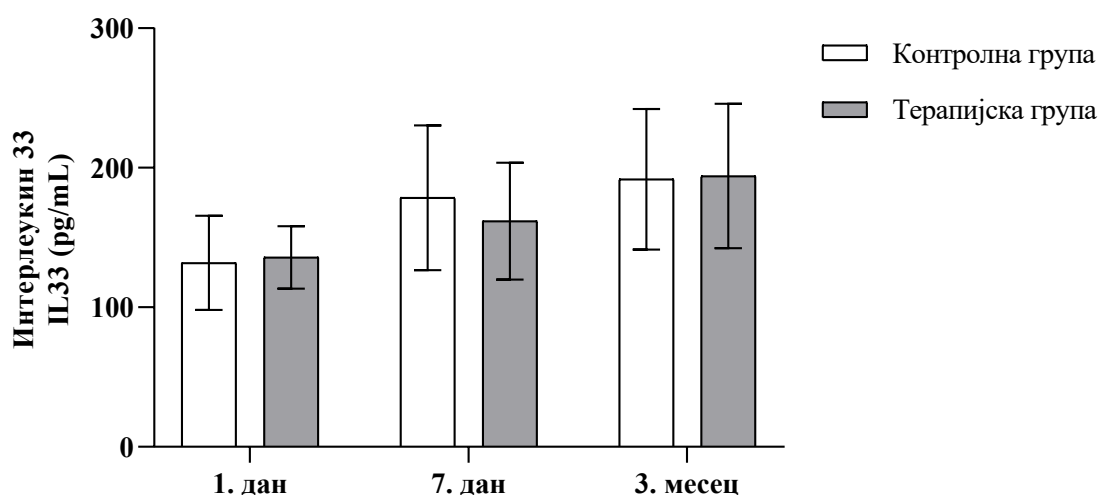


Графикон 4.7 Серумска концентрација IL-33: (А) контролна група; (Б) терапијска група.

**- $p < 0,001$ у односу на 1. дан; #- $p < 0,05$ у односу на 7. дан. Вредности су приказане као средња вредност \pm стандардна девијација.

4.11.2 Анализа разлика у концентрацији ИЛ-33 између терапијске и контролне групе

Поређењем концентрација ИЛ-33 између терапијске и контролне групе није утврђена статистички значајна разлика ни у једном тренутку мерења ($p > 0,05$). Иако су вредности ИЛ-33 биле незнатно више у терапијској групи 1. дана и након 3. месеца, а ниже 7. дана у односу на контролу, разлике нису достигле ниво статистичке значајности. Анализа разлика у концентрацији ИЛ-33 између терапијске и контролне групе је приказана на Графикону 4.8.



Графикон 4.8 Анализа разлика у концентрацији ИЛ-33 између терапијске и контролне групе.

Вредности су приказане као средња вредност \pm стандардна девијација.

4.12 Неуросонографски налаз у односу на групу пацијената

4.12.1 Неуросонографски налаз у односу на групу пацијената, 1. дана

Иако ниједна од испитиваних променљивих неуросонографског налаза 1. дана није показала статистички значајну повезаност са припадношћу групи ($p > 0,05$), уочене су одређене разлике у дистрибуцији појединих категорија. Највећи проценат пацијената у обе групе имао је изражену хиперехогеност (92,3% у контролној и 91,2% у терапијској групи). Код највећег броја пацијената била је детектована ПВЛ градуса I (92,3% у контролној и 83,8% у терапијској групи). Крварење је било нешто чешће у терапијској групи (64,7%) у односу на контролну (52,3%). Приликом анализе степена ПВХ/ИВХ, највећи проценат пацијената у обе групе такође је припадао градусу I (47,7% у контролној и 44,1% у терапијској групи). Ипак, разлике у заступљености категорија неуросонографског налаза 1. дана нису биле статистички значајне. Категоријска заступљеност променљивих неуросонографског налаза 1. дана је приказана у Табели 4.15.

Табела 4.15 Категоријска заступљеност променљивих неуросонографског налаза 1. дана, у односу на групу

1. дан		Контролна група N (%)	Терапијска група N (%)	$\chi^2/df/p$
ХЕ	Средње изражена	5(7,7)	6(8,8)	0,056/1/0,813
	Изражена	60(92,3)	62(91,2)	
ПВЛ	Без ПВЛ	5(7,7)	6(8,8)	5,103/2/0,078
	Градус I	60(92,3)	57(83,8)	
	Градус II	0(0,0)	5(7,4)	
Крварење	Нема	31(47,7)	24(35,3)	2,106/1/0,147
	Има	34(52,3)	44(64,7)	
	Без ПВХ/ИВХ	31(47,7)	23(35,4)	
Степен ПВХ/ИВХ	Градус I	32(49,2)	37(56,9)	5,493*/0,178
	Градус II	2(3,1)	1(1,5)	
	Градус III	0(0,0)	3(4,6)	
	Градус IV	0(0,0)	1(1,5)	
	Без ПВХ/ИВХ	31(47,7)	23(35,4)	
Локализација ПВХ/ИВХ	<i>Lateral dexter</i>	18(27,7)	17(26,2)	5,720/3/0,126
	<i>Lateral sinister</i>	7(10,8)	5(7,7)	
	<i>Billateral</i>	9(13,8)	20(30,8)	

χ^2 – Вредност *Chi-Square* теста, p – значајност, * – *Fisher's Exact Test*, N – апсолутна учесталост.

4.12.2 Неуросонографски налаз у односу на групу пацијената, 7. дана

Ниједна од испитиваних променљивих неуросонографског налаза 7. дана није показала статистички значајну повезаност са припадношћу групи ($p > 0,05$). Ипак, уочене су разлике у дистрибуцији појединих категорија између група. Већина пацијената у обе групе имала је изражену ХЕ (90,2% у контролној и 84,6% у терапијској групи). Највећи проценат пацијената припадао је градусу I ПВЛ (90,2% у контролној и 75,4% у терапијској групи), док су виши градуси детектовани само у терапијској групи, али без статистичке значајности ($p > 0,05$). Већи проценат пацијената у терапијској групи имао је крварење (69,2% према 60,7% у контролној групи). Највећи проценат пацијената у обе групе припадао је градусу I ПВХ/ИВХ, са приближно једнаком заступљеношћу (59,0% у контролној и 59,4% у терапијској групи). Категоријска заступљеност неуросонографских параметара 7. дана приказана је у Табели 4.16.

Табела 4.16 Категоријска заступљеност променљивих неуросонографског налаза 7. дана, у односу на групу

7. дан		Контролна група	Терапијска група	$\chi^2/df/p$
ХЕ	Средње изражена	6(9,8)	10(15,4)	0,874/1/0,350
	Јако изражена	55(90,2)	55(84,6)	
ПВЛ	Без ПВЛ	6(9,8)	10(15,4)	6,779*/0,068
	Градус I	55(90,2)	49(75,4)	
	Градус II	0(0,0)	1(1,5)	
	Градус III	0(0,0)	1(1,5)	
	Градус IV	0(0,0)	4(6,2)	
Крварење	Нема	24(39,3)	20(30,8)	1,018/1/0,313
	Има	37(60,7)	45(69,2)	
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	24(39,3)	20(31,3)	3,852*/0,407
	Градус I	36(59,0)	38(59,4)	
	Градус II	1(1,6)	3(4,7)	
	Градус III	0(0,0)	1(1,6)	
	Градус IV	0(0,0)	2(3,1)	
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	24(39,3)	20(31,3)	5,503/3/0,138
	<i>Lateral dexter</i>	11(18,0)	18(28,1)	
	<i>Lateral sinister</i>	10(16,4)	4(6,3)	
	<i>Billateral</i>	16(26,2)	22(34,4)	

χ^2 – Вредност *Chi-Square* теста, p – значајност, * – *Fisher's Exact Test*, N – апсолутна учесталост.

4.12.3 Неуросонографски налаз у односу на групу пацијената, 3. месеца

Највећи проценат пацијената у обе групе након 3. месеца је имао уредан (физиолошки) неуросонографски налаз (76,4% у контролној и 69,4% у терапијској групи). Код већине пацијената из обе групе није забележено присуство ХЕ и ПВЛ (контролна: без ХЕ 76,4%, без ПВЛ 94,5%; терапијска: без ХЕ 71,0%, без ПВЛ 95,2%). Остали неуросонографски параметри били су такође уредни у обе групе. Ниједна од испитиваних променљивих неуросонографског налаза, након 3. месеца, није показала статистички значајну повезаност са припадношћу групи ($p > 0,05$). Категоријска заступљеност неуросонографских параметара након 3. месеца је приказана у Табели 4.17.

Табела 4.17 Категоријска заступљеност променљивих неуросонографског налаза 3. месеца, у односу на групу

3. месец		Контролна група	Терапијска група	$\chi^2/df/p$
Налаз	Физиолошки	42(76,4)	43(69,4)	0,721/1/0,396
	Патолошки	13(23,6)	19(30,6)	
ХЕ	Без ХЕ	42(76,4)	44(71,0)	2,911*/0,424
	Блага	4(7,3)	2(3,2)	
	Средње изражена	6(10,9)	13(21,0)	
	Јако изражена	3(5,5)	3(4,8)	
ПВЛ	Без ПВЛ	52(94,5)	59(95,2)	1,230*/0,823
	Градус I	3(5,5)	2(3,2)	
	Градус III	0(0,0)	1(1,6)	
Крварење	Нема	55(100,0)	62(100,0)	N/A
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	55(100,0)	62(100,0)	N/A
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	55(100,0)	62(100,0)	N/A

χ^2 – Вредност *Chi-Square* теста, p – значајност, * – *Fisher's Exact Test*, N/A – *non applicable*, N – апсолутна учесталост.

4.13 Повезаност неуросонографског налаза са вредностима прооксидационих маркера и маркера антиоксидационе заштите

4.13.1 Повезаност неуросонографског налаза са вредностима прооксидационих маркера, 1. дана

Статистичком анализом није утврђена значајна разлика у вредностима NO_2^- и O_2^- између различитих категорија варијабли неуросонографског налаза 1. дана ($p > 0,05$) (Табела 4.18). Иако су највише вредности O_2^- детектоване код новорођенчади са ПВЛ градуса II, разлика у вредности O_2^- у односу на друге категорије ПВЛ, 1. дана, није достигла статистичку значајност ($p > 0,05$).

Табела 4.18 Повезаност неуросонографског налаза 1. дана са вредностима прооксидационих маркера (NO_2^- и O_2^-)

1. дан		NO_2^-	Тест статистика/ p-вредност	O_2^-	Тест статистика/ p-вредност
ХЕ	Без ХЕ	/	N/A	/	U=-0,174 p=0,862
	Блага	/		/	
	Средње изражена	/		10,050(8,731)	
	Изражена	2,923(0,104)		9,555(5,931)	
ПВЛ	Без ПВЛ	/	N/A	10,297 ± 5,262	F=0,459 p=0,633
	Градус I	2,923(0,104)		9,616 ± 4,033	
	Градус II	/		11,401 ± 7,747	
Крварење	Нема	2,881 ± 0,059	t=-0,828 p=0,425	9,885 ± 4,015	t=0,211 p=0,834
	Има	2,927 ± 0,103		9,692 ± 4,564	
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	2,881 ± 0,059	t=-0,784 p=0,451	9,922 ± 4,066	F=1,151 p=0,338
	Градус I	2,928 ± 0,110		9,997 ± 4,268	
	Градус II	/		10,764 ± 9,909	
	Градус III	/		5,052 ± 2,314	
	Градус IV	/			
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	2,881 ± 0,059	F=0,404 p=0,678	9,921 ± 4,066	F=0,801 p=0,496
	<i>Lateral dexter</i>	2,939 ± 0,137		10,768 ± 4,987	
	<i>Lateral sinister</i>	/		8,640 ± 2,978	
	<i>Billateral</i>	2,912 ± 0,052		9,106 ± 4,671	

U – вредност *Mann Whitney U* теста, t – вредност *Independent Samples t*-теста, F – вредност *One-Way ANOVA* теста, p – значајност, N/A – *non applicable*. Резултати су представљени као Медијана(интерквартилни опсег) и средња вредност ± стандардна девијација.

Утврђена је статистички значајна разлика у вредностима ТВАРС 1. дана између различитих категорија ХЕ и ПВЛ ($p < 0,05$). Највише вредности ТВАРС детектоване су код новорођенчади са ПВЛ градуса II и биле су значајно веће у односу на вредности код новорођенчади са ПВЛ градуса I ($p < 0,05$). Поред тога, уочена је значајно већа концентрација H_2O_2 код новорођенчади без крварења у односу на оне са крварењем ($p = 0,05$). Код новорођенчади са ПВХ/ИВХ локализованом у левој хемисфери, детектоване су највише вредности H_2O_2 у односу на остале категорије исте променљиве 1. дана ($p < 0,001$) (Табела 4.19).

Табела 4.19 Повезаност неуросонографског налаза 1. дана са вредностима прооксидационих маркера (H_2O_2 и ТВАРС)

1. дан	H_2O_2	Тест статистика/ р-вредност	ТВАРС	Тест статистика/ р-вредност
ХЕ	Без ХЕ	/	/	
	Блага	/	/	
	Средње изражена	3,408(1,094)	U=309,00 p=0,822	1,044(0,666) U=316,00 p=0,023
	Изражена	3,316(1,508)		0,942(0,192)
ПВЛ	Без ПВЛ	3,408(1,094)	1,044(0,666)	
	Градус I	3,281(1,491)	$\chi^2=1,161$ p=0,560	0,936(0,180)* $\chi^2=10,922$ p=0,004
	Градус II	3,845(3,454)		1,752(0,522)#
	Градус III	/		/
Крварење	Нема	3,684(1,439)	U=607,00 p=0,050	0,936(0,168) U=1714,50 p=0,699
	Има	3,131(1,307)		0,960(0,228)
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	3,741(1,364)	$\chi^2=4,123$ p=0,249	0,936(0,174) $\chi^2=1,798$ p=0,773
	Градус I	3,270(1,113)		0,960(0,210)
	Градус II	2,648(0,0)		0,888(0,0)
	Градус III	2,349(0,0)		0,840(0,0)
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	3,537 ± 0,844		0,936(0,174)
	Lateral dexter	3,219 ± 0,643	F=15,421 p=0,000	0,984(0,243) $\chi^2=1,322$ p=0,724
	Lateral sinister	5,494 ± 1,871**,###		0,948(0,084)
	Billateral	2,579 ± 0,728*,††		0,960(0,270)

U – вредност Mann Whitney U теста, t – вредност Independent Samples t-теста, F – вредност One-Way ANOVA теста, χ^2 – вредност Kruskal Wallis теста, p – значајност, *-p<0,05 у односу на прву категорију, **-p<0,001 у односу на прву категорију, #-p<0,05 у односу на другу категорију, ###-p<0,001 у односу на другу категорију, ††-p<0,001 у односу на трећу категорију. Резултати су представљени као Медијана (интерквartilни опсег) и средња вредност ± стандардна девијација.

Вредности параметра OxLDL нису показале статистички значајне разлике између различитих категорија неуросонографског налаза 1. дана ($p > 0,05$) (Табела 4.20).

Табела 4.20 Повезаност неуросонографског налаза 1. дана са вредностима прооксидационих маркера (OxLDL)

1. дан	OxLDL	Тест статистика/ p-вредност
XE	Без XE	/
	Блага	/
	Средње изражена	102,3(8,1)
ПВЛ	Изражена	98,5(10,6)
	Без ПВЛ	102,3(8,1)
	Градус I	98,6(10,7)
Крварење	Градус II	98,5(7,6)
	Нема	101,0(11,5)
	Има	98,2(9,8)
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	100,2 ± 6,007
	Градус I	99,2 ± 5,6339
	Градус II	98,9 ± 4,712
	Градус III	98,9 ± 8,134
	Градус IV	/
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	100,2 ± 6,007
	<i>Lateral dexter</i>	99,7 ± 5,648
	<i>Lateral sinister</i>	99,4 ± 6,072
	<i>Billateral</i>	98,4 ± 5,443

U – вредност *Mann Whitney U* теста, χ^2 – вредност *Kruskal Wallis* теста, F – вредност *One-Way ANOVA* теста, p – значајност, N/A – *non applicable*. Резултати су представљени као Медијана(интерквartilни опсег) и средња вредност ± стандардна девијација

4.13.2 Повезаност неуросонографског налаза са вредностима прооксидационих маркера, 7. дана

Анализом није утврђена статистички значајна разлика у вредностима NO_2^- и O_2^- између различитих категорија варијабли неуросонографског налаза, 7. дана ($p > 0,05$) (Табела 4.21). Иако су више вредности O_2^- детектоване код новорођенчади са ПВЛ градуса I, разлика у вредности O_2^- у односу на налаз без ПВЛ није достигла ниво статистичке значајности ($p > 0,05$).

Табела 4.21 Повезаност неуросонографског налаза 7. дана са вредностима прооксидационих маркера (NO_2^- и $\text{O}_2^{\cdot-}$)

7. дан		NO_2^-	Тест статистика/ p-вредност	$\text{O}_2^{\cdot-}$	Тест статистика/ p-вредност
ХЕ	Без ХЕ	/		/	
	Блага	/		/	
	Средње изражена	2,898 ± 0,091	t=0,015 p=0,988	5,601(7,414)	U=491,500 p=0,653
	Изражена	2,897 ± 0,111		6,919(4,119)	
ПВЛ	Без ПВЛ	2,898 ± 0,091		5,601(7,414)	
	Градус I	2,906 ± 0,105	t=0,780 p=0,873	6,590(4,283)	U=463,00 p=0,667
	Градус II	/		/	
	Градус III	/		/	
	Градус IV	/		7,249(6,343)	
Крварење	Нема	2,904 ± 0,078	t=0,246 p=0,808	6,755(3,542)	U=1037,00 p=0,997
	Има	2,893 ± 1,120		6,590(5,766)	
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	2,904 ± 0,078		6,754(3,542)	
	Градус I	2,894 ± 0,123	t=0,221 p=0,827	6,754(5,519)	$\chi^2=6,457$ p=0,168
	Градус II	/		5,272(16,310)	
	Градус III	/		/	
	Градус IV	/		/	
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	2,923(0,104)		6,754(3,542)	
	<i>Lateral dexter</i>	2,881(0,083)	$\chi^2=0,836$ p=0,841	5,601(5,272)	$\chi^2=0,581$ p=0,901
	<i>Lateral sinister</i>	2,923(0,0)		6,260(6,425)	
	<i>Billateral</i>	2,881(0,271)		7,578(5,766)	

U – вредност *Mann Whitney U* теста, t – вредност *Independent Samples t*-теста, χ^2 – вредност *Kruskal Wallis* теста, p – значајност. Резултати су представљени као Медијана (интерквartilни опсег) и средња вредност ± стандардна девијација.

Статистичком анализом није показана значајна разлика у вредностима H_2O_2 и TBARS између различитих категорија варијабли неуросонографског налаза 7. дана ($p > 0,05$) (Табела 4.22). Иако су више вредности H_2O_2 забележене код новорођенчади са

ПВЛ градуса I, разлика у односу на налаз без ПВЛ, 7. дана, није достигла ниво статистичке значајности ($p > 0,05$).

Табела 4.22 Повезаност неуросонографског налаза 7. дана са вредностима прооксидационих маркера (H_2O_2 и TBARS)

7. дан		H_2O_2	Тест статистика/ р-вредност	TBARS	Тест статистика/ р-вредност
ХЕ	Без ХЕ	/		/	
	Блага	/	U=465,50	/	U=802,00
	Средње изражена	3,143(0,984)	p=0,545	0,960(0,615)	p=0,912
	Изражена	3,293(1,059)		0,960(0,195)	
ПВЛ	Без ПВЛ	3,143(0,984)		0,960(0,615)	
	Градус I	3,281(1,082)	U=445,500	0,960(0,192)	U=731,00
	Градус II	/	p=0,598	/	p=0,711
	Градус III	/		/	
	Градус IV	3,270(0,0)		1,716(0,0)	
Крварење	Нема	3,258(1,145)	U=977,00	0,984(0,207)	U=1505,500
	Има	3,270(1,013)	p=0,477	0,960(0,192)	p=0,611
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	3,258(1,145)		0,984(0,207)	
	Градус I	3,270(1,013)	$\chi^2=0,722$	0,960(0,177)	$\chi^2=1,386$
	Градус II	3,580(2,026)	p=0,697	0,810(0,780)	p=0,500
	Градус III	/		/	
	Градус IV	3,235(0,0)		/	
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	3,258(1,145)		0,984(0,207)	
	<i>Lateral dexter</i>	3,223(1,220)	$\chi^2=6,128$	0,960(0,327)	$\chi^2=1,604$
	<i>Lateral sinister</i>	3,822(0,668)	p=0,106	0,960(0,150)	p=0,658
	<i>Billateral</i>	3,108(0,944)		0,960(0,210)	

U – вредност *Mann Whitney U* теста, χ^2 – вредност *Kruskal Wallis* теста, p – значајност. Резултати су представљени као Медијана (интерквартилни опсег).

Вредности параметра ОхLDL нису показале статистички значајне разлике између различитих категорија неуросонографског налаза 7. дана ($p > 0,05$) (Табела 4.23).

Табела 4.23 Повезаност неуросонографског налаза 7. дана са вредностима прооксидационих маркера (ОхLDL)

7. дан	ОхLDL	Тест статистика/ р-вредност
ХЕ	Без ХЕ	/
	Блага	/
	Средње изражена	102,6(7,7)
	Изражена	100,6(10,9)
ПВЛ	Без ПВЛ	102,6(7,7)
	Градус I	100,05(10,9)
	Градус II	/
	Градус III	/
	Градус IV	103,5(11,7)
Крварење	Нема	101,7 ± 5,526
	Има	99,9 ± 6,348
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	101,8(9,7)
	Градус I	101,0(11,4)
	Градус II	93,0(8,1)
	Градус III	/
	Градус IV	92,8(-)
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	101,8(9,7)
	<i>Lateral dexter</i>	101,0(12,6)
	<i>Lateral sinister</i>	96,7(12,9)
	<i>Billateral</i>	101,0(11,4)

U – вредност *Mann Whitney U* теста, χ^2 – вредност *Kruskal Wallis* теста, p – значајност, N/A – *non applicable*. Резултати су представљени као Медијана (интерквартилни опсег) и средња вредност ± стандардна девијација

4.13.3 Повезаност неуросонографског налаза са вредностима прооксидационих маркера, 3. месеца

Неуросонографски налаз након 3. месеца није показао статистички значајну разлику у вредностима прооксидационих маркера NO_2^- и O_2^- између различитих категорија налаза ($p > 0,05$) (Табела 4.24). Иако су више вредности O_2^- детектоване код новорођенчади са физиолошким неуросонографским налазом у односу на оне код којих је налаз био патолошки, та разлика није достигла статистичку значајност ($p > 0,05$).

Табела 4.24 Повезаност неуросонографског налаза 3. месеца са вредностима прооксидационих маркера (NO_2^- и O_2^-)

3.месец		NO_2^-	Тест статистика/ р-вредност	O_2^-	Тест статистика/ р-вредност
Налаз	Физиолошки	2,923(0,125)	U=23,50 p=0,628	4,862 ± 2,767	t=1,140 p=0,257
	Патолошки	2,923(0,146)		4,213 ± 1,974	
ХЕ	Без ХЕ	2,923(0,125)	$\chi^2=1,758$ p=0,624	4,838 ± 2,758	F=0,337 p=0,799
	Благо изражена	2,943(0,198)		4,218 ± 1,285	
	Средње изражена	2,923(0,146)		4,300 ± 2,292	
	Изражена	2,839(0,0)		4,063 ± 1,059	
ПВЛ	Без ПВЛ	2,923(0,125)	U=43,00 p=0,229	4,709 ± 2,620	t=0,424 p=0,673
	Градус I	2,839(0,0)		4,064 ± 1,059	
	Градус II	/		/	
	Градус III	/		/	
	Градус IV	/		/	
Крварење	Нема	2,923(0,125)	N/A	4,691 ± 2,588	N/A
	Има	/		/	
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	2,923(0,125)	N/A	4,691 ± 2,588	N/A
	Градус I	/		/	
	Градус II	/		/	
	Градус III	/		/	
	Градус IV	/		/	
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	2,923(0,125)	N/A	4,690 ± 2,588	N/A
	<i>Lateral dexter</i>	/		/	
	<i>Lateral sinister</i>	/		/	
	<i>Billateral</i>	/		/	

U – вредност *Mann Whitney U* теста, t – вредност *Independent Samples t*-теста, χ^2 – вредност *Kruskal Wallis* теста, F – вредност *One-Way ANOVA* теста, p – значајност, N/A – *non applicable*. Резултати су представљени као Медијана(Интерквartilни опсег) и средња вредност ± стандардна девијација.

Вредности H_2O_2 и TBARS нису показале статистички значајне разлике између различитих категорија неуросонографског налаза након 3. месеца ($p > 0,05$) (Табела 4.25). Иако су више вредности H_2O_2 детектоване код новорођенчади са ПВЛ градуса I, у

поређењу са новорођенчадима без ПВЛ, та разлика није достигла статистичку значајност ($p > 0,05$).

Табела 4.25 Повезаност неуросонографског налаза 3. месеца са вредностима прооксидационих маркера (H_2O_2 и TBARS)

3. месец		H_2O_2	Тест статистика/ р-вредност	TBARS	Тест статистика/ р-вредност
Налаз	Физиолошки	$3,258 \pm 1,066$	$t=0,431$ $p=0,667$	$0,960(0,207)$	$U=1178,00$ $p=0,398$
	Патолошки	$3,167 \pm 0,769$		$0,984(0,225)$	
ХЕ	Без ХЕ	$3,269 \pm 1,065$	$F=0,715$ $p=0,545$	$0,960(0,204)$	$\chi^2=1,663$ $p=0,645$
	Благо изражена	$3,331 \pm 0,666$		$1,062(0,345)$	
	Средње изражена	$2,958 \pm 0,817$		$0,960(0,216)$	
	Изражена	$3,555 \pm 0,405$		$0,978(0,222)$	
ПВЛ	Без ПВЛ	$3,217 \pm 1,008$	$t=-0,744$ $p=0,459$	$0,960(0,216)$	$U=252,00$ $p=0,801$
	Градус I	$3,555 \pm 0,405$		$0,996(0,228)$	
	Градус II	/		/	
	Градус III	/		/	
	Градус IV	/		/	
Крварење	Нема	$3,233 \pm 0,990$	N/A	$0,960(0,216)$	N/A
	Има	/		/	
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	$3,233 \pm 0,990$	N/A	$0,960(0,216)$	N/A
	Градус I	/		/	
	Градус II	/		/	
	Градус III	/		/	
	Градус IV	/		/	
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	$3,233 \pm 0,990$	N/A	$0,960(0,216)$	N/A
	<i>Lateral dexter</i>	/		/	
	<i>Lateral sinister</i>	/		/	
	<i>Billateral</i>	/		/	

U – вредност *Mann Whitney U* теста, t – вредност *Independent Samples t*-теста, χ^2 – вредност *Kruskal Wallis* теста, F – вредност *One-Way ANOVA* теста, p – значајност, N/A – *non applicable*. Резултати су представљени као Медијана (интерквартилни опсег) и средња вредност \pm стандардна девијација

Вредности параметра ОхLDL након 3 месеца нису показале статистички значајне разлике између категорија неуросонографског налаза ($p>0,05$) (Табела 4.26).

Табела 4.26 Повезаност неуросонографског налаза 3. месеца са вредностима прооксидационих маркера (ОхLDL)

3.месец		ОхLDL	Тест статистика/ р-вредност
Налаз	Физиолошки	99,3 ± 5,773	t=-1,968 p=0,071
	Патолошки	101,8 ± 6,625	
ХЕ	Без ХЕ	99,2 ± 5,742	F=2,307 p=0,081
	Благо изражена	100,2 ± 6,627	
	Средње изражена	101,6 ± 7,176	
	Изражена	106,1 ± 2,165	
ПВЛ	Без ПВЛ	99,4(9,9)	U=745,000 p=0,213
	Градус I	104,5(4,0)	
	Градус II	/	
	Градус III	/	
	Градус IV	/	
Крварење	Нема	99,9(10,6)	N/A
	Има	/	
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	99,9(10,6)	N/A
	Градус I	/	
	Градус II	/	
	Градус III	/	
	Градус IV	/	
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	99,9(10,6)	N/A
	<i>Lateral dexter</i>	/	
	<i>Lateral sinister</i>	/	
	<i>Billateral</i>	/	

U – вредност *Mann Whitney U* теста, t – вредност *Independent Samples t*-теста, F – вредност *One-Way ANOVA* теста, p – значајност, N/A – *non applicable*. Резултати су представљени као Медијана (интерквартилни опсег) и средња вредност ± стандардна девијација

4.13.4 Повезаност неуросонографског налаза са вредностима маркера антиоксидационе заштите, 1. дана

Статистичком обрадом података није утврђена статистички значајна разлика у вредностима ензима антиоксидационе заштите (CAT, SOD и GSH) између различитих категорија неуросонографског налаза, 1. дана ($p>0,05$) (Табела 4.27). Иако су нешто више вредности CAT детектоване код новорођенчади са ПВЛ градуса II у поређењу са налазом без ПВЛ и ПВЛ градуса I, као и код ПВХ/ИВХ градуса III у односу на ниже градусе и налаз без ПВХ/ИВХ, ове разлике нису биле статистички значајне ($p>0,05$).

Табела 4.27 Повезаност неуросонографског налаза 1. дана са маркерима антиоксидационе заштите (CAT, SOD и GSH)

1. дан		CAT	Тест статистика/ р	SOD	Тест статистика/ р	GSH	Тест статистика/ р
ХЕ	Без ХЕ	/		/		/	
	Благо изражена	/		/		/	
	Средње изражена	63,250 ± 12,487	t=0,528 p=0,598	40,70 (40,70)	U=473,500 p=0,111	76256,02 (18021,29)	U=595,000 p=0,562
	Изражена	60,686 ± 15,635		32,56 (32,56)		74958,13 (10185,95)	
ПВЛ	Без ПВЛ	63,250 ± 12,487		40,70 (40,70)		76264,02 (18021,29)	
	Градус I	60,411 ± 15,809	F=0,583 p=0,559	32,56 (32,56)	χ²=2,673 p=0,263	74958,13 (9794,18)	χ²=5,119 p=0,077
	Градус II	67,050 ± 9,761		35,56 (61,05)		65033,36 (12275,37)	
	Градус III	/		/		/	
	Градус IV	/		/		/	
Крварење	Нема	62,023 ± 16,703	t=0,708 p=0,480	32,56 (36,63)	U=2101,000 p=0,939	76264,02 (10185,95)	U=1882,500 p=0,278
	Има	60,097 ± 14,407		32,56 (36,63)		74174,59 (10447,13)	
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	62,093 ± 16,851		32,56 (34,60)		76002,84 (10055,36)	
	Градус I	60,283 ± 14,912	F=0,331 p=0,856	32,56 (38,67)	χ²=0,202 p=0,995	74174,59 (10838,89)	χ²=4,213 p=0,378
	Градус II	54,833 ± 2,754		24,42 (0,0)		70518,10 (0,0)	
	Градус III	66,167 ± 12,645		48,84 (0,0)		72,346 (0,0)	
	Градус IV	/		/		/	
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	62,093 ± 16,851		32,56 (34,60)		76002,84 (10055,36)	
	Lateral dexter	57,456 ± 12,921	F=1,752 p=0,160	36,63 (34,60)	χ²=1,623 p=0,654	76264,02 (12275,37)	χ²=7,150 p=0,067
	Lateral sinister	56,812 ± 13,027		32,56 (22,39)		73260,47 (8880,06)	
	Billateral	65,293 ± 15,750		32,56 (44,77)		71562,71 (10708,30)	

U – вредност *Mann Whitney U* теста, t – вредност *Independent Samples t*-теста, χ² – вредност *Kruskal Wallis* теста, F – вредност *One-Way ANOVA* теста, p – значајност. Резултати су представљени као Медијана (интерквартилни опсег) и средња вредност ± стандардна девијација.

4.13.5 Повезаност неуросонографског налаза са вредностима маркера антиоксидационе заштите, 7. дана

Повезаност неуросонографског налаза 7. дана са маркерима антиоксидационе заштите није показала статистички значајне разлике у вредностима ензима CAT, SOD и

GSH између различитих категорија неуросонографског налаза ($p>0,05$) (Табела 4.28). Вредности GSH биле су нешто више код новорођенчади са ПВХ/ИБХ градуса IV у односу на ниже градусе и налаз без ПВХ/ИБХ, али без статистичке значајности ($p>0,05$).

Табела 4.28 Повезаност неуросонографског налаза 7. дана са маркерима антиоксидационе заштите (CAT, SOD и GSH)

7. дан		CAT	Тест статистика/ р	SOD	Тест статистика/ р	GSH	Тест статистика/ р
ХЕ	Без ХЕ	/		/		/	
	Благо изражена	/		/		/	
	Средње изражена	63,967 ± 11,105	t=0,925 p=0,357	48,84 (40,70)	U=630,500 p=0,149	75480,48 (9402,41)	U=794,000 p=0,857
	Изражена	60,257 ± 14,948		32,56 (32,56)		74958,13 (7835,34)	
ПВЛ	Без ПВЛ	63,967 ± 11,104		48,84 (40,70)		75480,48 (9402,41)	
	Градус I	60,473 ± 15,145	F=0,314 p=0,868	32,56 (32,56)	$\chi^2=5,571$ p=0,234	75219,30 (8096,52)	$\chi^2=6,749$ p=0,150
	Градус II	/		/		/	
	Градус III	/		/		/	
Крварење	Градус IV	57,062 ± 14,631		56,98 (71,23)		62029,81 (10838,89)	
	Нема	60,477 ± 15,043	t=-0,127 p=0,899	40,70 (40,70)	U=1551,000 p=0,314	76786,37 (7051,81)	U=1432,000 p=0,104
	Има	60,827 ± 14,375		32,56 (32,56)		73913,41 (10708,30)	
	Без ПВХ/ИБХ	60,477 ± 15,043		40,70 (40,70)		76786,37 (7051,81)	
Степен ПВХ/ИБХ	Градус I	60,568 ± 14,970	F=0,071 p=0,991	40,70 (32,56)	$\chi^2=1,620$ p=0,805	73913,41 (10447,13)	$\chi^2=7,071$ p=0,132
	Градус II	62,375 ± 8,066		36,63 (42,74)		70779,28 (18413,06)	
	Градус III	/		/		/	
	Градус IV	64,000 ± 1,061		24,42 (0,0)		79920,51 (0,0)	
Локализација ПВХ/ИБХ	Без ПВХ/ИБХ	60,00 (19,25)		40,70 (40,70)		76786,37 (7051,71)	
	Lateral dexter	62,50 (18,88)		40,70 (28,49)		72607,52 (11753,02)	
	Lateral sinister	50,87 (19,00)	$\chi^2=3,363$ p=0,339	36,63 (28,49)	$\chi^2=3,418$ p=0,331	74696,95 (6333,57)	$\chi^2=3,902$ p=0,272
	Billateral	64,75 (25,50)		32,56 (36,63)		74174,59 (8227,11)	

U – вредност *Mann Whitney U* теста, t – вредност *Independent Samples t*-теста, χ^2 – вредност *Kruskal Wallis* теста, F – вредност *One-Way ANOVA* теста, p – значајност. Резултати су представљени као Медијана (интерквартилни опсег) и просечна вредност ± стандардна девијација.

4.13.6 Повезаност неуросонографског налаза са вредностима маркера антиоксидационе заштите, 3. месеца

Није утврђена статистички значајна разлика у вредностима ензима CAT, SOD и GSH између различитих категорија неуросонографског налаза, након 3. месеца ($p>0,05$) (Табела 4.29). Вредности CAT биле су нешто више код новорођенчади са израженом ХЕ, у односу на средње, благо изражену ХЕ и налаз без ХЕ, али без статистичке значајности ($p>0,05$). Идентичне вредности SOD и GSH детектоване су код новорођенчади са физиолошким и патолошким налазом након 3. месеца ($p>0,05$).

Табела 4.29 Повезаност неуросонографског налаза 3. месеца са маркерима антиоксидационе заштите (CAT, SOD и GSH)

3.месец		CAT	Тест статистика/ р	SOD	Тест статистика/ р	GSH	Тест статистика/ р
Налаз	Физиолошки	63,940 ± 14,677	t=0,978 p=0,330	40,70 (32,56)	U=1246,500 p=0,609	74696,95 (11230,66)	U=1263,000 p=0,685
	Патолошки	60,921 ± 15,242		40,70 (30,53)		74696,95 (12471,26)	
ХЕ	Без ХЕ	64,003 ± 14,600	F=1,044 p=0,376	40,70 (32,56)	$\chi^2=3,707$ p=0,295	74827,547(11034,78)	$\chi^2=0,359$ p=0,949
	Благо изражена	56,208 ± 15,308		28,49 (18,32)		75611,07 (7508,87)	
	Средње изражена	59,816 ± 16,719		40,70 (32,56)		73652,24 (13320,08)	
	Изражена	67,750 ± 9,936		36,63 (34,60)		74696,95 (7378,28)	
ПВЛ	Без ПВХ/ИВХ	62,844 ± 15,04	t=-0,903 p=0,369	40,70 (32,56)	U=205,000 p=0,347	74696,95 (11230,66)	U=225,000 p=0,511
	Градус I	69,00 ± 10,57		40,70 (36,63)		74696,95 (7051,81)	
	Градус II	/		/		/	
	Градус III	/		/		/	
	Градус IV	/		/		/	
Крварење	Нема	61,10 ± 14,83	N/A	40,70 (24,42)	N/A	74696,95 (11230,66)	N/A
	Има	/		/		/	
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	63,10 ± 14,832	N/A	40,70 (24,42)	N/A	74696,95 (11230,66)	N/A
	Градус I	/		/		/	
	Градус II	/		/		/	
	Градус III	/		/		/	
	Градус IV	/		/		/	
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	63,10 ± 14,83	N/A	40,70 (24,42)	N/A	74696,95 (11230,66)	N/A
	<i>Lateral dexter</i>	/		/		/	
	<i>Lateral sinister</i>	/		/		/	
	<i>Billateral</i>	/		/		/	

U – вредност *Mann Whitney U* теста, t – вредност *Independent Samples t*-теста, χ^2 – вредност *Kruskal Wallis* теста, F – вредност *One-Way ANOVA* теста, p – значајност, N/A – *non applicable*. Резултати су представљени као Медијана (интерквартилни опсег) и средња вредност ± стандардна девијација.

4.13.7 Повезаност неуросонографског налаза са вредностима ПЛ-33

Указано је на постојање статистички значајне разлике у вредностима ПЛ-33, након 3. месеца, у односу на неуросонографски налаз ($p < 0,05$) (Табела 4.30).

Табела 4.30 Повезаност неуросонографског налаза у сва три тренутка мерења са ПЛ-33

Параметар	ПЛ33 1. дан	Тест статистика/ р	ПЛ33 7. дан	Тест статистика/ р	ПЛ33 3. месец	Тест статистика/ р
Налаз	Физиолошки	/	/	N/A	173,67 (80,66)	U=674,500 p=0,004
	Патолошки	125,42 (34,21)	159,45 (70,66)	N/A	212,22 (62,89)	
ХЕ	Без ХЕ	/	/	U=286,500 p=0,129	177,03 (81,19)	$\chi^2=306$ p=0,580
	Благо изражена	/	/	U=286,500 p=0,129	240,99 (98,59)	
	Средње изражена	116,91 (21,97)	162,23 (71,92)	U=286,500 p=0,129	206,65 (45,38)	
	Изражена	127,50 (33,82)	158,24 (70,91)	U=286,500 p=0,129	209,02 (103,33)	
ПВЛ	Без ПВЛ	116,91 (21,97)	162,23 (71,92)	$\chi^2=2,846$ p=0,241	191,68 ± 50,62	U=202,500 p=0,580
	Градус I	126,28 (35,29)	158,33 (70,98)		208,88 ± 57,98	
	Градус II	139,91 (14,28)	/		/	
	Градус III	/	/		/	
	Градус IV	/	110,66 (0,0)		/	
Крвар.	Нема	129,93 (27,09)	155,46 (73,45)	U=1213,000 p=0,815	192,07 (72,93)	N/A
	Има	125,07 (35,43)	165,61 (69,57)	U=1138,500 p=0,748	/	
Степен ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	129,93 (27,09)	155,46 (73,45)	$\chi^2=1,360$ p=0,851	192,07 (72,93)	N/A
	Градус I	127,15 (36,12)	163,27 (72,22)		/	
	Градус II	124,20 (0,0)	148,08 (73,36)		$\chi^2=4,103$ p=0,392	
	Градус III	115,61 (0,0)	/		/	
	Градус IV	/	231,63 (0,0)		/	
Локализација ПВХ/ИВХ	Без ПВХ/ИВХ	129,93 (27,09)	155,46 (73,45)	$\chi^2=1,348$ p=0,718	/	N/A
	<i>Lateral dexter</i>	126,28 (32,61)	158,06 (90,07)		$\chi^2=1,098$ p=0,778	
	<i>Lateral sinister</i>	121,25 (24,3)	175,07 (59,38)		$\chi^2=1,098$ p=0,778	
	<i>Billateral</i>	127,41 (38,29)	176,03 (78,27)		/	

U – вредност *Mann Whitney U* теста, t – вредност *Independent Samples t*-теста, χ^2 – вредност *Kruskal Wallis* теста, F – вредност *One-Way ANOVA* теста, p – значајност, N/A – *non applicable*. Резултати су представљени као Медијана (интерквартилни опсег) и средња вредност ± стандардна девијација.

Детектоване су значајно више вредности П-33 код новорођенчади са патолошким налазом у поређењу са уредним налазом. За остале варијабле неуросонографског налаза није било статистички значајних разлика у вредностима П-33 у сва три тренутка мерења ($p > 0,05$). Иако су 1. дана вредности П-33 биле нешто више код новорођенчади са ПВЛ градуса II у односу на нижи градус и налаз без ПВЛ, разлике нису достигле статистичку значајност ($p > 0,05$).

4.13.8 Анализа резултата CNN модела

За евалуацију перформанси развијеног CNN модела за класификацију ултразвучних снимака примењен је низ анализа које омогућавају свеобухватну процену његове тачности, поузданости и способности генерализације. Као један од основних корака, креирана је матрица конфузије која пружа детаљан увид у расподелу правилно и погрешно класификованих снимака у оквиру сваке категорије оштећења можданог ткива.

Анализа матрице је показала да је број исправно класификованих снимака у све три групе значајно већи од броја погрешних предвиђања, што указује на висок ниво поузданости и стабилности развијеног модела. На основу резултата закључено је да CNN модел ефикасно разликује три дефинисане категорије: Normal, Moderate и Intensive (Табела 4.31).

Табела 4.31 Метрике перформанси предложеног класификационог модела

	Норм.	Умерен.	Интенз.	Специфичност	Осетљивост	Прецизност	Тачност	F1-мера	AUC
Норм.	92,5%	2,5%	5%	96,25%	92,5%	90%	89,17%	91,22%	0,95
Умерен.	5%	87,5%	7,5%	91,25%	87,5%	85%	87,67%	86,22%	0,89
Интенз.	2,5%	10%	87,5%	93,75%	87,5%	88%	88,84%	87,75%	0,91
Укупно				93,08%	89,17%	87,67%	88,56%	88,4%	0,92

Перформансе развијеног модела оцењене су применом најзначајнијих метрика које се користе за анализу медицинских снимака, а резултати су указивали на изузетно добре способности класификације.

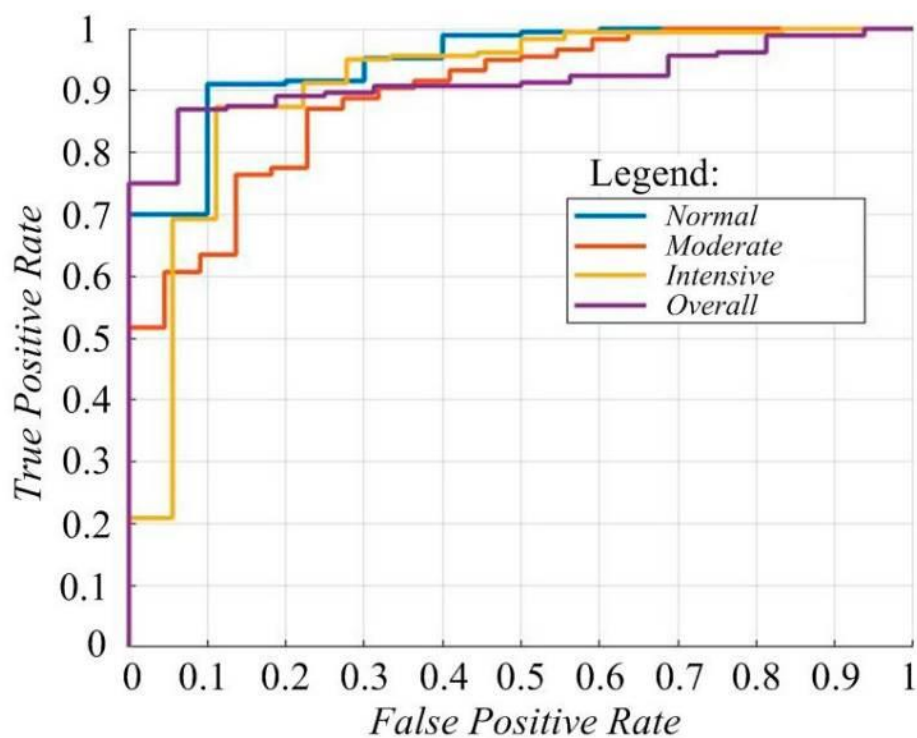
Специфичност модела (Specificity), која представља способност правилног идентификовања здравих снимака, износила је 96,25% за категорију Normal, 93,75% за Moderate и 91,25% за Intensive. Ове вредности су показале да модел поуздано разликује негативне случајеве, што је од великог значаја у медицинској пракси јер се смањује ризик од непотребног означавања здравих пацијената као ризичних.

Осетљивост модела (Sensitivity), која показује способност откривања случајева код којих оштећење заиста постоји, износила је 92,5% за Normal, 87,5% за Moderate и 87,5% за Intensive. Високе вредности осетљивости указале су да модел поуздано препознаје чак и суптилне промене у структури ткива, што је посебно важно за рано откривање хипоксично-исхемијских оштећења код новорођенчади.

Прецизност модела (*Precision*), која представља проценат снимака правилно класификованих као оштећени у односу на укупан број снимака означених као позитивни, износила је 90% за Normal, 85% за Moderate и 88% за Intensive. Високе вредности прецизности указале су да модел ретко даје „лажне аларме”, што значајно доприноси избегавању непотребних медицинских интервенција.

F1 мера, која представља хармонијску средину између осетљивости и прецизности, износила је 91,22% за Normal, 86,22% за Moderate и 87,75% за Intensive. Ова метрика је имала посебан значај у медицинским истраживањима, јер је пружала интегрисану процену способности модела да истовремено оствари високу тачност и потпуност класификације.

Важан показатељ укупних перформанси модела био је и AUC, добијен анализом ROC криве (Слика 4.1). Вредности AUC параметра биле су 0,95 за Normal, 0,89 за Moderate и 0,91 за Intensive, док је укупна просечна вредност износила 0,92. Вредност AUC блиска 1 указала је на изузетну способност модела да разликује различите категорије оштећења, што је додатно потврдило његову високу ефикасност.



Слика 4.1 ROC крива.

Укупна тачност модела (*Accuracy*), која представља однос исправно класификованих снимака и укупан број снимака, износила је 88,56%. Овај резултат указао је да модел обезбеђује уједначену и поуздану класификацију у све три категорије, без значајних одступања.

Да би се додатно проверила стабилност и генерализациона способност модела, примењена је петострука унакрсна валидација. Добијени резултати потврдили су да модел задржава стабилне перформансе и у условима варијабилности података:

- Просечна тачност: $85,00 \pm 0,98\%$,
- Прецизност $87,06 \pm 1,08\%$,
- Осетљивост $87,27 \pm 0,87\%$,
- F1 мера $87,08 \pm 0,88\%$,
- Просечна вредност AUC параметра: $0,84 \pm 0,02$.

Табела 4.32 Метрике перформанси предложеног класификационог модела (петострука унакрсна валидација)

	Нормално	Умерено	Интензивно	Укупно
Тачност	$85,00 \pm 0,98\%$	$83,50 \pm 1,12\%$	$84,00 \pm 1,05\%$	$84,17 \pm 1,10\%$
Осетљивост	$87,27 \pm 0,87\%$	$81,07 \pm 1,23\%$	$86,50 \pm 1,10\%$	$84,95 \pm 1,05\%$
Прецизност	$87,29 \pm 0,92\%$	$83,06 \pm 1,14\%$	$85,50 \pm 1,07\%$	$85,28 \pm 1,08\%$
F1-мера	$87,08 \pm 0,88\%$	$81,47 \pm 1,19\%$	$86,00 \pm 1,06\%$	$84,85 \pm 1,07\%$
AUC	$0,85 \pm 0,02$	$0,82 \pm 0,03$	$0,84 \pm 0,02$	$0,84 \pm 0,02$

Добијени резултати показали су да развијени CNN модел поседује високу робусност, стабилност и поузданост у класификацији ултразвучних снимака. Његова способност да поуздано разликује три степена оштећења можданог ткива код новорођенчади указала је на значајан потенцијал за примену у клиничкој пракси, нарочито у области ране дијагностике и праћења неуролошког развоја.

5 Дискусија резултата

У овом истраживању, обе посматране групе биле су хомогене по демографским и антропометријским карактеристикама, као и по вредностима Аргаг скорa у првом и петом минути живота. Није постојала статистички значајна разлика између испитиваних група у начину завршетка порођаја. Порођај завршен царским резом био је чешће заступљен (1,7 пута у контролној и 1,2 пута у експерименталној или испитиваној групи) у односу на порођај завршен вагиналним путем. Према подацима СЗО из 2021. године, инциденца царског реза наставља да расте глобално, обухватајући 21% свих порођаја а очекује се да ће до 2030. године скоро трећина порођаја бити завршена овим путем [147]. Истраживање Лука (Loock) и сарадника показало је да превремено рођена деца имају веће оксидационо оштећење ДНК настало дејством H₂O₂ и спорији капацитет поправке ДНК у односу на новорођенчад рођену у термину. Анализа у зависности од начина порођаја указала је да превремено рођена деца рођена вагиналним путем спорије поправљају *in vitro* индикована оштећења ДНК у односу на децу рођену царским резом. Могуће објашњење је да физиолошка хипоксемија током вагиналног порођаја активира антиоксидационе одбрамбене механизме, изазивајући веће иницијално оштећење које захтева дуже време за поправку. Са друге стране, код нормоксемичног, планираног царског реза могућ је спорији ћелијски циклус, вероватно под утицајем пренаталне примене кортикостероида, што може утицати на динамику поправке [148]. Додатно, Шлинциг и сарадници су показали да је метилација ДНК у белим крвним зрнцима значајно већа код новорођенчади рођене царским резом у односу на вагинално рођене, што би могло утицати на регулацију експресије гена и активности ензима за поправку ДНК [149]. Потврда ових хипотеза захтева даља истраживања на већим популацијама уз процену функционалне активности ензима за поправку ДНК у односу на генотип, гестациску старост и начин порођаја [148].

Порођај је најчешће праћен развојем оксидационог стреса, при чему гестациска старост новорођенчета и околности порођаја знатно утичу на укупни ниво оксидационог оптерећења и могу имати клинички значајне последице по здравље новорођенчета. Почетак порођаја је повезан са појачаном продукцијом проинфламаторних медијатора и слободних радикала, а осцилације у оксигенацији ткива мајке и детета током порођаја додатно оптерећују антиоксидационе системе [150].

Превремени порођај карактерише смањена регулација антиоксидационих система и молекула који неутралишу реактивне кисеоничне врсте (попут глутатиона и церулоплазмине). Ограничавање утероплацентарног преноса антиоксиданаса додатно смањује ефикасност ове заштите, повећавајући ризик од ROS-изазваних оштећења. Примена кортикостероида ради убрзавања сазревања плућа показала је потенцијал да повећа активност антиоксидационих ензима (SOD, каталазе и глутатион-S-трансферазе) [150,151]. У нашој студији врећи број мајки новорођенчади из терапијске групе примило је кортикостероидну терапију.

Прематуритет је праћен бројним компликацијама, укључујући РДС, ИВХ/ПВХ, ПВЛ, НЕК, БПД, РОП, сепсу, застој у расту, као и честе метаболичке и хематолошке поремећаје. Ове компликације представљају водећи узрок неонаталног морталитета; према подацима из 2017. године, од 2,5 милиона смртних случајева новорођенчади две трећине су чинила превремено рођена деца [152].

У нашој студији, седмог дана живота утврђена је статистички значајна разлика у вредностима неутрофила ($p=0,010$), еозинофила ($p=0,001$), базофила ($p=0,001$) и тромбоцита ($p=0,017$) између испитиване и контролне групе.

Комплетна крвна слика (ККС) је најчешћи лабораторијски тест који се изводи и може пружити информације о свим компонентама крвних зрнаца и њиховим одговарајућим индексима, омогућавајући благовремено препознавање патолошких образаца и процену клиничких налаза. Тумачење хематолошких параметара код новорођенчади, посебно превремено рођене новорођенчади, треба да узме у обзир физиолошке промене након рођења, јер су вредности изражене у интервалима специфичним за узраст, а не у стандардним референтним опсезима. За разлику од одраслих, вредности хематолошких параметара код новорођенчади варирају у зависности од гестациске старости и постнаталног узраста. Ови параметри подлежу динамичким променама, укључујући промене у еритропоези, дистрибуцији леукоцита и хомеостази тромбоцита. Такве варијације могу да искомпликују тумачење резултата ККС, посебно у разликовању патолошких промена, од нормалних развојних флукуација. Многи параметри ККС могу одражавати упалу и оштећење ткива код превремено рођене новорођенчади и обећавају пружање раних дијагностичких и прогностичких увида за поједине болести (перинатална асфиксија, НЕК, БПД, сепса и др) [153].

Суплементација ензимским и/или неензимским антиоксидансима са антиинфламаторним и имуномодулаторним ефектима, као што су дуголанчане полинезасићене масне киселине (DHA и ARA), показала је потенцијал да ублажи оксидациона оштећења и побољша неуроразвојне исходе код превремено рођене деце [150].

С обзиром на улогу редокс дисбаланса у патогенези компликација прематуритета и све већи број података о имуномодулаторној улози IL-33, ови параметри могу представљати значајне биомаркере за праћење ефеката суплементације и терапије. Полазећи од ових сазнања, у овом истраживању испитивани су ефекти тромесечне суплементације омега-3 масним киселинама код превремено рођене деце праћењем редокс статуса, серумске концентрације IL-33 и неуросонографског налаза. Иако је испитиван терапијски потенцијал бројних антиоксиданаса посебно код превремено рођене деце, ниједан агенс се још увек рутински не примењује у клиничкој пракси [150].

Исхрана свих посматраних новорођенчади током хоспитализације спровођена је применом адаптираних млечних формула намењених превремено рођеној деци, које садрже приближно сличне концентрације ДНА. По изласку из болнице, већина новорођенчади је наставила примену АМФ, док је исхрана мајчиним млеком била заступљена код приближно петине пацијената, у укупном узорку. Није уочена статистички значајна разлика између посматраних група у погледу типа исхране (природна или вештачка), по завршетку хоспитализације, чиме је искључен утицај исхране на крајње резултате.

Потребу за оксигенотерапијом имала је већина пацијената ($> 90\%$) у обе групе, при чему је контролна група захтевала дуже трајање терапије. У обе групе забележено је побољшање гасне размене до седмог дана живота, али је медијана pO_2 у прва два дана живота била статистички значајно нижа у терапијској групи, у односу на контролну, што може указивати на различиту брзину респираторне адаптације условљену индивидуалним разликама у зрелости плућа или на тежи облик РДС [154].

Анализом ацидобазног статуса из узорка капиларне артеријализоване крви није забележена статистички значајна разлика између група у вредностима бикарбоната, базног екцеса, као ни у концентрацијама електролита, глукозе, хемоглобина, хематокрита. Просечне вредности лактата у капиларној крви код обе групе биле су изнад 2 mmol/L у првом дану живота (медијана 2,4 mmol/L у контролној и 2,7 mmol/L у терапијској групи). Студија спроведена у Швајцарској на узорку од 25 новорођенчади показала је јаку корелацију између капиларне и артеријске концентрације лактата [155]. За лактат измерен у капиларној крви, референтне вредности су специфичне за узраст и у прва два месеца живота крећу се од 1,1 до 3,5 mmol/L [156]. Повишени нивои лактата могу бити повезани са неповољним неуролошким исходом код новорођенчади и представљају користан рани биомаркер краткорочних неонаталних компликација са предиктивном вредношћу упоредивом са рН вредношћу крви [157]. Како је лактат производ анаеробног метаболизма, његов пораст указује на могућу хипоксију ткива. Последњих година спроведене су бројне студије које су истовремено пратиле ниво лактата и церебралну оксигенацију неинвазивно, помоћу блиско-инфрацрвене спектроскопије (engl. *near-infrared spectroscopy*, NIRS). Резултати показују да не постоји значајна корелација између нивоа лактата и церебралне оксигенације, док је рН вредност показала бољу повезаност са параметрима церебралне оксигенације [158,159]. Код екстремно незреле деце, церебрална регионална сатурација кисеоником у мозгу и индекс предукталне перфузије такође показују само слабу повезаност са концентрацијом лактата и вредностима гасних анализа крви [160].

Студија Симовић А. и сарадника показала је да код новорођенчади рођене у термину након перинаталне асфиксије повишени нивои лактата у капиларној крви могу указивати на развој тешке хипоксично-исхемичне енцефалопатије или на смртни исход. Концентрације лактата веће од 8,7 mmol/L са 80% осетљивости и 82% специфичности указивале су на развој хипоксично-исхемичне енцефалопатије II или III степена, док је ниво лактата већи од 9,95 mmol/L био предиктор смрти са 75% осетљивости и 74,4% специфичности. Ови подаци потврђују да праћење концентрације лактата у комбинацији са другим факторима ризика пружају корисне информације за дијагностику метаболичких поремећаја и исхемијског оштећења, посебно код тешких клиничких облика [161]. Код претерминске асфиктичне новорођенчади, вредности серумског лактата изнад 7,35 mmol/L показале су високу предиктивну вредност за смртни исход, уз осетљивост од 72,7% и специфичност од 80,3% [162].

Превремено рођена деца имају дефицит арахидонске и докозахекаенске киселине, као и недовољно развијене антиоксидационе системе, што додатно повећава ризик од поремећаја условљених оксидационим стресом. Поред опасности од развоја раних перинаталних компликација (БПД, ИВХ, ПВЛ, РОП, НЕК) постављена је и хипотеза о повећаном ризику од каснијег развоја хроничних поремећаја, укључујући метаболички синдром и кардиоваскуларне болести [163]. Због тога, један од основних циљева лечења недоношчади је редукација оксидационог стреса, било смањењем продукције ROS, било јачањем антиоксидационе заштите. У том контексту, примена нутритивних суплемената са антиоксидационим ефектом може смањити учесталост или ублажити клиничку слику перинаталних компликација проузрокованих оксидационим оштећењем и упалом.

Поређењем вредности прооксидационих маркера у зависности од тромесечне суплементације омега-3 масним киселинама, утврђено је да су вредности O_2^- и H_2O_2 биле статистички значајно ниже у терапијској групи у односу на контролну у сва три тренутка мерења, при чему су најниже вредности забележене у току трећег мерења. За

остале маркере (NO_2^- , TBARS) није утврђена статистички значајна разлика између група. Ови налази указују да су оштећења повезана са оксидационим стресом највероватније последица деловања молекула који су иницијатори механизма укључених у оксидациони стрес, док се деловање одложених механизма, попут пероксидације ћелијске мембране не запажа анализом прооксидантних молекула. Поред тога, добијени резултати су у складу са претходним истраживањима која указују на могућност да омега-3 масне киселине могу директно утицати на смањење акутних прооксидационих ефеката, али вероватно не и на дугорочне промене у другим маркерима оксидационог стреса [164]. У будућим истраживањима било би корисно размотрити ефекат дужег трајања терапије, као и могућност комбиновања омега-3 масних киселина са другим антиоксидационим агенсима ради испитивања њиховог потенцијалног терапијског ефекта.

Иако у овом истраживању нису забележене статистички значајне промене свих параметара оксидационог стреса, клинички значај добијених налаза не треба занемарити. Недостатак статистичке значајности може бити последица мале величине узорка и хетерогености у гестацијској старости, а не нужно одсуства биолошког ефекта. Уочени трендови указују на благи пораст активности антиоксидационих ензима код деце која су примала омега-3 масне киселине, што би у студијама већег обима могло достићи ниво статистичке значајности. Ови резултати подржавају хипотезу да омега-3 суплементација, и поред неубедљивих краткорочних ефеката, може допринети бољој редокс равнотежи током дужег примене терапије.

Анализом маркера антиоксидационе заштите у нашем истраживању забележене су статистички значајно више вредности активности каталазе у сва три тренутка мерења у терапијској групи. Насупрот томе, активности ензима SOD и GSH нису показале значајне разлике у односу на контролну групу ни у једном тренутку мерења. Ови налази су у складу са резултатима Рамира-Кортиха (*Ramiro-Cortijo*) и сарадника, који су у студији спроведеној у Шпанији на превремено рођеној деци хоспитализованој у јединици интензивне неге примењивали суплементацију полинезасићеним масним киселинама дугог ланца. (ARA и DHA у односу 2:1; 80 mg/kg ARA и 40 mg/kg DHA). У њиховој студији није забележена статистички значајна промена биомаркера оксидационог оштећења у плазми (малонилдиалдехид и карбонили протеина), али је забележен пораст нивоа активности каталазе и редукованог глуатиона, што указује на побољшање антиоксидационог статуса [165]. Слично томе, Кајарабил (*Kajarabille*) и сарадници испитивали су улогу омега-3 дуголанчаних полинезасићених масних киселина као модулатора оксидационог стреса током трудноће и постнаталног периода. Суплементација је започета у 28. недељи трудноће и трајала до четвртог месеца лактације. Резултати су показали да омега-3 суплементација доводи до смањења вредности хидропероксида у плазми трудница, као и код новорођенчади на рођењу и након 2,5 месеца живота. Поред тога, забележено је повећање активности ензима SOD и CAT, како код мајки (на порођају и након 2,5 месеца), тако и код новорођенчади са навршена 2,5 месеца живота [166]. Резултати нашег истраживања су у складу са овим налазима, указујући да суплементација DHA побољшава равнотежу између прооксиданаса и антиоксиданаса, повећавајући антиоксидациони капацитет и смањујући оксидациони стрес.

Ово додатно потврђује потенцијалну улогу DHA као адјувантне терапије у стањима праћеним повишеним нивоима оксидационог стреса, посебно кроз модулацију специфичних ензимских система као што је каталаза. Ови резултати указују да је оса H_2O_2 -CAT један од кључних механизма кроз који омега-3 масне киселине могу испољити своје заштитно дејство. Смањене вредности H_2O_2 у терапијској групи, праћене

повећаном активношћу каталазе, упућују на то да ДНА делује као модулатор хомеостазе реактивних врста кисеоника, не толико преко свих антиоксидационих ензима, већ специфично кроз регулацију разградње H_2O_2 . Имајући у виду да је H_2O_2 централни молекул у преносу сигнала оксидационог стреса и да у вишим концентрацијама доводи до оштећења липида, протеина и ДНК, појачана активност каталазе може представљати кључну тачку превенције ових оштећења. Овакав налаз наглашава значај усмеравања будућих истраживања ка бољем разумевању регулације осе H_2O_2 –САТ и њеног потенцијала за терапијску примену у клиничким стањима која су повезана са оксидационим стресом. Поред тога, познато је да водоник-пероксид, осим што делује као прооксиданс, има и улогу секундарног сигналног молекула у активацији бројних ћелијских путева. Међу њима се издвајају NF- κ B (engl. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*), који посредује инфламаторне одговоре, и Nrf2 (engl. *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*), главни регулатор транскрипције антиоксидационих гена. Смањење концентрације H_2O_2 услед појачане активности каталазе потенцијално утиче на супресију NF- κ B сигнализације, чиме се редукује инфламаторни одговор, док истовремено омогућава прецизнију регулацију Nrf2 путање и активацију заштитних ензима. Овакав баланс указује да омега-3 масне киселине, преко осе H_2O_2 –САТ, могу имати двоструки ефекат: директно смањење прооксидационог оштећења и индиректну модулацију ћелијских одбрамбених механизма.

Као крајњи закључак може се извести да добијени резултати имају важне клиничке импликације. Познато је да оксидациони стрес и инфламација играју кључну улогу у развоју перивентрикуларне леукомалације и интравентрикуларног крварења код превремено рођене деце. Уколико омега-3 масне киселине доприносе модулацији ових процеса, њихова суплементација могла би постати део превентивних стратегија за смањење ризика од хроничних неуролошких компликација, укључујући церебралну парализу и когнитивне поремећаје. Иако је за доношење дефинитивних закључака неопходно дуже праћење неуролошких исхода, наши подаци указују на потенцијалну корист рутинске примене омега-3 масних киселина у овој популацији.

Интересантно је напоменути да се у новијој литератури све више истиче улога IL-33 као „алармин” цитокина који се ослобађа у условима оксидационог стреса [167]. С обзиром на то да водоник-пероксид представља један од главних стимулатора ослобађања IL-33 из оштећених ћелија, могуће је да регулација овог молекула путем појачане активности каталазе има индиректан утицај и на модулацију имунолошког одговора. Овај механизам може делимично објаснити како суплементација ДНА не само да редукује прооксидациона оштећења, већ и утиче на профил цитокина, модулирајући проинфламаторне сигнале посредоване IL-33.

IL-33 је цитокин чији је дијагностички и терапијски значај у неонаталној популацији још увек недовољно испитан. У нашем истраживању уочен је пораст његове серумске концентрације седмог дана и у трећем месецу живота, али без статистички значајне разлике између контролне и терапијске групе.

Слично, током нашег истраживања забележене су и статистички значајно више вредности билирубина, у седмом дану живота у експерименталној тзв. терапијској групи, у поређењу са контролном групом. Висок ниво билирубина и висок ниво интерлеукина-33 могу се јавити заједно, јер билирубин као антиоксиданс, такође има антиинфламаторна и имуномодулаторна својства [168].

Према досадашњим објављеним резултатима, у неонаталном периоду повишени нивои серумског IL-33 откривени су у стањима као што су холестаза, билијарна атрезија, неонатална сепса, БПД и инфекција иазазвана цитомегаловирусом [169–172]. Чен (*Chen*)

и Џанг (*Zhang*) су испитивали улогу и значај серумског IL-33 у развоју БПД код превремено рођене деце. Њихови резултати су показали постепен пораст нивоа IL-33 током постнаталног периода (мерено у првих 24 сата, 14. и 28. дана живота), што указује на његову могућу улогу у механизму поправке оштећења плућа [171].

Повишени нивои IL-33 примећени су код здраве новорођенчади и одојчади, што се доводи у везу са незрелошћу имунског система и процесом прилагођавања ванматеричном окружењу. Директна веза између омега-3 масних киселина и IL-33 у неонаталном мозгу није у потпуности разјашњена, али је познато да ове масне киселине имају неуропротективне ефекте редукацијом оксидационог стреса и упале, а активирани IL-33 може смањити ризик од развоја хипоксично-исхемијских лезија мозга [106]. Омега-3 масне киселине, нарочито DHA и ARA, показале су потенцијал кроз смањење маркера оксидационог стреса и модулацију инфламаторних процеса у мозгу [121].

Наши резултати указују да суплементација омега-3 масним киселинама може утицати на серумске концентрације IL-33 у трећем месецу живота превремено рођене деце. Ови налази подржавају литературу о имуномодулаторним својствима омега-3 масних киселина, али резултати других студија, нарочито оних које су спроведене на терминској новорођенчади или одраслој популацији, указују да ефекат омега-3 масних киселина на IL-33 зависи од дозе, трајања суплементације и базалног инфламаторног статуса [173].

Посебно је важно нагласити двоструку улогу IL-33. Његов пораст може имати заштитни ефекат кроз активацију механизма репарације ткива и индукцију регулаторних Т-ћелија, али прекомерна активација подстиче инфламаторни одговор, потенцијално доприносићи хроничним оштећењима, нарочито у мозгу и плућима. Ово потврђује да је IL-33 молекул чије дејство зависи од услова околине и динамике његовог ослобађања [174].

Са аспекта клиничке праксе, примена омега-3 масних киселина код превремено рођене деце могла би представљати потенцијалну меру за смањење неуролошких ризика и превенцију обољења у којима преовладавају оксидациони и инфламаторни процеси. Међутим, неопходна су даља истраживања са већим бројем пацијената и продуженим периодом праћења клиничких исхода како би се потврдили ови ефекти.

Током перинаталног периода, услед развоја хипоксије и исхемије-реперфузије, долази до повећаног ослобађања слободних радикала што резултује оксидационим стресом и оштећењем беле моздане масе. Златни стандард за дијагностиковање ненекротичне, дифузне ПВЛ код превремено рођене деце је магнетна резонанца, али се у пракси, због ограничене доступности MRI и клиничког стања пацијената, чешће примењује алтернативна дијагностичка метода, трансфонтанеларна неуросонографија. Предности ове методе су могућност извођења поред кревета пацијента, праћење еволуције повреде током времена и сазревања мозга, као и дијагноза цистичне леукомалације. Помоћу трансфонтанеларне неуросонографије процењује се интезитет перивентрикуларне ехогености у односу на ехогеност хороидног плексуса [175]. Ипак, овај начин тумачења неуросонографског налаза је субјективан, а поједине студије су показале значајне разлике међу посматрачима у процени степена хиперехогености [176,177].

У нашу студију су укључена недоношчад са израженом перивентрикуларном хиперехогеношћу на неуросонографском налазу, у прва 24 сата по рођењу. Трансфонтанеларна неуросонографија је поновљена седмог дана и у трећем месецу живота. У првом и седмом дану живота највећи број пацијената имао је јако изражену

хиперехогеност možданог паренхима, која одговара првом степену ПВЛ, а пре почетка суплементације код шесторо пацијената из терапијске групе развила се цистична ПВЛ. У трећем месецу око 95% пацијената имало је уредан налаз, без обзира на суплементацију, док је код оних са цистичном ПВЛ у терапијској групи примећена регресија. Саркар (*Sarkar*) и сарадници су спровели обимну студију на екстремно незрелим новорођенчадима и утврдили да цисте уочене у првих 28 дана живота нису перзистирале код 18% пацијената на каснијим ултразвучним прегледима (35. постменструална недеља). Ипак, ова одојчад имају повећан ризик од нежељеног исхода, слично као и деца са перзистентном или касније насталом цистичном ПВЛ [178]. Наши резултати стога указују да омега-3 суплементација није имала доследан утицај на неуросонографске налазе, иако је код пацијената са цистичном ПВЛ у терапијској групи уочена регресија након три месеца.

Студије о ефекту суплементације ДНА на сазревање беле možдане масе недоношчади показују различите резултате. Строммен (*Strømmen*) и сарадници истичу да побољшано снабдевање есенцијалним масним киселинама, укључујући АРА и ДНА, поспешује постнатални раст и сазревање беле možдане масе у односу на стандардну исхрану [179]. Међутим, у двоструко слепом, плацебо контролисаном испитивању Алмас (*Almaas*) и сарадници, нису уочили ефекат постпарталне суплементације АРА и ДНА на микро- и макроструктуру беле možдане масе нити на когнитивни развој у доби од осам година [180]. Са друге стране, недавна норвешка студија на 120 превремено рођене деце показала је да ентерална суплементација АРА (100 mg/kg/дан) и ДНА (50 mg/kg /дан) побољшава сазревање беле možдане масе и унапређује телесни раст [123]. Експериментална студија Манлапаз-Ман (*Manlapaz-Mann*) и сарадника на новорођеним пацовима изложеним интермитентној хипоксији указује да комбинована примена омега-3 масних киселина, антиоксиданаса и нестероидних инфламаторних лекова (NSAID) има најбољи ефекат на редукцију оксидационог стреса, неуропротекцију и мијелинацију [181]. Ови налази указују да ефекат ДНА на развој мозга недоношчади може варирати у зависности од клиничког контекста. За поузданије закључке потребне су веће, лонгитудиналне студије са пажљивим праћењем релевантних клиничких и биолошких фактора.

Испитивали смо корелацију између нивоа биомаркера оксидационог стреса и неуросонографског налаза у сва три тренутка мерења. Вредности супероксидних радикала O_2^- и TBARS биле су највише код тежих облика повреде беле možдане масе (ПВЛ II степен), нарочито у првом дану живота, са постепеним падом који је пратио побољшање неуросонографског налаза. Код ензима антиоксидационе заштите, више вредности каталазе су забележене код цистичног облика ПВЛ, док таква повезаност није забележена за SOD и GSH.

Сличне резултате у Јапану су показали Цукимори (*Tsukimori*) и сарадници, који су пратили вредности O_2^- ослобођеног из активираних неутрофила и активност SOD у плазми пупчане врпце код новорођенчади гестацијске старости 26–34 недеље. Вредности O_2^- биле су значајно више код деце са раном ПВЛ у односу на контролну групу, док активности SOD нису показале разлику између група [182].

Изучавањем корелације између серумске вредности IL-33 и неуросонографског налаза утврђене су статистички значајно више концентрације IL-33 код пацијената са оштећењем беле možдане масе у поређењу са децом са уредним неуросонографским налазом. Истраживања на анималним моделима показала су неуропротективну улогу IL-33, смањујући оштећење мозга и подстичући опоравак možданог ткива након повреде [95,106].

У већини до сада објављених радова који су обухватили одрасле особе виши нивои серумског IL-33 повезани су са бољим клиничким исходом након исхемијских можданих удара. Истраживање спроведено у САД обухватило је 206 адултних пацијената са исхемијском повредом мозга, где је серумски IL-33 мерен по пријему у болницу, а функционални исход праћен након три месеца. Резултати су показали да је ниво серумског IL-33 био значајно виши код пацијената са благим можданим ударом, у односу на оне са тешком исхемијском повредом мозга. Такође, пацијенти са већим циркулишућим IL-33 у серуму имали су бољи клинички исход након три месеца, што указује на његова антиинфламаторна и репаративна својства [104]. Са друге стране, кинеска студија је показала повишене нивое IL-33 код пацијената са већим волуменом инфаркта, што такође указује на улогу IL-33 у репаративним процесима исхемијске повреде, док ниски нивои повезују са лошијом прогнозом и већим ризиком од рецидива исхемијског можданог удара [183,184].

Недавно је објављено истраживање у коме је праћен утицај IL-33 на хипоксично-исхемичне лезије мозга новорођенчади гестацијске старости изнад 36 недеља и порођајне телесне масе веће од 1800 g. Мерени су серумски нивои IL-33 и sST2 у првих 6 сати живота, као и првог, другог, трећег и седмог дана. Утврђена је позитивна корелација између нивоа sST2 у серуму и тежине хипоксично-исхемијске лезије првог и другог дана живота, док промене у концентрацији IL-33 нису забележене [185]. У нашем истраживању праћен је ниво IL-33 у серуму, али не и у цереброспиналној течности. До сада у литератури нема података који би указали да ли се промене концентрације циркулишућег IL-33 поклапају са онима у цереброспиналној течности.

Иако добијени резултати указују на повезаност серумских концентрација IL-33 са степеном оштећења беле мождане масе, неопходно је имати у виду одређена методолошка ограничења. Потенцијал за додатне увиде лежи у спровођењу корелационих и мултиваријантних анализа. На пример, вредно би било испитати да ли концентрација IL-33 корелира са нивоима оксидационих биомаркера и значајем неуросонографских налаза. Такође, анализа према гестацијској старости (< 28 недеља, 28–32 недеље, >32 недеље) могла би открити разлике у одговору на суплементацију, будући да се интензитет оксидационог стреса значајно разликује међу посматраним подгрупама. Мултиваријантна регресиона анализа која би укључила пол, гестацијску старост, тежину при рођењу и наведене биохемијске параметре омогућила би да се прецизније процени независни ефекат омега-3 масних киселина на испитиване исходе.

Визуелизација и анализа мозга имају суштинску улогу у раној дијагностици хипоксично-исхемијских лезија мозга, јер омогућавају благовремено препознавање структурних промена и планирање адекватне терапије. У овом истраживању примењена је трансфонтанеларна ултрасонографија као иницијална дијагностичка метода, што је у складу са резултатима претходних студија које указују да је ова техника поуздана, неинвазивна и широко доступна [186,187]. Ипак, један од кључних изазова у интерпретацији ултразвучних снимака остаје субјективност у процени. Такође, анизотропија и технички артефакти могу мењати ехогеност (ротација сонде). Код превремено рођене деце постоје и извесни физиолошки феномени, па је неопходна интерпретација према гестацијској доби и клиничкој слици. Разлике у искуству и приступу лекара могу довести до недоследности и утицати на поузданост дијагностичких закључака, што је потврђено у више студија.

Полазећи од овог ограничења, развијен је нови методолошки приступ заснован на квантитативној анализи густине боје између два сегмента мозга – паренхима беле

мождане масе и хороидног плексуса, којим се обезбеђује објективнија процена потенцијалног оштећења и смањује могућност субјективне грешке.

Резултати добијени анализом густине боје прослеђују се конволутивној неуронској мрежи ради финалне класификације снимака у категорије нормалног, умереног и интензивног оштећења. Оваква интеграција квантитативне анализе и CNN класификације омогућава двостепени процес дијагностике. За разлику од претходних студија, које су се ослањале искључиво на визуелну процену или једноставне методе анализе слика, предложени модел обезбеђује већу прецизност дијагнозе и омогућава суптилнију процену оштећења унутар појединих категорија [186,187]. На пример, уколико CNN модел класификује снимак као умерено оштећење, али анализа густине показује повећане вредности унутар ове групе, могуће је предвидети бржи опоравак пацијента.

Да би се обезбедила већа поузданост мерења, за разлику од класичног RGB колор простора примењен је CIE Lab модел, који омогућава независно мерење осветљености и боја [188]. Овај приступ показао се знатно погоднијим јер услови снимања ултразвуком могу варирати, а CIE Lab простор обезбеђује прецизнију и стабилнију процену густине. Поред тога, утврђени су праг вредности разлике у густини боје на основу којих је могуће вршити класификацију стања у три дефинисане категорије оштећења [189].

Употреба CNN модела заснована је на савременим трендовима у медицини, где дубоко учење све више добија на значају. Поређењем са резултатима других истраживања потврђен је висок потенцијал CNN алгоритама у неонаталној дијагностици. Цуи (*Cui*) и сарадници развили су вишемодални AI модел за рану дијагнозу некротизујућег ентероколитиса са постигнутом тачношћу од 0.94, док су Жао (*Zhao*) и сарадници представили CNN модел за аутоматску процену ендотрахеалне интубације новорођенчади са тачношћу од 92.2% [190,191]. Слично томе, Браун (*Brown*) и сарадници показали су да алгоритми дубоког учења могу поуздано дијагностиковати plus болест код ретинопатије недоношчади са тачношћу од 91% [192]. У поређењу са овим резултатима, предложени модел у овом истраживању постиже упоредиве перформансе у погледу тачности, прецизности, F-мере и AUC, али уводи додатни ниво објективности применом анализе густине боје, што представља иновацију у односу на постојеће методологије.

Архитектура модела заснована је на једноставнијем решењу у поређењу са претходним радовима [186,187], али је упркос мањем броју слојева, постигнута стабилна конвергенција током обуке и доследност резултата на различитим подскуповима података [193]. Једноставнија архитектура омогућава бржу примену, захтева мање ресурса и истовремено смањује ризик од преклапања (*overfitting*), што је посебно важно у клиничким условима где је брза и поуздана дијагноза од пресудног значаја.

Још једна предност предложеног модела је усклађеност са клиничким протоколима поновљене трансфонтанеларне ултрасонографије код новорођенчади. Како истиче Везел-Мејлер (*Wezel-Meijler*) понављана мерења омогућавају праћење еволуције лезија и правовремено откривање компликација као што су постхеморагијска вентрикуломегалија или појава цистичних промена у белој мозданој маси [194]. С друге стране, Чанг (*Zhang*) и Жоу (*Zhou*) наглашавају да је предуслов за систематско праћење адекватна обрада и квантификација ултразвучних снимака, што обезбеђује стабилнију основу за анализу серијских промена [195]. За разлику од ових студија, у којима су методолошки и клинички аспекти разматрани одвојено, предложени модел интегрише оба приступа и надограђује их применом CNN класификације, чиме се обезбеђује

директна примена резултата квантитативне анализе у клиничком одлучивању. На тај начин, свака појединачна слика може бити процењена у оквиру стандарда поновљених снимања, што даје конзистентнију основу за планирање терапије.

Поред тога, резултати указују на потенцијал предложеног модела да смањи зависност од субјективне процене сонографа, што је чест проблем у пракси. Наиме, у литератури је више пута наглашено да је разликовање физиолошке од патолошке ехогености изазовно, нарочито у белој маси и базалним ганглијама [194]. Примена објективних метрика густине и аутоматизоване класификације, омогућава већу сигурност у идентификацији суптилних промена које би иначе могле бити превиђене или погрешно протумачене. Овим се постиже ниво стандардизације јер предложени модел обезбеђује објективну квантитативну основу која је одмах примењива у клиничкој пракси. Оваква комбинација квантификације ехогености и клиничке интерпретације може у перспективи довести до бољег исхода лечења, посебно код недоношчади високог ризика.

Иако су добијени значајни резултати, потребно је истаћи одређена ограничења студије. Величина узорка била је релативно мала, што може утицати на могућност генерализације резултата [196,197]. Да би се потврдила применљивост модела, неопходна су додатна истраживања на већем броју пацијената и развој стандардизованих протокола за интерпретацију резултата [198]. Поред тога, у анализу нису укључени подаци о интраутерином дистресу фетуса, који се прате преко гинеколошких картона и путем кардиотокографије, а укључивање ових параметара у будућим истраживањима могло би пружити ширу слику о корелацији између порођајних фактора и развоја хипоксично-исхемичних лезија мозга.

Нарочито је важно нагласити да се добијени резултати на ултразвучним снимцима могу посматрати као почетна тачка за даља поређења са налазима магнетне резонанце. Новија истраживања показују да MRI скоринг системи (нпр. Rutherford, Weeke) имају високу предиктивну вредност за дугорочне когнитивне исходе код новорођенчади са хипоксично-исхемичном енцефалопатијом [199]. Интеграција предложеног модела квантитативне анализе ултразвука са резултатима MRI скоринга у будућим студијама могла би омогућити проверу конзистентности добијених налаза, али и процену потенцијала неуросонографије као брже, доступније и мање инвазивне методе за праћење ризичних новорођенчади.

Резултати овог истраживања указују на повољан ефекат тромесечне суплементације омега-3 масним киселинама, као и на корелацију биомаркера редокс статуса и IL-33 са неуросонографским налазима код превремено рођене новорођенчади, што може послужити као основа за даља, обимнија истраживања.

Ипак, неколико ограничења треба имати у виду при тумачењу резултата. Величина узорка била је релативно мала, нарочито у подгрупама са тежим облицима ПВЛ/ИВХ, што може умањити снагу статистичке анализе. Праћење је обављено до трећег месеца живота, док се неуролошке последице прематуритета и оксидационог стреса често манифестују касније. Такође, нису анализирани додатни фактори као што су исхрана мајке током трудноће, примена оксигенотерапије или придружене инфекције, који могу утицати на редокс статус и инфламаторни одговор.

С друге стране, предложени модел квантитативне анализе густине боје у комбинацији са CNN класификацијом обезбеђује објективну основу за процену неуросонографских налаза и смањује зависност од субјективне интерпретације. Оваква интеграција методолошког и клиничког приступа омогућава стандардизацију мерења и може побољшати идентификацију суптилних промена у мозгу недоношчади.

С обзиром на наведено, добијени резултати представљају вредну основу за будућа истраживања која би требало да обухвате веће, мултицентричне кохорте, дужи период праћења (6 – 12 месеци) и додатне биохемијске маркере, укључујући анализу цереброспиналне течности, као и интеграцију са MRI снимањем ендокранијума.

6 Закључак

На основу детаљне анализе редокс статуса, серумских вредности IL-33 и неуросонографских налаза код превремено рођене новорођенчади, као и поређењем наших резултата са литературним подацима, сумирани су следећи закључци који указују на повољан ефекат тромесечне суплементације омега-3 масним киселинама и потенцијал биомаркера редокс статуса и IL-33 за праћење неуролошког развоја ових пацијената.

1.

Тромесечна суплементација омега-3 масним киселинама показала је повољан ефекат на редокс статус, односно пад вредности прооксидационих маркера O_2^- и H_2O_2 , уз истовремени пораст активности каталазе у трећем месецу живота у терапијској групи.

2.

Независно од примене суплементације, у трећем месецу живота забележен је пораст серумске концентрације IL-33 у обе посматране групе.

3.

Независно од примене суплементације, у трећем месецу живота 95% пацијената имало је уредан трансфонтанеларни ултрасонографски налаз у обе посматране групе. Код пацијената са цистичном ПВЛ из терапијске групе неуросонографски налаз је био у регресији.

4.

Вредности прооксидационих маркера O_2^- и TBARS, као и активности антиоксидационог ензима каталазе, биле су више код пацијената са тежим облицима

повреде беле мождане масе (цистична ПВЛ). Такође, серумска концентрација IL-33 била је повишена код пацијената са патолошким неуросонографским налазом.

5.

Развијен је нови методолошки приступ заснован на квантитативној анализи густине боје између паренхима и хороидног плексуса мозга, који обезбеђује објективну процену потенцијалног оштећења и смањује могућност субјективне грешке. Коришћењем софтверске анализе ултрасонографских снимака ЦНС уочена је постепена нормализација дензитета можданог ткива у обе испитиване групе.

Резултати проистекли из ове докторске дисертације, како са теоријског, тако и са практичног аспекта, указују на потенцијал омега-3 суплементације у побољшању редокс статуса, серумских концентрација IL-33 и неуросонографских налаза код превремено рођене новорођенчади. У том циљу, неопходни су додатни континуирани истраживачки и клинички напори ради потврде ефекта суплементације и испитивања њеног потенцијала у превенцији тежих неуролошких исхода, уз продужено и детаљније праћење пацијената, примену додатних биохемијских маркера и савремених дијагностичких метода.

7 Литература

- [1] WHO. Preterm birth [Internet]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth> [cited 2024 Avg 12].
- [2] Ohuma EO, Moller AB, Bradley E, et al. National, regional, and global estimates of preterm birth in 2020, with trends from 2010: a systematic analysis. *Lancet*. 2023;402(10409):1261-1271.
- [3] Jović N i saradnici. Pretermijski porođaj i uloga alfa (α)-lipoiniske kiseline u prevenciji i terapiji. Kragujevac, Fakultet medicinskih nauka; 2022.
- [4] Doronjski A, Martić J NT. Osnovno i specijalizovano zbrinjavanje novorođenčeta | [Internet]. Janković B, editor. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Beograd; 2023. Available from: <https://www.unicef.org/serbia/publikacije/osnovno-i-specijalizovano-zbrinjavanje-novorodjenceta> [cited 2024 Avg 15].
- [5] Glass HC, Costarino AT, Stayer SA, Brett CM, Cladis F, Davis PJ. Outcomes for extremely premature infants. *Anesth Analg*. 2015;120(6):1337-1351.
- [6] Perlman JM, Rollins N. Surveillance protocol for the detection of intracranial abnormalities in premature neonates. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2000;154(8):822-826.
- [7] Olsen IE, Groveman SA, Lawson ML, Clark RH, Zemel BS. New intrauterine growth curves based on United States data. *Pediatrics*. 2010;125(2):e214-e224.
- [8] Damhuis SE, Ganzevoort W, Gordijn SJ. Abnormal Fetal Growth: Small for Gestational Age, Fetal Growth Restriction, Large for Gestational Age: Definitions and Epidemiology. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2021;48(2):267-279.
- [9] Perin J, Mulick A, Yeung D, et al. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-19: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet Child Adolesc Health*. 2022;6(2):106-115.
- [10] Martin RJ, Fanaroff AA, Walsh MC, eds. *Fanaroff and Martin's Neonatal-Perinatal Medicine : Diseases of the Fetus and Infant*. 11th edition. Elsevier; 2020.
- [11] Zhang G, Feenstra B, Bacelis J, et al. Genetic Associations with Gestational Duration and Spontaneous Preterm Birth. *N Engl J Med*. 2017;377(12):1156-1167.
- [12] Gomella TL, Eyal FG BMF. *Gomella's Neonatology: management, procedures, on-call problems, diseases, and drugs*. 8th edition, editor. McGraw-Hill Education. New York; 2020.
- [13] Sidman RL, Rakic P. Neuronal migration, with special reference to developing human brain: a review. *Brain Res*. 1973;62(1):1-35.
- [14] Mehta V, Namboodiri MA. N-acetylaspartate as an acetyl source in the nervous system. *Brain Res Mol Brain Res*. 1995;31(1-2):151-157.
- [15] Vaudry D, Falluel-Morel A, Leuillet S, Vaudry H, Gonzalez BJ. Regulators of cerebellar granule cell development act through specific signaling pathways. *Science*. 2003;300(5625):1532-1534.
- [16] Rantakari K, Rinta-Koski OP, Metsäranta M, et al. Early oxygen levels contribute to brain injury in extremely preterm infants. *Pediatr Res*. 2021;90(1):131-139.

- [17] Banker BQ LJ, Larroche JC. Periventricular leukomalacia of infancy. A form of neonatal anoxic encephalopathy. *Arch Neurol.* 1962;7:386-410.
- [18] Groenendaal F, Termote JU, van der Heide-Jalving M, van Haastert IC, de Vries LS. Complications affecting preterm neonates from 1991 to 2006: what have we gained?. *Acta Paediatr.* 2010;99(3):354-358.
- [19] Leviton A, Gilles F. Ventriculomegaly, delayed myelination, white matter hypoplasia, and "periventricular" leukomalacia: how are they related?. *Pediatr Neurol.* 1996;15(2):127-136.
- [20] Ophelders DRMG, Gussenhoven R, Klein L, et al. Preterm Brain Injury, Antenatal Triggers, and Therapeutics: Timing Is Key. *Cells.* 2020;9(8):1871.
- [21] Perlman JM, Terrie Inder. *Neonatology Questions and Controversies.* 4th ed. Neurology. Philadelphia: Elsevier Inc; 2024.
- [22] Skoff RP, Bessert DA, Barks JD, Song D, Cerghet M, Silverstein FS. Hypoxic-ischemic injury results in acute disruption of myelin gene expression and death of oligodendroglial precursors in neonatal mice. *Int J Dev Neurosci.* 2001;19(2):197-208.
- [23] Jensen FE. The role of glutamate receptor maturation in perinatal seizures and brain injury. *Int J Dev Neurosci.* 2002;20(3-5):339-347.
- [24] Kolodziejczyk K, Saab AS, Nave KA, Attwell D. Why do oligodendrocyte lineage cells express glutamate receptors?. *F1000 Biol Rep.* 2010;2:57.
- [25] Oka A, Belliveau MJ, Rosenberg PA, Volpe JJ. Vulnerability of oligodendroglia to glutamate: pharmacology, mechanisms, and prevention. *J Neurosci.* 1993;13(4):1441-1453.
- [26] Folkerth RD, Haynes RL, Borenstein NS, et al. Developmental lag in superoxide dismutases relative to other antioxidant enzymes in premyelinated human telencephalic white matter. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004;63(9):990-999.
- [27] B Back SA, Luo NL, Mallinson RA, et al. Selective vulnerability of preterm white matter to oxidative damage defined by F2-isoprostanes. *Ann Neurol.* 2005;58(1):108-120.
- [28] Coviello C, Perrone S, Buonocore G, et al. Isoprostanes as Biomarker for White Matter Injury in Extremely Preterm Infants. *Front Pediatr.* 2021;8:618622.
- [29] de Vries LS, Eken P, Dubowitz LM. The spectrum of leukomalacia using cranial ultrasound. *Behav Brain Res.* 1992;49(1):1-6.
- [30] Dammann O, Leviton A. Duration of transient hyperechoic images of white matter in very-low-birthweight infants: a proposed classification. *Dev Med Child Neurol.* 1997;39(1):2-5.
- [31] Spittle AJ, Cheong J, Doyle LW, et al. Neonatal white matter abnormality predicts childhood motor impairment in very preterm children. *Dev Med Child Neurol.* 2011;53(11):1000-1006.
- [32] Ghotra S, Vincer M, Allen VM, Khan N. A population-based study of cystic white matter injury on ultrasound in very preterm infants born over two decades in Nova Scotia, Canada. *J Perinatol.* 2019;39(2):269-277.

- [33] Campbell H, Check J, Kuban KCK, et al. Neonatal Cranial Ultrasound Findings among Infants Born Extremely Preterm: Associations with Neurodevelopmental Outcomes at 10 Years of Age. *J Pediatr.* 2021;237:197-205.e4.
- [34] Fischer HS, Reibel NJ, Bühner C, Dame C. Prophylactic Early Erythropoietin for Neuroprotection in Preterm Infants: A Meta-analysis. *Pediatrics.* 2017;139(5):e20164317.
- [35] Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, et al. Trends in Care Practices, Morbidity, and Mortality of Extremely Preterm Neonates, 1993-2012. *JAMA.* 2015;314(10):1039-1051.
- [36] Volpe JJ. *Volpe's Neurology of the Newborn.* 6th ed. Elsevier, Inc. Philadelphia; 2018.
- [37] P Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J Pediatr.* 1978;92(4):529-534.
- [38] Werner EF, Savitz DA, Janevic TM, et al. Mode of delivery and neonatal outcomes in preterm, small-for-gestational-age newborns. *Obstet Gynecol.* 2012;120(3):560-564.
- [39] Riskin A, Riskin-Mashiah S, Bader D, et al. Delivery mode and severe intraventricular hemorrhage in single, very low birth weight, vertex infants. *Obstet Gynecol.* 2008;112(1):21-28.
- [40] Mohamed MA, Aly H. Transport of premature infants is associated with increased risk for intraventricular haemorrhage. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2010;95(6):F403-F407.
- [41] Kaiser JR, Gauss CH, Pont MM, Williams DK. Hypercapnia during the first 3 days of life is associated with severe intraventricular hemorrhage in very low birth weight infants. *J Perinatol.* 2006;26(5):279-285.
- [42] Vela-Huerta MM, Amador-Licon M, Medina-Ovando N, Aldana-Valenzuela C. Factors associated with early severe intraventricular haemorrhage in very low birth weight infants. *Neuropediatrics.* 2009;40(5):224-227.
- [43] de Bijl-Marcus K, Brouwer AJ, De Vries LS, Groenendaal F, Wezel-Meijler GV. Neonatal care bundles are associated with a reduction in the incidence of intraventricular haemorrhage in preterm infants: a multicentre cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2020;105(4):419-424.
- [44] Law JB, Wood TR, Gogcu S, et al. Intracranial Hemorrhage and 2-Year Neurodevelopmental Outcomes in Infants Born Extremely Preterm. *J Pediatr.* 2021;238:124-134.e10.
- [45] Liu G, Nie C. Ultrasonic Diagnosis and Management of Posthemorrhagic Ventricular Dilatation in Premature Infants: A Narrative Review. *J Clin Med.* 2022;11(24):7468.
- [46] McGoldrick E, Stewart F, Parker R, Dalziel SR. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;12(12):CD004454.
- [47] Gagliardi L, Rusconi F, Da Frè M, et al. Pregnancy disorders leading to very preterm birth influence neonatal outcomes: results of the population-based ACTION cohort study. *Pediatr Res.* 2013;73(6):794-801.
- [48] Kletkiewicz H, Klimiuk M, Woźniak A, Mila-Kierzenkowska C, Dokładny K, Rogalska J. How to Improve the Antioxidant Defense in Asphyxiated Newborns-Lessons from Animal Models. *Antioxidants (Basel).* 2020;9(9):898.

- [49] Victor S, Rocha-Ferreira E, Rahim A, Hagberg H, Edwards D. New possibilities for neuroprotection in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Eur J Pediatr.* 2022;181(3):875-887.
- [50] Lee IC, Yu CS, Hu YC, Wang XA. Unconjugated bilirubin is correlated with the severeness and neurodevelopmental outcomes in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Sci Rep.* 2023;13(1):23075.
- [51] Popescu MR, Panaitescu AM, Pavel B, Zagrean L, Peltecu G, Zagrean AM. Getting an Early Start in Understanding Perinatal Asphyxia Impact on the Cardiovascular System. *Front Pediatr.* 2020;8:68.
- [52] Torres-Cuevas I, Corral-Debrinski M, Gressens P. Brain oxidative damage in murine models of neonatal hypoxia/ischemia and reoxygenation. *Free Radic Biol Med.* 2019;142:3-15.
- [53] Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 2006;141(2):312-322.
- [54] Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* 1991;91(3C):31S-38S.
- [55] Muranov KO. Fenton Reaction in vivo and in vitro. Possibilities and Limitations. *Biochemistry (Mosc).* 2024;89(Suppl 1):S112-S126.
- [56] Martini S, Aceti A, Della Gatta AN, et al. Antenatal and Postnatal Sequelae of Oxidative Stress in Preterm Infants: A Narrative Review Targeting Pathophysiological Mechanisms. *Antioxidants (Basel).* 2023;12(2):422.
- [57] Guix FX, Uribealago I, Coma M, Muñoz FJ. The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. *Prog Neurobiol.* 2005;76(2):126-152.
- [58] Virág L, Szabó E, Gergely P, Szabó C. Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention. *Toxicol Lett.* 2003;140-141:113-124.
- [59] Cannavò L, Perrone S, Viola V, Marseglia L, Di Rosa G, Gitto E. Oxidative Stress and Respiratory Diseases in Preterm Newborns. *Int J Mol Sci.* 2021;22(22):12504.
- [60] Ozsurekci Y, Aykac K. Oxidative Stress Related Diseases in Newborns. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:2768365.
- [61] Matyas M, Hasmasanu MG, Zaharie G. Antioxidant Capacity of Preterm Neonates Assessed by Hydrogen Donor Value. *Medicina (Kaunas).* 2019;55(11):720.
- [62] Dani C, Poggi C. The role of genetic polymorphisms in antioxidant enzymes and potential antioxidant therapies in neonatal lung disease. *Antioxid Redox Signal.* 2014;21(13):1863-1880.
- [63] A Arteaga O, Álvarez A, Revuelta M, Santaolalla F, Urtasun A, Hilario E. Role of Antioxidants in Neonatal Hypoxic-Ischemic Brain Injury: New Therapeutic Approaches. *Int J Mol Sci.* 2017;18(2):265.
- [64] Perrone S, Laschi E, Buonocore G. Biomarkers of oxidative stress in the fetus and in the newborn. *Free Radic Biol Med.* 2019;142:23-31.
- [65] Argüelles S, Machado MJ, Ayala A, Machado A, Hervías B. Correlation between circulating biomarkers of oxidative stress of maternal and umbilical cord blood at birth. *Free Radic Res.* 2006;40(6):565-570.

- [66] Hracsko Z, Safar Z, Orvos H, Novak Z, Pal A, Varga IS. Evaluation of oxidative stress markers after vaginal delivery or Caesarean section. *In Vivo*. 2007;21(4):703-706.
- [67] Sultana Z, Maiti K, Aitken J, Morris J, Dedman L, Smith R. Oxidative stress, placental ageing-related pathologies and adverse pregnancy outcomes. *Am J Reprod Immunol*. 2017;77(5):10.1111/aji.12653.
- [68] Cannavò L, Rulli I, Falsaperla R, Corsello G, Gitto E. Ventilation, oxidative stress and risk of brain injury in preterm newborn. *Ital J Pediatr*. 2020;46(1):100.
- [69] Kaltofen T, Haase M, Thome UH, Laube M. Male Sex is Associated with a Reduced Alveolar Epithelial Sodium Transport. *PLoS One*. 2015;10(8):e0136178.
- [70] Di Fiore JM, Vento M. Intermittent hypoxemia and oxidative stress in preterm infants. *Respir Physiol Neurobiol*. 2019;266:121-129.
- [71] Saugstad OD. Oxygen radical disease in neonatology. *Semin Neonatol*. 1998;3(3):229–38.
- [72] Graziosi A, Perrotta M, Russo D, et al. Oxidative Stress Markers and the Retinopathy of Prematurity. *J Clin Med*. 2020;9(9):2711.
- [73] Wang J, Dong W. Oxidative stress and bronchopulmonary dysplasia. *Gene*. 2018;678:177-183.
- [74] Hackam DJ, Sodhi CP. Bench to bedside - new insights into the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2022;19(7):468-479.
- [75] Qin X, Cheng J, Zhong Y, et al. Mechanism and Treatment Related to Oxidative Stress in Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *Front Mol Neurosci*. 2019;12:88.
- [76] Pandya CD, Vekaria H, Joseph B, et al. Hemoglobin induces oxidative stress and mitochondrial dysfunction in oligodendrocyte progenitor cells. *Transl Res*. 2021;231:13-23.
- [77] Jaganjac M, Cipak A, Schaur RJ, Zarkovic N. Pathophysiology of neutrophil-mediated extracellular redox reactions. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2016;21(4):839-855.
- [78] Kasuya H, Onda H, Kawashima A, Sasahara A, Hori T. Identification of genes differentially expressed in canine vasospastic cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl*. 2001;77:13-16.
- [79] Pichery M, Mirey E, Mercier P, et al. Endogenous IL-33 is highly expressed in mouse epithelial barrier tissues, lymphoid organs, brain, embryos, and inflamed tissues: in situ analysis using a novel Il-33-LacZ gene trap reporter strain. *J Immunol*. 2012;188(7):3488-3495.
- [80] Schmitz J, Owyang A, Oldham E, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*. 2005;23(5):479-490.
- [81] Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): A nuclear cytokine from the IL-1 family. *Immunol Rev*. 2018;281(1):154-168.
- [82] Moussion C, Ortega N, Girard JP. The IL-1-like cytokine IL-33 is constitutively expressed in the nucleus of endothelial cells and epithelial cells in vivo: a novel 'alarmin'?. *PLoS One*. 2008;3(10):e3331.
- [83] Liew FY, Girard JP, Turnquist HR. Interleukin-33 in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2016;16(11):676-689.

- [84] Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): A critical review of its biology and the mechanisms involved in its release as a potent extracellular cytokine. *Cytokine*. 2022;156:155891.
- [85] Pichery M, Mirey E, Mercier P, et al. Endogenous IL-33 is highly expressed in mouse epithelial barrier tissues, lymphoid organs, brain, embryos, and inflamed tissues: in situ analysis using a novel Il-33-LacZ gene trap reporter strain. *J Immunol*. 2012;188(7):3488-3495.
- [86] Cayrol C. IL-33, an Alarmin of the IL-1 Family Involved in Allergic and Non Allergic Inflammation: Focus on the Mechanisms of Regulation of Its Activity. *Cells*. 2021;11(1):107.
- [87] Thierry A, Giraud S, Robin A, et al. The alarmin concept applied to human renal transplantation: evidence for a differential implication of HMGB1 and IL-33. *PLoS One*. 2014;9(2):e88742.
- [88] Barbier L, Robin A, Sindyayigaya R, et al. Endogenous Interleukin-33 Acts as an Alarmin in Liver Ischemia-Reperfusion and Is Associated With Injury After Human Liver Transplantation. *Front Immunol*. 2021;12:744927.
- [89] Sundnes O, Ottestad W, Schjalm C, et al. Rapid systemic surge of IL-33 after severe human trauma: a prospective observational study. *Mol Med*. 2021;27(1):29.
- [90] Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity*. 2013;39(6):1003-1018.
- [91] Choi YS, Choi HJ, Min JK, et al. Interleukin-33 induces angiogenesis and vascular permeability through ST2/TRAF6-mediated endothelial nitric oxide production. *Blood*. 2009;114(14):3117-3126.
- [92] Yagami A, Orihara K, Morita H, et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. *J Immunol*. 2010;185(10):5743-5750.
- [93] Griesenauer B, Paczesny S. The ST2/IL-33 Axis in Immune Cells during Inflammatory Diseases. *Front Immunol*. 2017;8:475.
- [94] Blessy S. *Determining the role of IL-33 and ST2 in hypertension and vascular dysfunction*. PhD thesis, University of Glasgow; 2024.
- [95] Gadani SP, Walsh JT, Smirnov I, Zheng J, Kipnis J. The glia-derived alarmin IL-33 orchestrates the immune response and promotes recovery following CNS injury. *Neuron*. 2015;85(4):703-709.
- [96] Vainchtein ID, Chin G, Cho FS, et al. Astrocyte-derived interleukin-33 promotes microglial synapse engulfment and neural circuit development. *Science*. 2018;359(6381):1269-1273.
- [97] Nguyen PT, Dorman LC, Pan S, et al. Microglial Remodeling of the Extracellular Matrix Promotes Synapse Plasticity. *Cell*. 2020;182(2):388-403.e15.
- [98] Sun Y, Wen Y, Wang L, et al. Therapeutic Opportunities of Interleukin-33 in the Central Nervous System. *Front Immunol*. 2021;12:654626.
- [99] Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): A nuclear cytokine from the IL-1 family. *Immunol Rev*. 2018;281(1):154-168.
- [100] Fairlie-Clarke K, Barbour M, Wilson C, Hridi SU, Allan D, Jiang HR. Expression and Function of IL-33/ST2 Axis in the Central Nervous System Under Normal and Diseased

- Conditions. *Front Immunol.* 2018;9:2596.
- [101] De la Fuente M, MacDonald TT, Hermoso MA. The IL-33/ST2 axis: Role in health and disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2015;26(6):615-623.
- [102] Mathias K, Machado RS, Tiscoski ADB, et al. IL-33 in Ischemic Stroke: Brain vs. Periphery. *Inflammation.* 2025;48(4):1575-1589.
- [103] Qian L, Yuanshao L, Wensi H, et al. Serum IL-33 Is a Novel Diagnostic and Prognostic Biomarker in Acute Ischemic Stroke. *Aging Dis.* 2016;7(5):614-622.
- [104] Li HY, Shen Y, Xie LS, Wu QF, Yu SG. Moxibustion influences hippocampal microglia polarization via IL-33/ST2 pathway in Alzheimer's disease mice. *Zhen Ci Yan Jiu.* 2023;48(12):1202-1208.
- [105] Yang D, Sun Y, Lin D, et al. Interleukin-33 ameliorates perioperative neurocognitive disorders by modulating microglial state. *Neuropharmacology.* 2024;253:109982.
- [106] J Jiao M, Li X, Chen L, et al. Neuroprotective effect of astrocyte-derived IL-33 in neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *J Neuroinflammation.* 2020;17(1):251.
- [107] Fu Y, Jie J, Lei L, et al. Exploring the destructive synergy between IL-33 and Suilysin hemolysis on blood-brain barrier stability. *Microbiol Spectr.* 2024;12(8):e0061224.
- [108] Saini RK, Keum YS. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance - A review. *Life Sci.* 2018;203:255-267.
- [109] Whitcutt JM. South African pilchard oil. 6. The isolation and structure of a docosahexaenoic acid from South African pilchard oil. *Biochem J.* 1957;67(1):60-64.
- [110] Klenk E. Constitution of the unsaturated C20 and C22 fatty acids of the glycoposphatides of the brain. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem.* 1952;291(3):104-118.
- [111] Tikhonova IG. Application of GPCR Structures for Modelling of Free Fatty Acid Receptors. *Handb Exp Pharmacol.* 2017;236:57-77.
- [112] Lacombe RJS, Smith ME, Perlman K, Turecki G, Mechawar N, Bazinet RP. Quantitative and carbon isotope ratio analysis of fatty acids isolated from human brain hemispheres. *J Neurochem.* 2023;164(1):44-56.
- [113] Martinez M. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. *J Pediatr.* 1992;120(4 Pt 2):S129-S138.
- [114] Carver JD, Benford VJ, Han B, Cantor AB. The relationship between age and the fatty [acid composition of cerebral cortex and erythrocytes in human subjects. *Brain Res Bull.* 2001;56(2):79-85.
- [115] Kuipers RS, Luxwolda MF, Offringa PJ, Boersma ER, Dijck-Brouwer DA, Muskiet FA. Fetal intrauterine whole body linoleic, arachidonic and docosahexaenoic acid contents and accretion rates. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2012;86(1-2):13-20.
- [116] Ramel SE, Belfort MB. Preterm Nutrition and the Brain. *World Rev Nutr Diet.* 2021;122:46-59.
- [117] Embleton ND, Jennifer Moltu S, Lapillonne A, et al. Enteral Nutrition in Preterm Infants (2022): A Position Paper From the ESPGHAN Committee on Nutrition and Invited Experts. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2023;76(2):248-268.
- [118] Wendel K, Gunnarsdottir G, Fossan Aas M, et al. Essential Fatty Acid Supplementation and Early Inflammation in Preterm Infants: Secondary Analysis of a Randomized

- Clinical Trial. *Neonatology*. 2023;120(4):465-472.
- [119] Carlson SE, Gajewski BJ, Valentine CJ, et al. Higher dose docosahexaenoic acid supplementation during pregnancy and early preterm birth: A randomised, double-blind, adaptive-design superiority trial. *EClinicalMedicine*. 2021;36:100905.
- [120] Vizzari G, Morniroli D, Alessandretti F, et al. Comparative Analysis of Docosahexaenoic Acid (DHA) Content in Mother's Milk of Term and Preterm Mothers. *Nutrients*. 2022;14(21):4595.
- [121] Zhang W, Hu X, Yang W, Gao Y, Chen J. Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation confers long-term neuroprotection against neonatal hypoxic-ischemic brain injury through anti-inflammatory actions. *Stroke*. 2010;41(10):2341-2347.
- [122] Moltu SJ, Nordvik T, Rossholt ME, et al. Arachidonic and docosahexaenoic acid supplementation and brain maturation in preterm infants; a double blind RCT. *Clin Nutr*. 2024;43(1):176-186.
- [123] Hellström A, Nilsson AK, Wackernagel D, et al. Effect of Enteral Lipid Supplement on Severe Retinopathy of Prematurity: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Pediatr*. 2021;175(4):359-367.
- [124] Gould JF, Makrides M, Gibson RA, et al. Neonatal Docosahexaenoic Acid in Preterm Infants and Intelligence at 5 Years. *N Engl J Med*. 2022;387(17):1579-1588.
- [125] Amaral YN, Marano D, Silva LM, Guimarães AC, Moreira ME. Are There Changes in the Fatty Acid Profile of Breast Milk with Supplementation of Omega-3 Sources? A Systematic Review. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2017;39(3):128-141.
- [126] Kus-Yamashita MMM, Cano CB, Monteiro VCB, Catarino RM. Human Milk: Fast Determination of Docosahexaenoic Acid (DHA). *Analytica*. 2023; 4(1):54-65.
- [127] Konstantinidis G, Janković B, Radlović N. Nadoknada DHA kod novorođenčadi i odojčadi. *Prev Paediatr*. 2019;5(1-2):62-6.
- [128] Zivojinovic S, Petrovic Savic S, Prodanovic T, et al. Neurosonographic Classification in Premature Infants Receiving Omega-3 Supplementation Using Convolutional Neural Networks. *Diagnostics (Basel)*. 2024;14(13):1342.
- [129] Henderson RDE, Yi X, Adams SJ, Babyn P. Automatic Detection and Classification of Multiple Catheters in Neonatal Radiographs with Deep Learning. *J Digit Imaging*. 2021;34(4):888-897.
- [130] OrShea A, Lightbody G, Boylan G, Temko A. Investigating the Impact of CNN Depth on Neonatal Seizure Detection Performance. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*. 2018;2018:5862-5865.
- [131] Ervural S, Ceylan M. Convolutional neural networks-based approach to detect neonatal respiratory system anomalies with limited thermal image. *Trait du Signal*. 2021;38(2):437-42.
- [132] Abbasi SF, Abbasi QH, Saeed F, Alghamdi NS. A convolutional neural network-based decision support system for neonatal quiet sleep detection. *Math Biosci Eng*. 2023;20(9):17018-17036.
- [133] Salih N, Ksantini M, Hussein N, et al. Deep Learning Models and Fusion Classification Technique for Accurate Diagnosis of Retinopathy of Prematurity in Preterm Newborn. *Baghdad Sci J*. 2024;21(5):1729-42.

- [134] Jakovljevic V, Milic P, Bradic J, et al. Standardized *Aronia melanocarpa* Extract as Novel Supplement against Metabolic Syndrome: A Rat Model. *Int J Mol Sci*. 2018;20(1):6.
- [135] Tepić S, Petković A, Srejšović I, et al. Impact of hyperbaric oxygenation on oxidative stress in diabetic patients. *Undersea Hyperb Med*. 2018;45(1):9-17.
- [136] Xu L, Yan X, Tang Z, Feng B. Association between circulating oxidized OxLDL/LDL-C ratio and the severity of coronary atherosclerosis, along with other emerging biomarkers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2022;191:110040.
- [137] ang F, Nuyt AM, Garofalo C, et al. Oxidized LDL, insulin sensitivity and beta-cell function in newborns. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2021;9(1):e001435.
- [138] Obradovic S. *Neurosonografska Dijagnostika*. Medicinski Fakultet Kragujevac: Kragujevac, Serbia, 2009.
- [139] Snyder EJ, Perin J, Chavez-Valdez R, Northington FJ, Lee JK, Tekes A. Head Ultrasound Resistive Indices Are Associated With Brain Injury on Diffusion Tensor Imaging Magnetic Resonance Imaging in Neonates With Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *J Comput Assist Tomogr*. 2020;44(5):687-691.
- [140.] Giri S, Sau R, Das S, et al. Correlation of Transcranial Ultrasound and Magnetic Resonance Imaging in Evaluation of Imaging Patterns of Clinically Diagnosed Hypoxic Ischaemic Encephalopathy in Neonates. *J Evid Based Med Healthc*. 2020;7(19):938-942.
- [141] Yunus Y, Harlan J, Santony J, Hidayat R, Na'am J. Enhancement on enlarge image for identification lumbar radiculopathy at magnetic resonance imaging. *TEM J*. 2020;9(2):649-655.
- [142] Acharya UR, Oh SL, Hagiwara Y, Tan JH, Adeli H. Deep convolutional neural network for the automated detection and diagnosis of seizure using EEG signals. *Comput Biol Med*. 2018;100:270-278.
- [143] Robalino B, Getino M, Rodellar J. Hidden mathematics under the learning process in convolutional neural networks. *Cienc. Lat. Rev. Cient. Multidiscip*. 2022;6:1031.
- [144] Erhani J, Portier PÉ, Egyed-Zsigmond E, Nurbakova D. Confusion Matrices: A Unified Theory. *IEEE Access*. 2024;12:1-1.
- [145] Prodanovic T, Petrovic Savic S, Prodanovic N, et al. Advanced Diagnostics of Respiratory Distress Syndrome in Premature Infants Treated with Surfactant and Budesonide through Computer-Assisted Chest X-ray Analysis. *Diagnostics (Basel)*. 2024;14(2):214.
- [146] Barros AS, Crispim RYG, Cavalcanti JU, et al. Impact of the Chronic Omega-3 Fatty Acids Supplementation in Hemiparkinsonism Model Induced by 6-Hydroxydopamine in Rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2017;120(6):523-531.
- [147] Angolile CM, Max BL, Mushemba J, Mashauri HL. Global increased cesarean section rates and public health implications: A call to action. *Health Sci Rep*. 2023;6(5):e1274.
- [148] Vande Loock K, Ciardelli R, Decordier I, Plas G, Haumont D, Kirsch-Volders M. Preterm newborns show slower repair of oxidative damage and paternal smoking associated DNA damage. *Mutagenesis*. 2012;27(5):573-580.

- [149] Schlinzig T, Johansson S, Gunnar A, Ekström TJ, Norman M. Epigenetic modulation at birth - altered DNA-methylation in white blood cells after Caesarean section. *Acta Paediatr.* 2009;98(7):1096-1099.
- [150] Lee JW, Davis JM. Future applications of antioxidants in premature infants. *Curr Opin Pediatr.* 2011;23(2):161-166.
- [151] Vento M, Aguar M, Escobar J, et al. Antenatal steroids and antioxidant enzyme activity in preterm infants: influence of gender and timing. *Antioxid Redox Signal.* 2009;11(12):2945-2955.
- [152] Cronan JJ, Yoder IC, Amis ES Jr, Pfister RC. The myth of anechoic renal sinus fat. *Radiology.* 1982;144(1):149-152.
- [153] Sokou R, Mantzios P, Palioura AE, et al. Diagnostic and Prognostic Value of Hematological Parameters in Necrotizing Enterocolitis: A Systematic Review. *J Clin Med.* 2025;14(7):2530.
- [154] Mahoney AD, Jain L. Respiratory Disorders in Moderately Preterm, Late Preterm, and Early Term Infants. *Clin Perinatol.* 2013;40(4):665-678.
- [155] Fauchère JC, Bauschatz AS, Arlettaz R, Zimmermann-Bär U, Bucher HU. Agreement between capillary and arterial lactate in the newborn. *Acta Paediatr.* 2002;91(1):78-81.
- [156] Soghier L.M, Fratantoni, K, Reyes C. Reference Range Values for Pediatric Care, 2nd ed. *American Academy of Pediatrics.* Washington, DC, USA; 2019.
- [157] Wiberg N, Klausen TW, Tyrberg T, Nordström L, Wiberg-Itzel E. Infant outcome at four years of age after intrapartum sampling of scalp blood lactate for fetal assessment. A cohort study. *PLoS One.* 2018;13(3):e0193887.
- [158] Weiss M, Dullenkopf A, Kolarova A, Schulz G, Frey B, Baenziger O. Near-infrared spectroscopic cerebral oxygenation reading in neonates and infants is associated with central venous oxygen saturation. *Paediatr Anaesth.* 2005;15(2):102-109.
- [159] Amigoni A, Mozzo E, Brugnaro L, et al. Four-side near-infrared spectroscopy measured in a paediatric population during surgery for congenital heart disease. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2011;12(5):707-712.
- [160] Janailiac M, Beausoleil TP, Barrington KJ, et al. Correlations between near-infrared spectroscopy, perfusion index, and cardiac outputs in extremely preterm infants in the first 72 h of life. *Eur J Pediatr.* 2018;177(4):541-550.
- [161] Simovic A, Stojkovic A, Savic D MD. Can a single lactate value predict adverse outcome in critically ill newborn? *Bratisl Lek List.* 2015;116(10):591-595.
- [162] Hussain F, Gilshenan K, Gray PH. Does lactate level in the first 12 hours of life predict mortality in extremely premature infants?. *J Paediatr Child Health.* 2009;45(5):263-267.
- [163] Luo ZC, Fraser WD, Julien P, et al. Tracing the origins of "fetal origins" of adult diseases: programming by oxidative stress?. *Med Hypotheses.* 2006;66(1):38-44.
- [164] Jena AB, Samal RR, Bhol NK, Duttaroy AK. Cellular Red-Ox system in health and disease: The latest update. *Biomed Pharmacother.* 2023;162:114606.
- [165] Ramiro-Cortijo D, López de Pablo ÁL, López-Giménez MR, et al. Plasma Oxidative Status in Preterm Infants Receiving LCPUFA Supplementation: A Pilot Study. *Nutrients.* 2020;12(1):122.

- [166] Kajarabille N, Hurtado JA, Peña-Quintana L, et al. Omega-3 LCPUFA supplement: a nutritional strategy to prevent maternal and neonatal oxidative stress. *Matern Child Nutr.* 2017;13(2):e12300.
- [167] Aizawa H, Koarai A, Shishikura Y, et al. Oxidative stress enhances the expression of IL-33 in human airway epithelial cells. *Respir Res.* 2018;19(1):52.
- [168] Čepelak I, Dodig S, Pavić I. Bilirubin - new insights into an old molecule. *Biochem Med (Zagreb).* 2025;35(2):020501.
- [169] Ali F, Omran A, Kiani MA, et al. Investigating the Diagnostic Value of Interleukin 33 Biomarker in the Diagnosis of Biliary Atresia in Infants with Cholestasis Admitted to Akbar Hospital in Mashhad. *Journal of Pediatric Perspectives.* 2024;12(9), 19008-19021.
- [170] Salem A, Farag D, Ahmed M, Botrous O. Diagnostic Value of Interleukin-33 in Neonatal Sepsis. *Egypt J Med Res.* 2024;5(1):133-142.
- [171] Chen JL ZC. Changes of serum interleukin-33 in preterm infants with bronchopulmonary dysplasia. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.* 2020;22(7):716-720.
- [172] Chen Y, Qian J. Increased serum levels of IL-33 and soluble ST2 in neonates with human cytomegalovirus infection. *J Med Virol.* 2018;90(8):1383-1388.
- [173] Gutiérrez S, Svahn SL, Johansson ME. Effects of Omega-3 Fatty Acids on Immune Cells. *Int J Mol Sci.* 2019;20(20):5028.
- [174.] Zharichenko N, Njoku DB. The Role of Pro-Inflammatory and Regulatory Signaling by IL-33 in the Brain and Liver: A Focused Systematic Review of Mouse and Human Data and Risk of Bias Assessment of the Literature. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):3933.
- [175] He Y, Zhang Y, Li F, Shi Y. White Matter Injury in Preterm Infants: Pathogenesis and Potential Therapy From the Aspect of the Gut-Brain Axis. *Front Neurosci.* 2022;16:849372.
- [176] Pinto J, Paneth N, Kazam E, et al. Interobserver variability in neonatal cranial ultrasonography. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 1988;2(1):43-58.
- [177] Hintz SR, Slovis T, Bulas D, et al. Interobserver reliability and accuracy of cranial ultrasound scanning interpretation in premature infants. *J Pediatr.* 2007;150(6):592-596.e5965.
- [178] Sarkar S, Shankaran S, Barks J, et al. Outcome of Preterm Infants with Transient Cystic Periventricular Leukomalacia on Serial Cranial Imaging Up to Term Equivalent Age. *J Pediatr.* 2018;195:59-65.e3.
- [179] Strømmen K, Blakstad EW, Moltu SJ, et al. Enhanced nutrient supply to very low birth weight infants is associated with improved white matter maturation and head growth. *Neonatology.* 2015;107(1):68-75.
- [180] Almaas AN, Tamnes CK, Nakstad B, et al. Long-chain polyunsaturated fatty acids and cognition in VLBW infants at 8 years: an RCT. *Pediatrics.* 2015;135(6):972-980.
- [181] Manlapaz-Mann A, Cai CL, Bodkin D, Mustafa G, Aranda JV, Beharry KD. Effects of omega 3 polyunsaturated fatty acids, antioxidants, and/or non-steroidal inflammatory drugs in the brain of neonatal rats exposed to intermittent hypoxia. *Int J Dev Neurosci.* 2021;81(5):448-460.

- [182] Tsukimori K, Komatsu H, Yoshimura T, et al. Increased inflammatory markers are associated with early periventricular leukomalacia. *Dev Med Child Neurol*. 2007;49(8):587-590.
- [183] Liu J, Xing Y, Gao Y, Zhou C. Changes in serum interleukin-33 levels in patients with acute cerebral infarction. *J Clin Neurosci*. 2014;21(2):298-300.
- [184] Li XM, Wang XY, Feng XW, et al. Serum interleukin-33 as a novel marker for long-term prognosis and recurrence in acute ischemic stroke patients. *Brain Behav*. 2019;9(9):e01369.
- [185] Hamano H, Takahashi K, Kimura S, et al. Interleukin-33 and Soluble ST2 Levels in Infants with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *Neonatology*. 2023;120(3):353-362.
- [186] Annink KV, de Vries LS, Groenendaal F, et al. The development and validation of a cerebral ultrasound scoring system for infants with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Pediatr Res*. 2020;87(1):59-66.
- [187] Hossain M, Khan I, Islam I, Sarker D, Sultana M. Assessment of Hypoxic Ischemic Changes in Perinatal Asphyxia of First Ultrasonogram of Brain New *Adv. Brain Criti. Care*. 2020;1:4-8.
- [188] Verbeek RJ, Mulder PB, Sollie KM, et al. Development of muscle ultrasound density in healthy fetuses and infants. *PLoS One*. 2020;15(7):e0235836.
- [189] Belasco R, Edwards T, Munoz AJ, Rayo V, Buono MJ. The Effect of Hydration on Urine Color Objectively Evaluated in CIE L*a*b* Color Space. *Front Nutr*. 2020;7:576974.
- [190] Cui K, Changrong S, Maomin Y, Hui Z, Xiuxiang L. Development of an artificial intelligence-based multimodal model for assisting in the diagnosis of necrotizing enterocolitis in newborns: a retrospective study. *Front Pediatr*. 2024;12:1388320.
- [191] Zhao S, Xiao X, Zhang X, Yan Meng WL, Soghier L, Hahn JK. Automated Assessment System for Neonatal Endotracheal Intubation Using Dilated Convolutional Neural Network. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*. 2020;2020:5455-5458.
- [192] Brown JM, Campbell JP, Beers A, et al. Automated Diagnosis of Plus Disease in Retinopathy of Prematurity Using Deep Convolutional Neural Networks. *JAMA Ophthalmol*. 2018;136(7):803-810.
- [193] Li Z, Huang X, Zhang Z, et al. Synthesis of magnetic resonance images from computed tomography data using convolutional neural network with contextual loss function. *Quant Imaging Med Surg*. 2022;12(6):3151-3169.
- [194] Van Wezel-Meijler G. *Neonatal cranial ultrasonography: Guidelines for the procedure and atlas of normal ultrasound anatomy*. *Neonatal Cranial Ultrasonography: Guidelines for the Procedure and Atlas of Normal Ultrasound Anatomy*. Springer, 2007.
- [195] Zhang Q, Zhou X. Analysis of cranial ultrasound images for newborn. *Front Neurol*. 2023;13(4).
- [196] Abdou MA. Literature review: efficient deep neural networks techniques for medical image analysis. *Neural Comput Appl*. 2022;34(8):5791–812.
- [197] Usama S, Safwan S, Bukhari K, Syed A, Sajid S. The evaluation of convolutional neural network (CNN) for the assessment of chest X-ray of COVID-19 patients. *Ann Clin Anal Med*. 2020;11:639–42.

- [198] Wong DJ, Gandomkar Z, Wu WJ, et al. Artificial intelligence and convolution neural networks assessing mammographic images: a narrative literature review. *J Med Radiat Sci.* 2020;67(2):134-142.
- [199] Kang OH, Jahn P, Eichhorn JG, Dresbach T, Müller A, Sabir H. Correlation of Different MRI Scoring Systems with Long-Term Cognitive Outcome in Cooled Asphyxiated Newborns. *Children (Basel).* 2023;10(8):1295.

Списак скраћеница

ГН	–	гестацијска недеља
СЗО	–	Светска здравствена организација
ПТМ	–	порођајна телесна маса
РДС	–	респираторни дистрес синдром
НЕК	–	некротизирајући ентероколитис
PDA	–	отворени ductus arteriosus (<i>engl. patent ductus arteriosus</i>)
БПД	–	бронхопулмонална дисплазија
ЦНС	–	централни нервни систем
ПВЛ	–	перивентрикуларна леукомалација
pre-OL	–	премијелинизирајући олигодендроцити (<i>engl. premyelinating oligodendrocytes</i>)
ROS	–	реактивне врсте кисеоника (<i>engl. reactive oxygen species</i>)
NMDA	–	<i>N</i> -метил- <i>D</i> -аспартат (<i>engl. N-methyl-D-aspartate</i>)
AMPA	–	α -амино-3-хидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионат (<i>engl. α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-izaksol-propionic acid</i>)
SOD	–	супероксид дизмутаза (<i>engl. superoxide dismutase</i>)
ХЕ	–	хиперехогеност
MRI	–	магнетна резонанца (<i>engl. magnetic resonance imaging</i>)
ПВХ/ИВХ	–	перивентрикуларне/интравентрикуларна хеморагија
Hct	–	хематокрит (<i>engl. hematocrit</i>)

Hgb	– хемоглобин (<i>engl. haemoglobin</i>)
ДНК	– дезоксирибонуклеинска киселина
RNS	– реактивне врсте азота (<i>engl. reactive nitrogen species</i>)
CAT	– каталаза (<i>engl. catalase</i>)
GSH	– редуковани глутатион (<i>engl. reduced glutathione</i>)
РОП	– ретинопатија прематуритета
IL-33	– интерлеукин-33 (<i>engl. interleukin-33</i>)
ST2	– супресор туморигености 2 (<i>engl. suppression of tumorigenicity 2</i>)
ST2L	– трансмембранска изоформа ST2 рецептора (<i>engl. transmembrane isoform of the ST2 receptor</i>)
sST2	– растворљива изоформе ST2 рецептора (<i>engl. soluble isoforms of the ST2 receptor</i>)
IL-1RAcP	– помоћни протеин рецептора за IL-1 (<i>engl. interleukin-1 receptor accesory protein</i>)
Th2	– помоћне Th2 ћелије, (<i>engl. T helper cells type 2</i>)
ILC2	– урођене лимфоидне ћелије типа 2 (<i>engl. innate lymphoid cells group 2</i>)
Treg	– регулаторне Т ћелије (<i>engl. regulatory T cells</i>)
Th1	– помоћне Th1 лимфоците, (<i>engl. T helper cells type 1</i>)
PUFA	– полинезасићене масне киселине (<i>engl. polyunsaturated fatty acids</i>)
ALA	– α -линоленска киселина (<i>engl. α-linolenic acid</i>)

- DHA – докозахексаенска киселина
(*engl. docosahexaenoic acid*)
- AMФ – адаптиране млечне формуле
- ROC – (*engl. receiver operating characteristic*)
- CNN – конволутивна неуронска мрежа
(*engl. convolutional neural networks*)
- ОИИИ – одељење интензивне неонаталне неге
- TBARS – реактивне супстанце тиобарбитурне киселине
(*engl. tiobarbituric acid reactive substances*)
- HRP – пероксидаза из корена рена
(*engl. horse radish peroxidase*)
- OxLDL – оксидовани липопотеини мале густине
(*engl. oxidized low-density lipoprotein*)
- ELISA – ензимско имуноензимски тест
(*engl. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)
- CRP – Ц-реактивни протеин
(*engl. C-reactive protein*)
- PCT – прокалцитонин
(*procalcitonin*)
- ККС – комплетна крвна слика са леукоцитарном формулом

Списак слика и графикона

Слика 1.1	Глобална стопа превременог порођаја у 2020. години	2
Слика 1.2	Експресија глутаматског рецептора у ћелијама олигодендроцитне лозе	7
Слика 1.3	Трансфонтанеларни ултрасонографски налаз ПВЛ	9
Слика 1.4	Ефекти антиоксидационих ензима на слободне радикале у неонаталном мозгу	15
Слика 1.5	Имунорегулаторни одговор мозга изазван ИЛ-33 код исхемијског можданог удара	20
Слика 3.1	Неуросонографски приказ паренхима мозга и хороидног плексуса: а) нормално, б) умерено, в) интензивно	35
Слика 3.2	Алгоритам за класификацију	37
Слика 3.3	Трансформација слика из RGB колор-простора у CIE Lab простор боја	39
Слика 3.4	Категорије тренинг података	40
Слика 3.5	Процес обраде неуросонографских снимака	43
Слика 3.6	Ток тренирања CNN модела	44
Слика 3.7	Матрица конфузије	45
Слика 3.8	Теоријски ROC график	48
Слика 4.1	ROC крива	87
Графикон 4.1	Вредности прооксидационих маркера у контролној групи: (А) TBARS; (Б) NO_2^- ; (В) O_2^- ; (Г) H_2O_2 ; (Д) OxLDL	62
Графикон 4.2	Вредности прооксидационих маркера у терапијској групи: (А) TBARS; (Б) NO_2^- ; (В) O_2^- ; (Г) H_2O_2 ; (Д) OxLDL	63
Графикон 4.3	Вредности прооксидационих маркера између терапијске и контролне групе: (А) TBARS; (Б) NO_2^- ; (В) O_2^- ; (Г) H_2O_2 ; (Д) OxLDL	64
Графикон 4.4	Вредности маркера антиоксидационе заштите у контролној групи: (А) CAT; (Б) SOD; (В) GSH	65
Графикон 4.5	Вредности маркера антиоксидационе заштите у терапијској групи: (А) CAT; (Б) SOD; (В) GSH	66
Графикон 4.6	Вредности маркера антиоксидационе заштите између терапијске и контролне групе: (А) CAT; (Б) SOD; (В) GSH	67
Графикон 4.7	Серумска концентрација ИЛ-33: (А) контролна група; (Б) терапијска група	68
Графикон 4.8	Анализа разлика у концентрацији ИЛ-33 између терапијске и контролне групе	69

Списак табела

Табела 1.1	Класификација превремено рођених новорођенчади према (А) гестацијској недељи, (Б) порођајној телесној маси и (В) комбиновано, гестацијској недељи и порођајној телесној маси	3
Табела 1.2	Категоризација фактора који индукују или моделирају лезије мозга превремено рођене деце	6
Табела 3.1	Карактеристике слојева CNN модела	42
Табела 4.1	Демографске и антропометријске карактеристике пацијената при рођењу	51
Табела 4.2	Вредности <i>Apgar</i> скорa у испитиваним групама	52
Табела 4.3	Карактеристике зачећа, порођаја и начина исхране	52
Табела 4.4	Карактеристике примене оксигенотерапије и механичке вентилације	53
Табела 4.5	Трајање оксигенотерапије и механичке вентилације	53
Табела 4.6	Вредности гасних анализа (pH, pO ₂ и pCO ₂) у контролној и терапијској групи	54
Табела 4.7	Вредности, HCO ₃ ⁻ , базног ексцеса и лактата у контролној и терапијској групи	55
Табела 4.8	Вредности SaO ₂ у контролној и терапијској групи	56
Табела 4.9	Вредности електролита и глукозе по данима у контролној и терапијској групи	57
Табела 4.10	Вредности Hgb, Hct и билирубина у контролној и терапијској групи	58
Табела 4.11	Вредности хематолошких параметара у контролној и терапијској групи	59
Табела 4.12	Вредности CRP, PCT, урее и креатинина у контролној и терапијској групи	60
Табела 4.13	Учесталост фототерапије и позитивних налаза хемокултуре и уринокултуре у контролној и терапијској групи	60
Табела 4.14	Учесталост урођених срчаних мана, FOA и PDA у контролној и терапијској групи	61
Табела 4.15	Категоријска заступљеност променљивих неуросонографског налаза 1. дана, у односу на групу	70
Табела 4.16	Категоријска заступљеност променљивих неуросонографског налаза 7. дана, у односу на групу	71
Табела 4.17	Категоријска заступљеност променљивих неуросонографског налаза 3. месеца, у односу на групу	72

Табела 4.18	Повезаност неуросонографског налаза 1. дана са вредностима прооксидационих маркера (NO_2^- и $\text{O}_2^{\cdot-}$)	73
Табела 4.19	Повезаност неуросонографског налаза 1. дана са вредностима прооксидационих маркера (H_2O_2 и TBARS)	74
Табела 4.20	Повезаност неуросонографског налаза 1. дана са вредностима прооксидационих маркера (OxLDL)	75
Табела 4.21	Повезаност неуросонографског налаза 7. дана са вредностима прооксидационих маркера (NO_2^- и $\text{O}_2^{\cdot-}$)	76
Табела 4.22	Повезаност неуросонографског налаза 7. дана са вредностима прооксидационих маркера (H_2O_2 и TBARS)	77
Табела 4.23	Повезаност неуросонографског налаза 7. дана са вредностима прооксидационих маркера (OxLDL)	78
Табела 4.24	Повезаност неуросонографског налаза 3. месеца са вредностима прооксидационих маркера (NO_2^- и $\text{O}_2^{\cdot-}$)	79
Табела 4.25	Повезаност неуросонографског налаза 3. месеца са вредностима прооксидационих маркера (H_2O_2 и TBARS)	80
Табела 4.26	Повезаност неуросонографског налаза 3. месеца са вредностима прооксидационих маркера (OxLDL)	81
Табела 4.27	Повезаност неуросонографског налаза 1. дана са маркерима антиоксидационе заштите (CAT, SOD и GSH)	82
Табела 4.28	Повезаност неуросонографског налаза 7. дана са маркерима антиоксидационе заштите (CAT, SOD и GSH)	83
Табела 4.29	Повезаност неуросонографског налаза 3. месеца са маркерима антиоксидационе заштите (CAT, SOD и GSH)	84
Табела 4.30	Повезаност неуросонографског налаза у сва три тренутка мерења са IL-33	85
Табела 4.31	Метрике перформанси предложеног класификационог модела	86
Табела 4.32	Метрике перформанси предложеног класификационог модела (петострука унакрсна валидација)	88

Биографија

Др Сузана Г. Живојиновић (рођ.Радовановић) рођена је 09.03.1985. године у Крагујевцу. Основно и средњошколско образовање (Медицинска школа „Сестре Нинковић“) стекла је у Крагујевцу. На Факултет медицинских наука у Крагујевцу уписала се 2004/05. године, где је и дипломирала 2014. године са просечном оценом 9,45. Након дипломирања обавила је обавезни лекарски стаж и положила стручни испит.

У Центру за неонатологију, Клинике за педијатрију, УКЦ Крагујевац запослена је од децембра 2018. године. Специјалистичке студије из педијатрије уписала је 2015/16. године на Факултету медицинских наука у Крагујевцу. Специјалистички испит положила је 19.10.2020. године са оценом одличан и стекла звање специјалиста педијатрије.

Докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, уписала је школске 2021/22. године, изборно подручје Експериментална и примењена физиологија са спортском медицином. Усмени докторски испит положила је 13.10.2023. са оценом 10 (десет).

Уже специјалистичке студије из неонатологије на Медицинском факултету у Београду уписала је школске 2023/24. године, а усмени субспецијалистички испит положила је 25.12.2024. године са оценом 10 (десет). Рад уже специјализације под насловом *„Морбидитет новорођенчади из трудноћа компликованих дијабетес мелитусом“* успешно је одбранила 28. маја 2025. године.

На Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу запослена је од 2022. године у звању сарадника у настави, а од 2024. године у звање асистента за ужу научну област Педијатрија.

Др Сузана Г. Живојиновић се бави научно истраживачким радом, аутор је радова из области неонатологије и педијатрије у часописима од међународног и националног значаја са рецензијом.

Списак најзначајнијих научних радова:

1. **Zivojinovic S**, Petrovic Savic S, Prodanovic T, Prodanovic N, Simovic A, Devedzic G, Savic D. Neurosonographic Classification in Premature Infants Receiving Omega-3 Supplementation Using Convolutional Neural Networks. *Diagnostics*. 2024; 14(13):1342. **M21** (IF 3,3/2024)
2. Prodanovic T, Petrovic Savic S, Prodanovic N, Simovic A, **Zivojinovic S**, Djordjevic JC, Savic D. Advanced Diagnostics of Respiratory Distress Syndrome in Premature Infants Treated with Surfactant and Budesonide through Computer-Assisted Chest X-ray Analysis. *Diagnostics*. 2024; 14(2):214. **M21** (IF 3,3/2024)
3. Cekerevac M, Pantovic J, Medovic M, Igrutinovic N, Knezevic S, Markovic B, Mihajlovic I, Todorovic Z, Maksic T, Vitosevic N, **Zivojinovic S**, Cekovic Djordjevic J, Prodanovic T, Medovic R. Clinical and Laboratory Characteristics of Children with Chronic Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Diagnostics*. 2025; 15(10):1217. **M21** (IF 3,3/2024)

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

„Утицај суплементације омега-3 масним киселинама на редоке статус, серумску концентрацију интерлеукина-33 и дензитет неуросонографских налаза код превремено рођене деце”

представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

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

У Крагујевцу, 17.10.2025. године,

Њивезинович Слана

потпис аутора

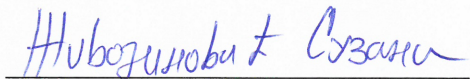
**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

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

„Утицај суплементације омега-3 масним киселинама на редокс статус, серумску концентрацију интерлеукина-33 и дензитет неуросонографских налаза код превремено рођене деце”

истоветне.

У Крагујевцу, 17.10.2025. године,



потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Сузана Живојиновић,

дозвољавам

не дозвољавам

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

„Утицај суплементације омега-3 масним киселинама на редокс статус, серумску концентрацију интерлеукина-33 и дензитет неуросонографских налаза код превремено рођене деце”

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

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

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

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

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- ⑥ Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 17.10.2025. године,

Шубојиновић Сузана
потпис аутора

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