

Utjecaj kontinuirane infuzije inzulina na lučenje endotelina-1 tijekom operacije aortokoronarnog premoštenja u bolesnika sa šećernom bolešću

Unić, Daniel

Doctoral thesis / Disertacija

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:167339>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-14**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Daniel Unić

**Utjecaj kontinuirane infuzije
inzulina na lučenje endotelina-1
tijekom operacije aortokoronarnog
premoštenja u bolesnika sa
šećernom bolešću**

DISERTACIJA



Zagreb, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Daniel Unić

**Utjecaj kontinuirane infuzije
inzulina na lučenje endotelina-1
tijekom operacije aortokoronarnog
premoštenja u bolesnika sa
šećernom bolešću**

DISERTACIJA

Zagreb, 2017.

Rad je izrađen na Zavodu za kardijalnu i transplantacijsku kirurgiju, Klinici za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje i Kirurškom laboratoriju za biomedicinska istraživanja KB Dubrava.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Željko Sutlić, dr. med.

Zahvaljujem na pomoći liječnicima i medicinskim sestrama i tehničarima Zavoda za kardijalnu i transplantacijsku kirurgiju KB Dubrava.

Zahvaljujem svim kolegama kardijalnim anesteziolozima te posebno anesteziološkim tehničarima i perfuzionistima KB Dubrava.

Posebno zahvaljujem medicinskim sestrama i tehničarima Odjela kardiokirurške i vaskularne anestezije Klinike za anesteziologiju reanimatologiju i intenzivno liječenje na predanom i preciznom radu pri provođenju poslijeoperacijskih protokola istraživanja.

Veliko hvala prijateljima i suradnicima na nesebičnoj potpori u logističkoj organizaciji istraživanja.

Zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Željku Sutliću na podršci i savjetima tijekom istraživanja.

Na kraju, zahvaljujem svojoj obitelji na podršci, ohrabrenju i ljubavi pruženoj u lijepim i teškim trenucima.

POPIS KRATICA

NO – dušični oksid (eng. nitric-oxyde)

ET-1 – endotelin-1

ATP – adenozin-trifosfat

CFR – rezerva koronarnog protoka (eng. coronary flow reserve)

HbA1c – glikozilirani hemoglobin

HDL – lipoproteini visoke gustoće (eng. high density lipoprotein)

LDL - lipoproteini niske gustoće (eng. low density lipoprotein)

PPAR – receptori aktivirani proliferatorima peroksisoma

PCI – perkutana koronarna intervencija

CABG – aortokoronarno premoštenje (eng. coronary artery bypass grafting)

MACCE – veliki nepovoljni kardiovaskularni događaji (eng. major adverse cardiac or cerebrovascular events)

OR – omjer izgleda (eng. odds ratio)

EKC – ekstrakorporalna cirkulacija

LIMA – unutarnja grudna arterija (eng. left internal mammary artery)

SIRS – sistemski upalni odgovor (eng. Systemic Inflammatory Response Syndrome)

OPCAB – aortokoronarno premoštenje bez upotrebe ekstrakorporalne cirkulacije
(eng. off-pump coronary artery bypass grafting)

GUK – glukoza u krvi

JIL – jedinica intenzivnog liječenja

GIK – otopina glukoze, inzulina i kalija

ET_AR – endotelinski A receptori

ET_BR - endotelinski B receptori

BNP – moždani natriuretski peptid (eng. brain natriuretic peptide)

ROS – reaktivni spojevi kisika (eng. reactive oxygen species)

VSM – vena safena magna

BMI – indeks tjelesne mase (eng. body mass index)

MAPK – mitogen-aktivirana protein kinaza

CK – kreatin kinaza

CK-MB – MB izoenzim kreatin kinaze

SMK – slobodne masne kiseline

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 KORONARNA BOLEST SRCA.....	1
1.1.1 Patologija i patofiziologija koronarne bolesti srca.....	1
1.1.2 Koronarna bolest srca i šećerna bolest	3
1.1.3 Kirurško liječenje koronarne bolesti srca.....	9
1.1.4 Kontrola glikemije kod bolesnika podvrgnutih kirurškom liječenju koronarne bolesti srca i u jedinicama intenzivnog liječenja	11
1.2. SUSTAV ENDOTELINA	16
1.2.1 Biologija sustava endotelina.....	17
1.2.2 Sustav endotelina i bolesti kardiovaskularnog sustava.....	18
1.2.2.1 Arterijska hipertenzija	19
1.2.2.2 Srčano zatajenje	21
1.2.2.3 Plućna hipertenzija.....	22
1.2.2.4 Koronarna bolest srca	23
1.2.2.5. Endotelin u istraživanjima vezanim za operacije aortokoronarnog premoštenja	24
1.2.3. Endotelin i šećerna bolest	27
1.3. ENDOTELNA DISFUNKCIJA	29
1.3.1 Endotelna disfunkcija u šećernoj bolesti.....	32
1.3.2 Djelovanje izvantjelesnog krvotoka na funkciju endotela	36
2. HIPOTEZA.....	39
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	40
3.1. OPĆI CILJ	40
3.2. SPECIFIČNI CILJEVI	40
4. MATERIJALI I METODE	41
4.1. Ustroj istraživanja	41
4.2. Ispitanici	41
4.3. Veličina uzorka i randomizacija ispitanika.....	42
4.4. Operacijski zahvat	42
4.4.1. Anesteziološki protokol	42
4.4.2. Kirurški protokol	43
4.5. Kontrola glikemije	44
4.6. Uzorkovanje krvi.....	44
4.7. Definicije.....	46

4.8. Određivanje Endotelina-1	47
4.9. Statističke metode	47
5. REZULTATI	49
5.1 Prijeoperacijske karakteristike ispitanika.....	51
5.2 Intraoperacijski podaci.....	54
5.3 Analiza razina endotelina-1 u sistemske i koronarnoj cirkulaciji	55
5.4 Kontrola glikemije	59
5.5 Upalni odgovor	63
5.6 Ostale korelacije.....	65
5.7 Klinički ishodi.....	68
6. DISKUSIJA	71
7. ZAKLJUČAK	76
8. SAŽETAK	77
9. SUMMARY	78
10. LITERATURA	79
11. PRILOZI.....	99
12. ŽIVOTOPIS.....	109
13. PUBLIKACIJE AUTORA.....	111

1. UVOD

1.1 KORONARNA BOLEST SRCA

1.1.1 Patologija i patofiziologija koronarne bolesti srca

Koronarna bolest srca u svojoj biti predstavlja lokalnu manifestaciju ateroskleroze. Zahvaćene su epikardijalne krvne žile srca, dok su intramiokardijalni ogranci uglavnom pošteđeni većih promjena (1). Patološki, aterosklerotske promjene na koronarnim krvnim žilama su nespecifične i sastoje se od hiperplazije intime i nakupljanja lipida.

Navedene promjene započinju na razini endotela. Endotel ne predstavlja samo fizičku barijeru kontaktu krvi sa slojevima stijenke krvnih žila, nego je i mjesto prijenosa signala i brojnih biokemijskih reakcija koje sudjeluju u održavanju vaskularne homeostaze (2). Održavanje vaskularnog tonusa, omogućeno je održavanjem balansa između vazodilatatornih i vazokonstriktivnih molekula koje se luče iz endotela. U vazodilatatorne molekule koje se luče na razini endotela spadaju: dušični-oksidi (NO), prostaglandini, hiperpolarizirajući čimbenik podrijetlom iz endotela (EDHF) i C-tip natriuretskog peptida. Molekule s vazokonstriktivnim učinkom su endotelin-1 (ET-1) i tromboksan (3). Održavanjem homeostaze i modulacije vaskularnog tonusa, endotel izravno sudjeluje i u održavanju adekvatne perfuzije organa, kroz ravnotežu opskrbe i potreba tkiva za kisikom (4). Poremećaj homeostaze navedenih čimbenika naziva se endotelna disfunkcija. Kao takva, prethodi vidljivim morfološkim promjenama tipičnim za aterosklozu i smatra se ranim markerom razvoja ateroskleroze (5). Također, promjene homeostaze na razini endotela, pridonose stvaranju lokalnih lezija tipičnih za aterosklozu i njihovom kasnijem kliničkom utjecaju.

Endotelna disfunkcija dovodi, dakle, do aterogeneze. Lokalne posljedice endotelne disfunkcije očituju se kao smanjenje dostupnosti NO koje dovodi do lokalne vazokonstrikcije, sekrecije tkivnog čimbenika koji potiče trombogenezu, aktivacije trombocita i povećane propusnosti za lipoproteine. Razvoj bolesti od lokaliziranih promjena započetih endotelnom disfunkcijom do jasno formiranog arterosklerotskog plaka počinje migracijom monocita u subendotelni prostor i njihovom transformacijom u makrofage. Akumulacija apolipoproteina-B u subendotelni prostor potiče upalni odgovor. Slijedi proliferacija glatkih mišićnih stanica čime nastaje jezgra plaka koji se izbočuje prema intimi krvne žile. Kronični

upalni odgovor dovodi u konačnici do stanične smrti i razvoja kalcifikacija u plaku (1, 6). Poznati čimbenici rizika za razvoj ateroskleroze kao što su uznapredovala dob, obiteljsko naslijeđe, pušenje, arterijska hipertenzija, šećerna bolest, poremećaj metabolizma lipida, djeluju na različitim razinama ranije opisanog procesa.

Formiranje aterosklerotskog plaka koji stenozira lumen koronarne krvne žile, razina je na kojoj se događaju kliničke manifestacije koronarne bolesti u smislu pojave angine pectoris ili razvoja akutnog koronarnog sindroma. Suženje lumena koronarnih krvnih žila dovodi do smanjenja perfuzije miokarda. Posljedica je slabija opskrba miokarda kisikom i prijelaz s aerobnog u anaerobni metabolizam u kardiomiocitima. Produkti anaerobnog metabolizma kao i mehanička stimulacija aferentnih živčanih vlakana u koronarnim krvnim žilama i miokardu uzrokuju anginozne bolove. Jedan od glavnih posrednika u stimulaciji tih živčanih vlakana je adenzin koji nastaje kao produkt raspada adenzin-trifosfata (ATP) tijekom ishemije (7). Iako je angina pectoris tipičan simptom koronarne bolesti, valja imati na umu da 1-4% bolesnika sa značajnom koronarnom bolesti ne iskazuje tipične simptome nego ima tzv. "nijemu ishemiju" (8). Nijema ishemija označava objektivne dokaze ishemije miokarda, ali bez tipične angine pectoris ili simptoma koji su ekvivalent angine. Objektivni dokazi mogu uključivati pozitivnu ergometriju, ispade perfuzije verificirane nuklearno-medicinskim pretragama ili regionalne poremećaje kontraktilnosti miokarda na ultrazvučnom pregledu. Posebnu pozornost potrebno je posvetiti bolesnicima sa šećernom bolesti kod kojih sumnjamo na nijemu ishemiju jer kod njih indicencija može biti i do 20% (9). U podlozi se nalazi neuropatija autonomnog sustava kardiovaskularne regulacije koja za posljedice ima poremećaje regulacije srčanog ritma, poremećenu reaktivnost kardiovaskularnog sustava te srčanu denervaciju. Prevalencija je u DIAD studiji (eng. Detection of Ischemia in Asymptomatic Diabetics) bila oko 20% kod asimptomatskih bolesnika sa šećernom bolešću te se takvi bolesnici umjesto angine žale na nedostatak zraka, iscrpljenost, slabu toleranciju napora (10).

Povećane potrebe miokarda za kisikom rezultat su bržeg rada srca ili povećane kontraktilnosti srca. Stanja koja povećavaju afterload ili preload srca također dovode do povećane potrebe za opskrbom kisikom. Fiziološki odgovor na povećane potrebe miokarda za kisikom zadovoljava se povećanjem protoka kroz koronarne krvne žile. Ta se mogućnost povećanja koronarnog protoka u stanjima koja zahtijevaju povećanu opskrbu kisikom naziva rezervom koronarnog protoka (CFR, prema eng. coronary flow reserve) i pri zdravom stanju koronarnih krvnih žila je i od 4 do 6 puta veći od protoka u mirovanju. Navedeni je mehanizam izrazio

važan u dopremi kisika miokardu jer je ekstrakcija kisika iz krvi u miokardu vrlo visoka već u mirovanju i ne povećava se značajno s porastom zahtjeva. Rezerva koronarnog protoka ovisi o: otporu u koronarnim krvnim žilama i njihovim intramiokardijalnim ograncima, koji su zapravo pravi nosioci kapaciteta opskrbe miokarda krvlju, o otporu u intersticiju miokarda i o reološkim osobinama krvi.

Ishemija miokarda nastaje ukoliko postoji fiksno aterosklerotsko suženje magistralne (epikardijalne) krvne žile, pri čemu je već kod 50-postotnog suženja značajno smanjena CFR, a kod suženja od iznad 80% CFR gotovo i ne postoji te se simptomi angine mogu pojaviti i u mirovanju. Također, ishemija nastaje i zbog abnormalnih reakcija vazokonstrikcije i vazodilatacije u miokardijalnim arteriolama. Kod značajnog suženja epikardijalne koronarne arterije, intramiokardijalne arteriole su već maksimalno proširene i gubi se njihov doprinos regulaciji koronarnog protoka. Tada koronarni protok izravno ovisi o tlaku u segmentu koronarne arterije iza mjesta suženja. Smanjen kapacitet krvi za prijenos kisika, također dovodi do kardijalne ishemije i angine, što je vidljivo u stanjima kao što su teške anemije ili karboksihemoglobinemija.

1.1.2 Koronarna bolest srca i šećerna bolest

Rastuća prevalencija šećerne bolesti predstavlja sve veći socio-ekonomski problem. Projekcije govore da će na svjetskoj razini godine 2030., prevalencija biti oko 4.4% ili 366 milijuna ljudi (11). Pritom će jednako biti pogođene i razvijene i nerazvijene zemlje. Glavni porast broja oboljelih od šećerne bolesti očekuje se u Kini, Indiji i Sjedinjenim Američkim Državama (SAD). Pritom valja napomenuti da se očekuje veći porast oboljelih od šećerne bolesti tipa 2, koji već čini preko 90% svih slučajeva šećerne bolesti. Iako je prevalencija šećerne bolesti visoka sama po sebi, on predstavlja tek krajnju manifestaciju slijeda metaboličkih poremećaja koji mu prethode (tzv. "predijabetesa"), a koje karakterizira razvoj rezistencije na inzulin. Prijelazne faze u razvoju poremećaja regulacije glukoze predstavljaju poremećaji glukoze nakon perioda gladovanja, poremećaji tolerancije glukoze i centralna (abdominalna) pretilost (12). Prevalencija poremećaja glukoze nakon perioda gladovanja i poremećaja tolerancije glukoze je 8-12% (13), a pretilosti u razvijenim zemljama i preko 20%, pri čemu u je SAD-u oko 50% u odrasloj dobi (14). Posebno je zabrinjavajući trend porasta pretilosti u djece, što se kasnije reflektira na pretilost u odrasloj dobi (15).

Za razliku od 2-4% prevalencije u općoj populaciji, kod bolesnika sa šećernom bolešću je prevalencija koronarne bolesti i do 55% (16). Pritom je rizik za razvoj koronarne bolesti povećan kako u predijabetesu, pretilosti, metaboličkom sindromu, tako i u šećerna bolest tipa 1 i tipa 2 (17). Još je Framinghamska studija pokazala da oboljeli od šećerne bolesti oba spola imaju 3-4 puta povećan rizik smrtnosti od koronarne bolesti srca (18). Pritom se u šećernoj bolesti kod žena gubi protektivni učinak dokazan u premenopauzalnih žena koje nemaju šećernu bolest. Upravo suprotno, žene koje boluju od šećerne bolesti imaju veći rizik razvoja koronarne bolesti od muškaraca (19). Od ukupne smrtnosti kod bolesnika sa šećernom bolešću, kardiovaskularne bolesti odgovorne su za više od polovicu (20). Šećerna bolest i pretilost su neovisni čimbenici rizika i za razvoj akutnog infarkta miokarda (21). Također, šećerna bolest ovisna o inzulinu je kao neovisni čimbenik rizika ušao i u EuroSCORE 2, kojim se izračunava rizik smrtnosti nakon kardiokirurških operacija (22).

Goraya i suradnici proveli su istraživanje na preko 2000 obduciranih bolesnika starijih od 30 godina istražujući povezanost šećerne bolesti i ateroskleroze, poglavito koronarne bolesti. U njihovom istraživanju kod umrlih sa šećernom bolešću bilo je više zabilježenih nalaza infarkta miokarda, dilatacije srčanih šupljina, višezilne koronarne bolesti i stenoza visokog stupnja na koronarnim arterijama. Koronarna bolest bila je verificirana kod 49% umrlih sa šećernom bolešću i 33% umrlih bez šećerne bolesti. Ukupna proširenost ateroskleroze također je bila veća kod oboljelih od šećerne bolesti. Oni zaključuju da postoji "velika prevalencija subkliničke ateroskleroze kod umrlih i bez kliničkih manifestacija koronarne bolesti" (23). Klinički dojam "težine" koronarne bolesti kod oboljelih od šećerne bolesti u smislu veće proširenosti, više okluzija te više stenoza glavnog debla lijeve koronarne arterije potvrdilo je nekoliko istraživanja. Ledru i suradnici analizirali su angiografske nalaze 466 bolesnika referiranih za koronarografiju u njihovoj ustanovi. "Težinu" koronarne bolesti objektivizirali su i ocjenjivali kroz tri različite ljestvice ocjenjivanja. Ispitanici sa šećernom bolešću imali su veću proširenost bolesti, veću incidenciju svih stupnjeva koronarnih stenoza kao i dvostruko veću incidenciju koronarnih okluzija (24). Izravnom usporedbom po 50 koronarografiranih bolesnika sa i bez šećerne bolesti, Cariou i suradnici kod bolesnika sa šećernom bolešću klinički bilježe manje anginoznih tegoba te više ritmoloških poremećaja, a angiografski veći broj značajnih koronarnih stenoza kao i više slučajeva stenoze glavnog stabla lijeve koronarne arterije (25). Lošije kliničke ishode koronarne bolesti kod oboljelih od šećerne bolesti

Werner i suradnici pripisuju smanjenoj mogućnosti stvaranja kolateralne miokardijalne cirkulacije, a koju su dokazali angiografski (26).

Dodatno povišen rizik za kardiovaskularne bolesti, šećerna bolest, osim kroz povišenu prevalenciju tradicionalnih čimbenika rizika, ostvaruje i kroz specifične mehanizme koji uključuju: hiperglikemiju, inzulinsku rezistenciju, dislipidemiju, kongestivno zatajenje srca i bubrežno zatajenje (12). Iako epidemiološki podaci ne definiraju točne vrijednosti glikemije koje bi bile povezane sa dodatnim rizikom za razvoj kardiovaskularnih bolesti (17), nekoliko studija sugerira da sama povezanost postoji. U studiji UKPDS 35 (eng. United Kingdom Prospective Diabetic Study) autori su pokazali značajnu povezanost kronično povišene glikemije i razvoja kardiovaskularnih, kao i mikrovaskularnih komplikacija. Pokazali su također da smanjenje razine HbA1C od 1% donosi 14% smanjenje rizika od infarkta miokarda (27). Važnost kontrole glikemije posredno su u svojoj DIGAMI (eng. Diabetes mellitus glucose insulin infusion in acute myocardial infarction) pokazali Malmberg i suradnici koji su zabilježili relativno smanjenje rizika smrtnosti nakon godinu dana od akutnog infarkta miokarda od čak 29% kod bolesnika kod kojih je zabilježena bolja kontrola glikemije u prvih 24 sata (28).

Inzulinska rezistencija označava stanje smanjene osjetljivosti perifernih organa i tkiva. Sama po sebi ne uzrokuje pojavu šećerne bolesti, ukoliko je ne prati i drugi predisponirajući čimbenik: smanjena sekrecija inzulina. Sjedilački način života, manja potrošnja energije u odnosu na unos kalorija, mast i zasićene masne kiseline u hrani dovode do razvoja inzulinske rezistencije. Navedeni čimbenici dovode i do pretilosti koja je prisutna u značajnom broju kod oboljelih od šećerne bolesti tipa 2 (29). Metabolički sindrom karakteriziran je abdominalnom pretilošću, arterijskom hipertenzijom, hipertrigliceridemijom uz smanjene razine kolesterola visoke gustoće lipoproteina (HDL), te znakovima intolerancije glukoze (30). Abdominalna pretilost djeluje na razvoj hipertenzije, hiperlipidemije te inzulinske rezistencije mehanizmima kronične upale. Naime, napunjene masne stanice izlučuju adipokine i citokine i izazivaju kroničnu sistemsku upalnu reakciju, sistemsku endotelnu disfunkciju i oštećenje krvnih žila (31).

Lipidni profil karakterističan za šećernu bolest uključuje visoke razine triglicerida, normalne ili blago povišene vrijednosti kolesterola niske gustoće lipoproteina (LDL) te smanjenu koncentraciju HDL (16). Više kliničkih studija, kao i analiza subpopulacije sa šećernom bolešću u velikim studijama o efikasnosti smanjenja razine lipida, pokazalo je povoljne učinke regulacije lipidnog statusa na

rizik za razvoj koronarne bolesti srca. Collins i suradnici u HPS (eng. Heart Protection Study) pokazali su da je korištenje simvastatina za 22% smanjilo incidenciju akutnog koronarnog sindroma, moždanog udara ili revaskularizacije kod bolesnika sa šećernom bolešću. Još značajnije smanjenje zabilježeno je kod ispitanika koji pri uključanju u studiju nisu imali dijagnosticiranu arterijsku bolest (33%) i kod bolesnika kod kojih je razina LDL kolesterola bila niska (27%) (32). Studija ASPEN (eng. Atorvastatin study for prevention of coronary heart disease endpoints in non-insulin-dependent diabetes mellitus) u kojoj je uspoređivano djelovanje atorvastatina i placeba na kombinirani ishod manifestacija i liječenja koronarne bolesti kroz 4 godine, nije pokazala značajnu razliku. Unatoč 29% smanjenju razine LDL kolesterola, nije zabilježena značajna razlika u pojavi kombiniranog ishoda (13.7% u Atrovastatin grupi naspram 15% u placebo grupi). U zaključku studija ipak ne isključuje potrebu za terapiju statinima kod oboljelih od šećerne bolesti (33).

S obzirom na faze nastanka i čimbenike rizika šećerna bolest tipa 2 doima se preventabilnim stanjem. Istraživanja su identificirala dvije vrste intervencija koje su efikasne u primarnoj prevenciji šećerne bolesti tipa 2: promjena životnih navika i različiti farmakološki agensi. Promjena životnih navika prvenstveno se odnosi na smanjenje tjelesne težine kroz fizičku aktivnost i modifikaciju prehrane. U istraživanju Knowlera i suradnika uspoređivano je djelovanje promjene životnih navika, metformina i placeba na razvoj šećerne bolesti tipa 2 u populaciji pod rizikom. Najveće smanjenje incidencije šećerne bolesti tipa 2 kroz promatrane gotovo 3 godine, pokazala je promjena životnih navika (58%) dok je metformin incidenciju smanjio za 31% (34). Li i suradnici proučavali su djelovanje promjene životnih navika kod bolesnika sa inzulinskom rezistencijom i promjenama u sekreciji inzulina na razvoj šećerne bolesti tipa 2. U njihovoj studiji promjene životnih navika značajno su reducirale incidenciju razvoja šećerne bolesti tipa 2, poglavito u bolesnika s manjim razinama inzulinske rezistencije (35). Navedeno sugerira blagotvorni učinak promjena životnih navika u vrlo ranim fazama kod bolesnika pod rizikom za razvoj šećerne bolesti tipa 2.

Od farmakoloških agensa koji su istraživani u primarnoj prevenciji šećerne bolesti tipa 2 značajni učinci u smanjenju incidencije u odnosu na placebo zabilježeni su korištenjem akarboze i bezofibrata (36, 37). Inhibitori gama-receptora aktiviranih proliferatorima peroksisoma (PPAR) također značajno smanjuju incidenciju razvoja šećerne bolesti tipa 2. U studiji Knowlera i suradnika, troglitazon se pokazao boljim u prevenciji šećerne bolesti tipa 2 od promjene životnih navika,

metformina i placebo tijekom tri godine korištenja. S obzirom na potencijalnu hepatotoksičnost, lijek se prestao koristiti, ali se nastavilo s praćenjem bolesnika. Daljnim protokom vremena izgubio se preventivni učinak troglitazona koji je zabilježen tijekom korištenja lijeka (34). Od novijih lijekova valja spomenuti empagliflozin, inhibitor natrij-glukoza kotransportera 2, koji je u istraživanju Zinmana i suradnika unatoč tome što nije bilo razlike u incidenciji infarkta miokarda i moždanog udara, pokazao smanjenje relativnog rizika ukupne smrtnosti od 32%, kardiovaskularne smrtnosti od 38% i hospitalizacije radi popuštanja srca za 35% u odnosu na placebo (38). Druga skupina novijih lijekova su analozi glukagonu-sličnog peptida 1: liraglutid i semaglutid. Marso i suradnici u svom su istraživanju pokazali smanjenu ukupnu smrtnost i smrtnost od kardiovaskularnih uzroka u odnosu na placebo, iako su incidencije infarkta miokarda, moždanog udara i hospitalizacije radi popuštanja srca bile neznajno niže kod bolesnika tretiranih liraglutidom (39).

Nakon što su blagotvorni učinci ACE inhibitora i ARB-a na bolesnike sa šećernom bolešću zabilježeni u studijama kojima učinak na šećernu bolest nije bio primarni ishod, slični su rezultati zabilježeni u NAVIGATOR studiji gdje je valsartan uz promjene životnih navika, za 14% smanjio incidenciju šećerne bolesti tipa 2 u odnosu na nateglinid u promatranom razdoblju od 5 godina. U istom razdoblju nije smanjio incidenciju kardiovaskularnih ishoda (40). Uz kontrolu glikemije, u sekundarnoj prevenciji koronarne bolesti ko šećerne bolesti tipa 2 važnu ulogu imaju i antiagregacijski lijekovi, kontrola krvnog tlaka i statini. Iako su analize subpopulacije bolesnika sa šećernom bolešću iz studije CAPRIE (eng. Clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischemic events) pokazali da klopidogetrel smanjuje relativni rizik mortaliteta, infarkta miokarda i moždanog udara (41), u smjernicama za tretman šećerne bolesti aspirin je još uvijek preporučen kao lijek prvog izbora (6).

Pitanje optimalne revaskularizacijske strategije kod bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2 predmet je istraživanja. S obzirom na proširenost PCI kao revaskularizacijske strategije i ona postaje privlačna opcija te se u velikim randomiziranim studijama uspoređuje s kirurškom revaskularizacijom. Većina studija fokusirana je na oboljele od šećerne bolesti sa stabilnom koronarnom bolesti, te ne uključuje bolesnike s akutnim infarktom miokarda.

Efikasnost primarne PCI u bolesnika sa stabilnom koronarnom bolesti ispitivana je u COURAGE studiji (eng. Clinical outcomes utilizing revascularization and aggressive drug evaluation). Na populaciji od preko 2200 bolesnika ispitivali su

efikasnost PCI uz optimalnu medikamentoznu terapiju (OMT) naspram samo optimalne medikamentozne terapije. Promatrani ishodi bili su smrtnost i nefatalni infarkt miokarda tijekom praćenja do 7 godina. Nije bilo značajne razlike u kumulativnom primarnom ishodu smrtnosti nakon 5 godina (PCI – 19% naspram OMT 18.5%; $p=0.62$), akutnom infarktu miokarda (PCI - 13.2% naspram OMT - 12.3%; $p=0.33$). Oko jedne trećine bolesnika u studiji imali su šećernu bolest, ali se analizom te subpopulacije također nije našlo značajne razlike među grupama (42). BARI 2D studija randomizirala je preko 2300 ispitanika sa šećernom bolešću prema tretmanu stabilne koronarne bolesti u skupinu revaskularizacije (dalje podijeljene u podskupine PCI ili CABG) i OMT. Svaka od podskupina dodatno je bila podijeljena u ovisnosti o vrsti terapije za šećernu bolest na tvori koje senzitiviziraju na inzulin i one koje dostavljaju inzulin. Nakon 5 godina preživljenje među grupama nije se značajno razlikovalo (revaskularizacija - 88.3% naspram OMT - 87.8%; $p=0.97$). Kompozitni ishod koji je uključivao smrtnost, infarkt miokarda i moždani udar također se nije razlikovao između grupa (revaskularizacija - 22.8% naspram OMT - 24.1%; $p=0.70$). Oba se ishoda nisu razlikovala ni prema strategiji terapije za šećernu bolest. Dodatnom analizom bolesnika u različitim grupama revaskularizacije, u PCI grupi nisu pronađene značajne razlike u ishodima u odnosu na OMT, dok je u CABG grupi bilo značajno manje događaja iz kompozitnog kardiovaskularnog ishoda nego uz OMT (22.4% naspram 30.5%; $p=0.01$) (43).

Izravnu usporedbu strategija revaskularizacije kod oboljelih od šećerne bolesti u FREEDOM studiji (eng. Future Revascularization Evaluation in Patients with Diabetes Mellitus: Optimal Management of Multivessel Disease) učinio je Faroukh sa suradnicima. Randomizirano je 1900 ispitanika sa višezilnom koronarnom bolesti u skupinu revaskulariziranu sa PCI i skupinu CABG prema kompozitnom ishodu koji je uključivao smrt, ne-fatalni infarkt miokarda i moždani udar. Nakon 5 godina u primarni ishod zabilježen je značajno rjeđe u CABG grupi nego PCI grupi (18.9% naspram 26.6%; $p=0.005$). Navedena prednost proizašla je iz manje učestalosti smrtnosti i infarkta miokarda u CABG grupi, dok je učestalost moždanog udara bila veća u CABG grupi (44). Analizom ishoda revaskularizacije subpopulacije ispitanika sa šećernom bolešću iz SYNTAX studije (eng. Synergy Between Percutaneous Coronary Intervention With TAXUS and Cardiac Surgery) nije bilo značajne razlike u kompozitnom ishodu smrtnosti, infarkta ili moždanog udara nakon 5 godina ovisno o tipu revaskularizacije (PCI – 23.9% naspram CABG - 19.2%; $p=0.26$). Međutim, u CABG grupi je bilo značajno niže glavnih nepovoljnih kardiovaskularnih događaja (MACCE eng. major adverse cardiac or cerebrovascular events) (CABG - 29.0%

naspram PCI - 46.5%; $p < 0.001$) kao i potrebe za ponovnom revaskularizacijom (CABG - 14.6% vs PCI – 35.3%; $p < 0.001$). Zanimljivo, uspoređujući rezultate PCI ovisno o šećernoj bolesti, također se bilježi razlika u MACCE (ispitanici sa šećernom bolešću – 46.5% naspram ispitanika bez šećerne bolesti – 34.1%) i potrebom za ponovnom revaskularizacijom (ispitanici sa šećernom bolešću – 35.3% naspram ispitanika bez šećerne bolesti – 22.8%) (45). Metaanaliza 6 randomiziranih studija koje su uspoređivale strategije revaskualrizacije (PCI ili CABG) kod bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2 koji su liječeni inzulinom, pokazala je značajno manju smrtnost (OR: 0.59, 95 % CI 0.42–0.85; $p = 0.004$) manje MACCE (OR: 0.51, 95 % CI 0.27–0.99; $p = 0.03$) i ponovne revaskularizacije (OR 0.34, 95 % CI 0.24–0.49; $P < 0.001$), sve u CABG grupi (46).

Rezultati navedenih velikih randomiziranih studija sugeriraju da je CABG preferirana strategija revaskularizacije kod bolesnika sa šećernom bolešću jer pruža bolje dugoročno preživljenje s manje komplikacija nakon indeksne revaskularizacije. Kirurška revaskularizacija navodi se kao preferirana metoda i u europskim smjernicama za revaskularizaciju miokarda iz 2014. godine (47).

1.1.3 Kirurško liječenje koronarne bolesti srca

Razumijevanje patofiziologije koronarne bolesti, prve je kirurške napore usmjerilo na pokušaje da se stvori mreža kolateralne cirkulacije između ishemičnog miokarda i dobro vaskulariziranih struktura koje su dovedene u kontakt sa srcem. U svom je radu Beck opisao korištenje omentuma i režnja pektoralnog mišića (48). Isti je autor opisao i eksperimentalnu tehniku izazivanja upalne reakcije sa stvaranjem granulacija na površini srca, sa ciljem da se kolaterale stvore između bogato vaskulariziranog upalnog tkiva i koronarnih arterija (49). Pokušaji poboljšanja koronarne perfuzije zabilježeni su i povećanjem tlaka u koronarnom sinusom bilo izazivanjem suženja ili anastomoziranjem sistemske arterije ili vene sa aorte sa koronarnim sinusom (50, 51). Koncept razvijanja kolaterala eksperimentalno je proučavao i Vineberg te je, nakon što je dokazao da se stvaraju kolaterale u miokardu, u kliničku primjenu uveo metodu implantacije unutarnje grudne arterije (LIMA, eng. Left internal mammary artery) izravno u miokard (52). Definiranje aterosklerotskog plaka kao patološkog supstrata kod bolesnika sa anginom pectoris dovelo je i do korištenja otvorene koronarne endarterektomije po principima primjenjivanim u vaskularnoj kirurgiji u liječenju aterosklerotskih suženja većih krvnih žila (53). U svrhu zatvaranja defekta na koronarnoj arteriji nakon endarterektomije, korištene su zakrpe od dijelova vene safene ili autolognog perikarda (54).

Novu paradigmu u kirurškom liječenju koronarne bolesti donijelo je Sonesovo otkriće selektivne koronarne angiografije kojom je omogućena izravna vizualizacija lokacije aterosklerotskih plakova i ukupna proširenost bolesti (55). Endarterektomiju je zamijenio koncept izravne revaskularizacije koronarne arterije iza mjesta aterosklerotskog plaka korištenjem LIMA (56) ili grafta vene safene magne (57). Navedena metoda dovela je do izrazite ekspanzije kirurškog liječenja koronarne bolesti te je aortokoronarno premoštenje od tada među najizvođenijim operacijama.

Zlatni standard pri izvođenju operacija aortokoronarnog premoštenja predstavlja operacija uz korištenje ekstrakorporalne cirkulacije (EKC) i kardioplegijskog aresta. Kardioplegija omogućava kreiranje anastomoza na srcu koje miruje u dijasoličkom arestu. Dodatna zaštita miokarda može se ostvariti i korištenjem lokalne ili sistemske hipotermije. Korištenje graftova vene safene magne dugo je također predstavljalo zlatni standard. U širu uporabu LIMA graft je ušao nakon što je dokazana superiornija prohodnost u odnosu na venske graftove (58). Nakon inicijalnog korištenja 1970-tih, i napuštanja radijalne arterije radi čestog spazma, u širu upotrebu radijalna arterija ponovo ulazi 1990-tih godina nakon što su otkriveni prohodni graftovi iz inicijalne serije bolesnika (59).

S obzirom na zabilježene negativne učinke EKC-a na ishemiju-reperfuziju srca, plućnu funkciju, bubrežnu funkciju kao i višu incidenciju sistemskog upalnog odgovora (SIRS eng. Systemic Inflammatory Response Syndrome), te činjenicu da su koronarne arterije dostupne na površini srca, razvijena je i alternativna metoda revaskularizacije na kucajućem srcu, bez uporabe EKC-a, tzv. OPCAB (eng. off-pump coronary artery bypass grafting). Usporedbe dviju metoda ne daju jednoznačne odgovore o tome koja je metoda bolja. Metaanalize pokazuju da OPCAB smanjuje indicenciju poslijeoperacijske fibrilacije atrijske, potrebe za inotropima, transfuzije (60, 61). Randomizirane studije pokazuju uglavnom komparabilne rane ishode (62), ali su veće multicentrične randomizirane studije pokazale manju incidenciju potpune revaskularizacije, kao i slabiju prohodnost graftova već nakon tri mjeseca do godinu dana od revaskularizacije (63, 64).

Kardiokirurška revaskularizacija miokarda prestala je biti ekskluzivnom metodom revaskularizacije miokarda nakon otkrića perkutane transluminalne koronarne angioplastike (PTCA) (65) i koronarnih stentova (66). Od tada se kontinuirano bilježi pad broja kardiokirurških revaskularizacija i povećava broj revaskularizacija od strane invazivnih kardiologa. Usporedba efikasnosti invazivno kardiološke i kardiokirurške revaskularizacije miokarda predmet je mnogih

istraživanja. Sa zabilježenim porastom bolesnika sa šećernom bolešću, osobito tipa 2 (67), povećava se i broj oboljelih od šećerne bolesti koji se podvrgavaju revaskularizaciji miokarda. Rezultati randomiziranih studija, pokazuju da su srednjoročni (do 5 godina) ishodi kirurške revaskularizacije kod bolesnika sa stabilnom višezilnom koronarnom bolesti značajno bolji od invazivno kardiološke revaskularizacije u mortalitetu, kardiovaskularnom mortalitetu, ponovnoj pojavi infarkta miokarda kao i ponovnoj potrebi za revaskularizacijom (44, 45).

1.1.4 Kontrola glikemije kod bolesnika podvrgnutih kirurškom liječenju koronarne bolesti srca i u jedinicama intenzivnog liječenja

Kod hospitaliziranih bolesnika hiperglikemija može predstavljati porast GUK-a u bolesnika sa od ranije poznatom šećernom bolešću, ali može biti i prva manifestacija ranije nedijagnosticirane šećerne bolesti. Također, može se pojaviti i kao poseban oblik takozvane stres-hiperglikemije u akutno oboljelih ili ozlijeđenih pacijenata. Karakteristika tog stanja je da hiperglikemija prestaje nakon izlječenja akutne bolesti ili stanja (68).

Akutna bolest ili ozljeda izaziva rezistenciju na inzulin, intoleranciju glukoze i hiperglikemiju. Pritom su najteži slučajevi stres-hiperglikemije, u kojima su zabilježene i najveće cirkulirajuće razine vežućeg proteina inzulinu sličnog čimbenika rasta (IGFBP-1) (eng. Insulin-like growth factor binding protein), bili slučajevi pod najvećim rizikom smrtnog ishoda (69). Naime, unatoč hiperglikemiji i posljedično povećanom lučenju inzulina, u akutnim bolestima ili ozljedama, povećana je i proizvodnja glukoze u jetri. Jetrena rezistencija na inzulin karakterizirana je upravo povećanim razinama IGFBP-1 u cirkulaciji (70). Glukoneogenezu u jetri u stanjima akutne bolesti ili ozljeda potiču povišene razine kortizola, glukagona, citokina i hormona rasta. Određena djelovanja navedenih hormona suprotna su djelovanju inzulina što rezultira lipolizom i proteolizom čime se stvaraju supstrati za glukoneogenezu. U akutnim bolestima i ozljedama, niti korištenje glukoze u organima i tkivima nije na normalnoj razini. S obzirom da se radi o bolesnicima koji su radi bolesti vezani uz krevet, izrazito se smanjuje potreba za korištenjem glukoze u mišićima, koja je inače stimulirana fizičkom aktivnošću. S obzirom na razvoj inzulinske rezistencije i iskorištavanja glukoze stimuliranog inzulinom, smanjuje se aktivnost enzima glikogen-sintetaze i korištenje glukoze u srčanom mišiću, skeletnim mišićima i masnom tkivu (71).

Hiperglikemija predstavlja neovisni čimbenik rizika za mortalitet nakon kardiokirurške revaskularizacije miokarda (72). Kod bolesnika koji se podvrgavaju

zahvatu uz korištenje EKC-a, potrebe za inzulinom iznose oko 0.8 – 1.2 jedinice po gramu (U/g) unesene glukoze. To predstavlja gotovo dvostruko od potrebe pretilih bolesnika, bolesnika s jetrenim bolestima, ili onih na steroidnoj terapiji (0.4-0.8 U/g), a gotovo četverostruko od potrebe bolesnika s normalnom težinom (0.25 – 0.4 U/g) (73). Knapik i sur. u svom su radu pokazali da korištenje EKC-a povisuje perioperativne vrijednosti GUK-a kao i potrošnju inzulina više nego operacije bez EKC-a (74). Anderson i suradnici također su zabilježili 30% veću potrošnju inzulina kod bolesnika operiranih uz EKC, kao i više doze GUK-a nakon obroka u istoj grupi bolesnika sve do 3 dana nakon operacije. Do trećeg poslijeoperacijskog dana bilježe i povećane markere katabolizma (75). Također, smatra se da je razina hiperglikemije, puno značajniji čimbenik lošeg ishoda nego primijenjena doza inzulina. Dapače, veća prosječna doza inzulina potrebna bolesnicima, bila je povezana s većom bolničkom smrtnosti (76). Odnos više potrebne doze inzulina i smrtnosti sugerira ili samo nepovoljno djelovanje hiperinzulinemije ili stupanj težine bolesti i inzulinske rezistencije (69). U bolesnika sa šećernom bolešću koji se podvrgavaju kardiokirurškoj revaskularizaciji miokarda, dva čimbenika nepovoljno utječu na metabolizam i iskoristivost kisika: sama šećerna bolest te ishemija. Naime, inače poželjna i sa stajališta metabolizma kisika potrebna, proizvodnja adenozin trifosfata (ATP) glikolizom je kod oboljelih od šećerne bolesti smanjena radi blokade glikogenolize i paradoksalno povišene lipolize. Smanjenje biološke dostupnosti inzulina, dovodi do porasta serumskih razina slobodnih masnih kiselina (SMK) kao i njihovog korištenja kao energetskog supstrata u miokardu, što dalje onemogućava korištenje glukoze u istu svrhu. Povećana serumska razina glukoze pokazatelj je stupnja staničnog poremećaja metabolizma glukoze (77, 78). U miokardu oboljelih od šećerne bolesti, s blokiranom glikolizom, paradoksalno raste razina oksidacije SMK te se glavna metaboličkih potreba počne pokrivati iz tog izvora. S obzirom na ograničeni oksidativni kapacitet SMK one se ne uspijevaju razgraditi do kraja te se njihovi djelomično razgrađeni metaboliti nakupljaju u miokardu te uzrokuju edem intersticija, smanjuju kontraktilnost te povećavaju učestalost aritmija. ATP proizveden glikolizom i pohranjen u staničnom citosolu djeluje stabilizirajuće na staničnu membranu. Loša regulacija razine glukoze održava navedene mehanizme miokardijane opskrbe energijom čak i nakon uspješne revaskularizacije i eliminacije ishemije, upravo radi manjka ATP-a proizvedenog glikolizom (79, 80). Sve navedeno upućuje na potrebu za dobrom regulacijom glikemije u perioperacijskom i poslijeoperacijskom periodu.

Pozitivne učinke intenzivne kontrole glikemije (ciljane vrijednosti GUK 4.4 – 6.1 mmol/L) u jedinici intenzivnog liječenja (JIL), u randomiziranom su istraživanju pokazali van der Berghe i sur. Kod populacije bolesnika u jedinici intenzivne skrbi, od kojih su više od 60% bili bolesnici nakon kardiokirurških operacija, intenzivna kontrola glikemije korištenjem kontinuirane infuzije kratkodjelujućeg inzulina (KII), značajno je smanjila smrtnost, infekcije, akutno bubrežno zatajenje i potrebu za dijalizom, potrebu za transfuzijom, pojavu polineuropatije u kritičnoj bolesti kao i dužinu mehaničke ventilacije (81).

Nakon što su u ranijem radu dokazali povoljne učinke KII kao metode kontrole glikemije na smanjenje učestalosti dubokih infekcija sternalne rane kod bolesnika sa šećernom bolešću podvrgnutih kirurškoj revaskularizaciji miokarda (82), Furnary i sur. dokazali su i učinak KII na smanjenje smrtnosti bolesnika koji se podvrgavaju kardiokirurškoj revaskularizaciji miokarda. Zabilježena je statistički značajno manja smrtnost u odnosu na kohortu bolesnika kod kojih je kao kontrola glikemije korištena metoda supkutanih bolusa inzulina (2.5% naspram 5.3%; $p < 0.001$). Također, zabilježena je i značajno bolja regulacija glikemije (83). Valja napomenuti da je u navedenom radu prikazano dugogodišnje iskustvo u kojem je u nekoliko navrata i mijenjan ciljani raspon glikemije koji je smatran adekvatnim. Bez obzira na ciljani raspon, još uvijek je u grupi bolesnika kod kojih je korištena KII smrtnost bila manja, a posebno oštar pad ukupne smrtnosti, i pogotovo kardijalnih uzroka smrti, koji su u njihovoj kohorti bolesnika bili dominantni, zabilježen je ako su prosječne vrijednosti GUK-a bile < 11.1 mmol/L, sa najmanjom stopom smrtnosti kod vrijednosti < 10 mmol/L.

U perioperacijskom periodu često se koristi infuzija otopine glukoze, inzulina i kalija (GIK). Njeno korištenje smanjuje incidenciju poslijeoperacijske fibrilacije atrijske, smanjuje potrebu za inotropima, smanjuje incidenciju perioperacijskog infarkta miokarda (84, 85), a u eksperimentalnim uvjetima i smanjuje oštećenje miokarda prilikom revaskularizacije (86). Lazar i suradnici u randomiziranoj su studiji koristili modificiranu (prema količini inzulina) GIK otopinu za održavanje razine GUK-a 6.9-11.1 mmol/L. Terapijska se intervencija sastojala u titiranju doze otopine po satu, a samo za vrijednosti GUK-a iznad 15 mmol/L se dodavao i bolus kratkodjelujućeg inzulina intravenski. U kontrolnoj je grupi glikemija kontrolirana bolusima kratkodjelujućeg inzulina supkutano te je ciljna razina GUK-a bila ispod 13.9 mmol/L. Bolesnici kod kojih je glikemija kontrolirana modificiranom GIK otopinom imali su značajno nižu incidenciju fibrilacije atrijske, kraći boravak u bolnici, bolje

preživljenje do 2 godine nakon operacije te manje epizoda ponovne ishemije miokarda kao i infekcija rane (87).

Unatoč radovima koji pokazuju prednosti intenzivne kontrole glikemije, u meta-analizi iz 2008. Wiener i suradnici nisu uspjeli dokazati prednost u ukupnoj smrtnosti u kirurškim ili internističkim JIL. Također, intenzivna kontrola glikemije nije djelovala povoljno niti na potrebu za dijalizom. Zabrinjavajući rezultat predstavljala je incidencija hipoglikemije od 13.7% (88). Čak i u istraživanjima u kojima je intenzivna kontrola glikemije bila upravljana kompleksnim računalnim algoritmima incidencija hipoglikemije iznosila je 3.2% (89).

Međunarodna randomizirana studija NICE-SUGAR (od eng. Normoglycemia in Intensive Care Evaluation–Survival Using Glucose Algorithm Regulation) ispitivala je učinak intenzivne (GUK 4.5-6.0 mmol/L) i umjerene (GUK <10 mmol/L) kontrole glikemije na 90-dnevno preživljenje kod bolesnika u JIL. Na uzorku od preko 6000 bolesnika zabilježena je veća smrtnost (27.5% naspram 24.9%; OR 1.14; $p=0.02$) kod bolesnika u grupi intenzivne kontrole glikemije. Također, epizode hipoglikemije bile su značajno učestalije kod intenzivne kontrole glikemije (6.8% naspram 0.5%, $p<0.001$). U dužini boravka u JIL, dužini mehaničke ventilacije kao ni u potrebi za nadomjesnom bubrežnom terapijom nije bilo razlike između grupa (90).

Gandhi i suradnici ispitivali su optimalnu razinu glikemije kod kardiokirurških bolesnika koje su podijelili u grupe intenzivne (GUK 4.4-5.6 mmol/L) i umjerene (GUK<11.1 mmol/L) kontrole glikemije. Intenzivna kontrola glikemije nije smanjila perioperativnu smrtnost ili ukupni morbiditet. Dapače, u grupi intenzivne kontrole glikemije, zabilježeno je više slučajeva smrti i moždanog udara (91).

Superiornost umjerene nad intenzivnom kontrolom glikemije pokazali su u svom radu i Bhamidipati i suradnici. U kohorti od preko 4500 bolesnika primjenjivane su tri strategije kontrole glikemije: intenzivna (GUK<7.0 mmol/L), umjerena (GUK 7.1-9.9 mmol/L) i liberalna (GUK>10 mmol/L). Grupa bolesnika kod kojih se primjenjivala umjerena strategija kontrole glikemija imala je značajno niži mortalitet (2.0% naspram 2.9% u intenzivnoj i 3.4% u liberalnoj grupi; $p=0.02$), kao i stopu komplikacija (11.1% naspram 19.4% u intenzivnoj i 14.2% u liberalnoj grupi; $p<0.001$) (92).

Navedene studije i klinička praksa sugeriraju da je umjerena kontrola glikemije razumna i sigurna klinička opcija. Smjernice za revaskularizaciju miokarda American College of Cardiology/American Heart Association (ACC/AHA) u verziji iz 2004.

preporučaju održavanje GUK-a kod kardiokirurških bolesnika ispod 11.1. mmol/L (93) da bi u smjernicama za praksu Society of Thoracic Surgeons (STS) iz 2009. preporučena razina bila smanjena na <10 mmol/L (94). Izabrani dijelovi preporuka iz smjernica za praksu STS prikazani su u tablici 1. Valja napomenuti i da su 2014. godine donesene i smjernice za zbrinjavanje hiperglikemije u odraslih hospitaliziranih bolesnika od strane radne skupne više hrvatskih stručnih društava, koje također preporučuju razine GUK <10 mmol/L (95).

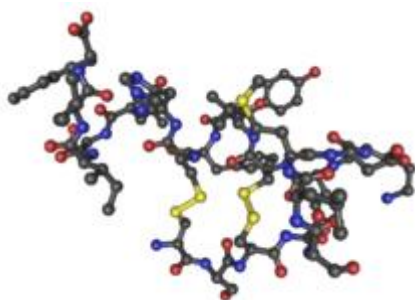
Tablica 1. Izabrani dijelovi iz “Smjernica za praksu: Održavanje razine glukoze u krvi tijekom kardiokirurških operacija u odrasloj dobi”

III. Kontrola glikemije u bolesnika bez šećerne bolesti tijekom kardiokirurških operacija	
	Intraoperativna kontrola glikemije kontinuiranim intravenskim inzulinom nije potrebna u bolesnika bez šećerne bolesti, ukoliko se razine GUK-a održavaju do 10 mmol/L
IV. Tretman perioperacijske hiperglikemije korištenjem protokola s inzulinom	
Preporuka: Klasa I	
	Kontrola glikemije postiže se bolje kontinuiranom infuzijom inzulina nego povremenim supkutanim injekcijama inzulina ili povremenim intravenskim bolusima inzulina (Razina dokaza: A)
	Svi bolesnici sa šećernom bolešću koji se podvrgavaju kardiokirurškim zahvatima trebaju dobijati infuziju inzulina u operacijskoj dvorani i najmanje 24 sata nakon operacije u svrhu održavanja GUK-a ≤ 10 mmol/L (Razina dokaza: B)
VI. Intraoperacijska kontrola glikemije. Preporuka: Klasa I	
	GUK >10 mmol/L kod bolesnika bez šećerne bolesti zabilježen samo tijekom EKC-a, može se inicijalno tretirati s jednom ili više intermitentnih doza inzulina dok god se GUK uspijeva održavati ≤ 10 mmol/L. U bolesnika kod kojih je GUK trajno >10 mmol/L nakon EKC-a treba uvesti kontinuiranu infuziju inzulina i konzultirati endokrinologa (Razina dokaza: B)
	Ukoliko je intravenska infuzija inzulina uvedena prije operacije, potrebno ju je nastaviti u intraoperacijskom i ranom poslijeoperacijskom periodu prema protokolima institucije u svrhu održavanja GUK-a ≤ 10 mmol/L (Razina dokaza: C)
VII. Kontrola glikemije u jedinici intenzivnog liječenja. Preporuka: Klasa I	
	Svi bolesnici sa stalno povišenom razinom GUK-a (>10 mmol/L) trebaju dobivati intravensku infuziju inzulina u svrhu održavanja GUK-a ≤ 10 mmol/L tijekom cijelog boravka u JIL (Razina dokaza: A)
	Bolesnici koji u JIL-u borave ≥ 3 dana radi produžene ventilacije, potrebe za inotropima, intra-aortnom balon pumpom ili mehaničkom potporom cirkulaciji, antiaritmjskim lijekovima, dijalizom ili trajnom veno-venskom hemofiltracijom, trebali bi dobivati kontinuiranu infuziju inzulina da se GUK održava ≤ 8.3 mmol/L, bez obzira na to imaju li šećernu bolest (Razina dokaza: B)
	Prije nego se ukine kontinuirana infuzija inzulina, bolesnici bi trebali biti prevedeni na terapiju supkutanim bolusima inzulina prema institucionalnoj shemi (Razina dokaza: B)

1.2 SUSTAV ENDOTELINA

1.2.1 *Biologija sustava endotelina*

Endoteline je 1988. godine otkrio Yanagisawa proučavajući kulture endotela goveđe aorte i plućne arterije (96). Daljnja istraživanja utvrdila su da se radi o cijeloj porodici peptidnih spojeva koji se sastoje od 21 aminokiseline, a koji su nazvani endotelin 1 (ET-1), endotelin 2 (ET-2) i endotelin 3 (ET-3), i koji su različiti kako strukturno, tako i po farmakološkoj aktivnosti. Gen za ET-1 (EDN1) nalazi se na 6. kromosomu. Najpotentniji vazokonstriktivni učinak ima endotelin 1 (ET-1), čija je molekula prikazana na slici 1. Radi toga će se u daljnjem tekstu govoriti i razmatrati učinci ET-1.



Slika 1. Struktura molekule ET-1

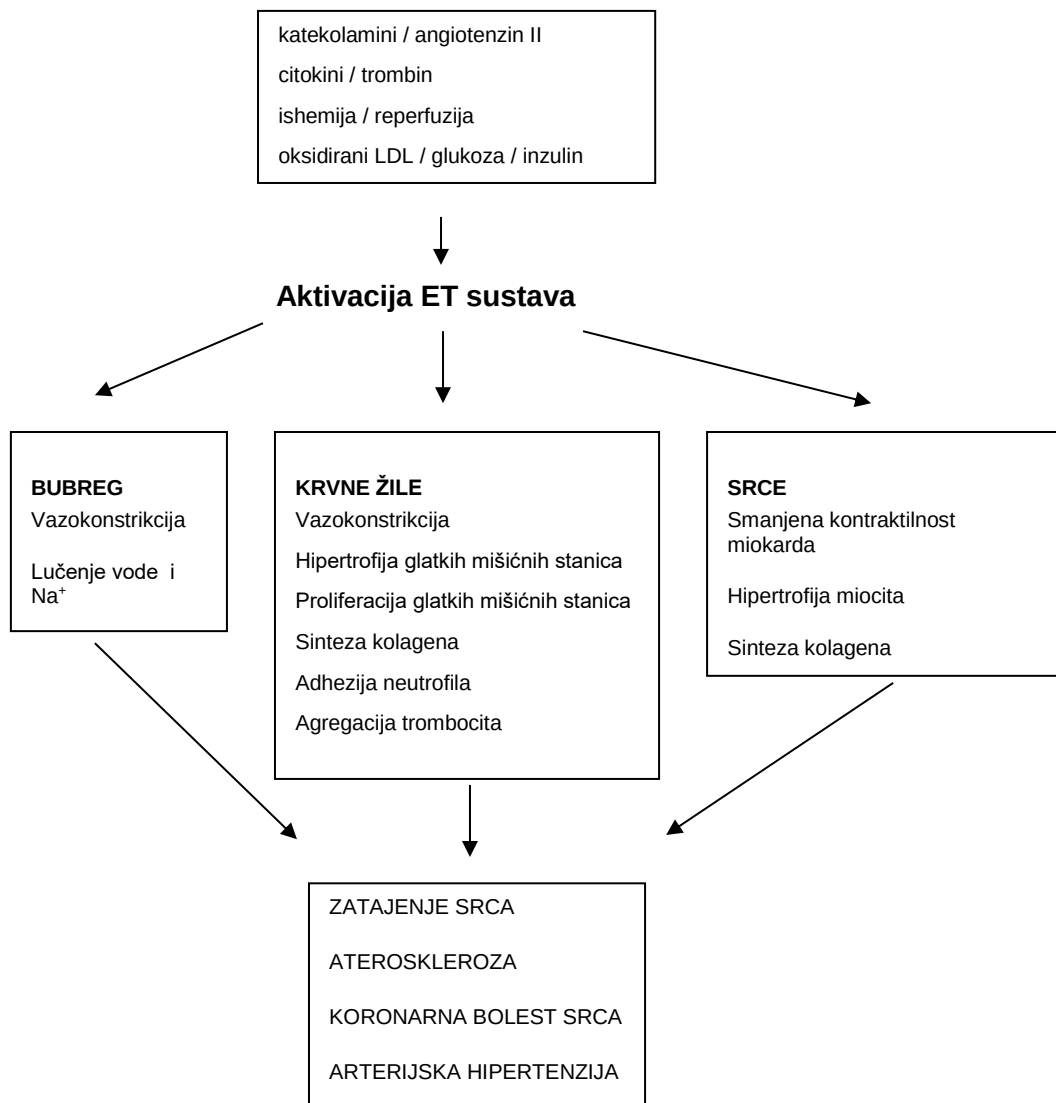
Sinteza ET-1 odvija se u različitim stanicama i tkivima. Prvenstveno mjesto sinteze je endotel, ali se sintetizira i u leukocitima, makrofazima, kardiomiocitima te glatkim mišićnim stanicama u krvnim žilama i dišnim putovima (97). Sintezu ET-1 potiču različiti fizikalni i lokalni biokemijski čimbenici kao što su: pulzatilno širenje arterija, vrijednost pH (98, 99), katekolamini, citokini, vaskularni endotelni čimbenik rasta, angiotenzin II, vazopresin, trombin (100-103). Oksidirani lipoproteini niske gustoće (LDL) također potiču lučenje ET-1 (104), kao i glukoza i inzulin (105). Intramiokardijalne razine ET-1 povećane su u stanju hipoksije kao i pri fizičkoj aktivnosti (106, 107). Endotelin-1 nije pohranjen u endotelnim stanicama nego se nakon djelovanja stimulusa sintetizira i luči unutar nekoliko minuta, a nakon što se potakne transkripcija ET-1 mRNA (108). Potom je ET-1 transportiran iz endotelnih stanica prema glatkim mišićnim stanicama krvnih žila (109). Autokrine i parakrine učinke ostvaruju preko dvije skupine receptora. Receptori smješteni na glatkim mišićnim stanicama nazivaju se endotelinski A receptori (ET_AR) (110). Oni su odgovorni za ostvarenje vazokonstriktivnih i proliferativnih učinaka endotelina.

Pritom, najveći afinitet pokazuju za ET-1, a manji za ET-2 i ET-3 (111). Endotelinski B receptori (ET_BR) nalaze se uglavnom na endotelnim stanicama, ali je manji udio receptora zabilježen i na glatkim mišićnim stanicama (110). Receptori na glatkim mišićnim stanicama posreduju u vazokonstrikciji. Receptori na endotelnim stanicama, posreduju u vazodilataciji. Navedeni se učinak in vivo događa autokrinim djelovanjem izlučenog ET-1 koji preko ET_BR potiče lučenje u najvećoj mjeri dušičnog oksida (NO), ali i prostaciklina (112). Drugi važan biološki učinak koji se odvija posredovanjem ET_BR je eliminacija ET-1 iz plazme. Navedeni se proces odvija vezanjem ET-1 na ET_BR te internalizacijom kompleksa u stanice i daljnjom degradacijom (113). Navedeni mehanizmi djelovanja ET_BR važni su u održavanju homeostaze u kardiovaskularnom sustavu.

Eliminacija ET-1 iz organizma odvija se u dvije faze. Prva, kraća faza, traje oko 4 minute, a slijedi je duža faza od oko sat vremena (114). Glavni putevi eliminacije ET-1 kod ljudi su pluća, bubrezi i jetra (115-117). Navedeni su putevi eliminacije potvrđeni i vizualnim prikazom u studiji Johnstroma i sur. Koristeći obilježeni ET-1, snimanje pozitronskom emisijskom tomografijom (PET) utvrdilo je da se ET-1 eliminira iz cirkulacije u roku od 2 minute, a glavna mjesta eliminacija bili su pluća, jetra i bubrezi (predominantno korteks i glomeruli) (118).

1.2.2 Sustav endotelina i bolesti kardiovaskularnog sustava

S obzirom na endotelno podrijetlo, kao i jake vazokonstriktivne učinke koje ostvaruje, patofiziološko djelovanje ET-1 proučavano je u brojnim bolestima kardiovaskularnog sustava. Izravni ili posredni učinak ET-1 kao medijatora proučavan je u sistemske, plućne i koronarne cirkulaciji. Kako bolesti kardiovaskularnog sustava predstavljaju vodeći uzrok smrtnosti u razvijenom svijetu, i proučavanje sustava endotelina i njegove uloge u patofiziologiji najčešćih kardiovaskularnih bolesti kao što su arterijska hipertenzija, koronarna bolest srca (i akutni infarkt miokarda kao njezinu posljedicu) i srčano zatajenje, posebno je vrijedno. Skupni učinci djelovanja sustava endotelina na kardiovaskularni sustav prikazani su na slici 2.



Slika 2. Mehanizmi aktivacije, djelovanja i učinci sustava ET-a na kardiovaskularni sustav

1.2.2.1 Arterijska hipertenzija

Vazokonstriktivni učinak ET-1 je potaknuo istraživanja vezano uz njegovu ulogu u razvoju hipertenzije. Inicijalna istraživanja na životinjskim modelima nisu konzistentno pokazivala utjecaj razine ET-1 na hipertenziju. Značajniji učinak bilježi u svojim istraživanjima Schiffrin sa suradnicima i to u životinjskim modelima hipertenzije vezanima uz sol (eng. Salt-dependent hypertension). Povišene razine

ET-1 u plazmi i ekspresiju u vaskularnom endotelu zabilježili su u DOCA-salt (eng. deoxycorticosterone acetat-salt) i Dahl-salt hipertenzivnih miševa. Kod spontano hipertenzivnih miševa razine ET-1 nisu bile povišene (119). Već nedugo nakon otkrića endotelina, Saito i suradnici bilježe povišene vrijednosti ET-1 u plazmi ispitanika s esencijalnom hipertenzijom (120), a Haak i suradnici i u plazmi bolesnika sa šećernom bolešću sa hipertenzijom. Pri tome je razina ET-1 pozitivno korelirala s trajanjem bolesti u šećernoj bolesti tipa 1, a negativno u šećernoj bolesti tipa 2 (121). Cardillo i suradnici u ispitivanju protoka krvi kroz podlaktične arterije kod hipertenzivnih bolesnika pokazali su značajno povećanje protoka nakon blokade ET_AR i ET_BR što sugerira ulogu ET-1 u održavanju vaskularnog tonusa kod hipertenzivnih ispitanika (122). U istraživanju Schiffrina i suradnika zabilježena je povišena ekspresija gena za ET-1 kod bolesnika s netretiranom te umjerenom do teškom hipertenzijom u odnosu na normotenzivne bolesnike ili bolesnike s blagom hipertenzijom iz uzoraka malih arterija odgovornih za vaskularnu rezistenciju. Njihova je hipoteza da navedene promjene mogu biti patofiziološka podloga povišenog krvnog tlaka i vaskularne hipertrofije (123).

U istraživanjima vezanim za hipertenziju u stanjima inzulinske rezistencije prevladavaju rezultati koji sugeriraju povezanost razina ET-1 i njihovog vazokonstriktivnog učinka kao reakcije na inzulin. Juan i suradnici na animalnom su modelu dokazali da hiperinzulinemija postupno dovodi do inzulinske rezistencije i hipertenzije, a kod navedenih je životinja povišena bila i razina ET-1 (124). Cardillo i suradnici ispitivali su djelovanje blokatora endotelinskih receptora na protok u podlaktičnim arterijama kod bolesnika sa šećernom bolešću tipa 2 i hipertenzijom, pri čemu je kombinirana blokada ET_AR i ET_BR povećala protok, što sugerira porast aktivnosti ET-1 u bolesnika sa šećernom bolešću i hipertenzijom (125). Sličnu studiju, ali na uzorku ispitanika koji su dokazano imali inzulinsku rezistenciju kao i pojačanu osjetljivost na inzulin, proveli su Shemyakin i suradnici. I u njihovoj je studiji kombinirana blokada ET_AR i ET_BR izazvala vazodilataciju ovisnu o endotelu kod ispitanika s inzulinskom rezistencijom što sugerira ulogu ET-1 u funkcioniranju endotela u inzulinskoj rezistenciji (126).

Kliničkih ispitivanja djelovanja antagonista ET receptora na arterijsku hipertenziju nema mnogo. Krum i suradnici zabilježili su značajno smanjenje krvnog tlaka korištenjem Bosentana. Učinak je bio usporediv s učinkom enalapрила u terapijskoj dozi. Pritom, nije došlo do aktivacije simpatikusa niti sustava renina-angiotenzina-aldosterona (127). Randomizirana studija korištenja selektivnog ET_AR receptora darusentana u odnosu na placebo u smanjenju sistoličkog i dijastoličkog

tlaka, pokazala je njegovu učinkovitost u svim ispitivanim dozama. Kao glavne nuspojave navodi se značajno češći slučajevi edema radi zadržavanja tekućine u grupi ispitanika tretiranih darusentanom (27% naspram 14% u placebo grupi) te autori preporučaju terapiju kombinirati s diuretskom (128).

1.2.2.2 Srčano zatajenje

Razvoj zatajenja srca povezan je s aktivacijom neurohumoralnih mehanizama koji dovode do lučenja katekoalamina, citokina i angiotenzina II. Svi navedeni spojevi potiču aktivaciju endotelinskog sustava. Wei i suradnici istraživali su razine endotelina u plazmi bolesnika s kongestivnim zatajenjem srca te utvrdili povišene vrijednosti prvenstveno big-ET1 kao prekursora ET-1. Pritom je razina u plazmi pozitivno korelirala s funkcionalnim statusom i promjenama u hemodinamskom statusu (129). Kinugawa i sur. analizirali su stotinu pacijenata s zatajenjem srca te utvrdili značajno povišene vrijednosti ET-1 kod pacijenata u višim funkcionalnim razredima zatajenja srca. Multivarijantna analiza pokazala je neovisnu značajnu relaciju između razine pokazatelja razine zatajenja srca: BNP (moždani natriuretski peptid, eng – brain natriuretic peptide) te vršne potrošnje kisika i razina ET-1 u promatranoj skupini pacijenata (130). Pieske i suradnici pozitivno inotropno djelovanje ET-1 u zdravom miokardu tumače pojačanim odgovorom miofibrila na Ca^{2+} posredovanim ET_A receptorima. U miokardu kod dilatativne kardiomiopatije taj je učinak smanjen unatoč povišenim razinama ET-1 i povećanoj ekspresiji ET_A receptora, što je protumačeno slabijim prijenosom signala na post-receptorskoj razini (131). Zolk i suradnici zabilježili su povećanu lokalnu aktivaciju endotelinskog sustava, s povećanjem koncentracije ET-1 do 2.5 puta u odnosu na srca ispitanika bez zatajenja. Pritom se povećanje događalo na račun smanjene eliminacije ET-1 (132).

S obzirom na zaključke istraživanja da je u bolesnika s kroničnim zatajenjem srca većina djelovanja ET-1 vezana uz ekspresiju i osjetljivost receptora, ispitivanjima djelovanja blokatora tih receptora, dokazano je akutno i kronično poboljšanje hemodinamskih parametara (133, 134). U istraživanju utjecaja kronične terapije bosentanom u bolesnika sa kroničnim zatajenjem srca, pokazao se trend prema smanjenju morbiditeta i mortaliteta. Ipak studija je prekinuta ranije radi povećane incidencije povišenih transaminaza, a dugoročni rezultati nisu potvrdili inicijalne te bosentan nije imao učinka na kliničke parametre niti prirodni tijek bolesti (135, 136). Proučavajući akutne učinke tezosentana kod bolesnika sa akutnim zatajenjem srca, zabilježeno je unutar 6 sati od početka terapije značajno povećanje

indeksiranog minutnog volumena, smanjenje okluzivnog tlaka u plućnoj arteriji, smanjenje razine BNP kao i kliničko poboljšanje kod bolesnika koji su lijek primali intravenski (137). Pozitivne učinke na inače izraženije ET_AR receptore postiže mehanička potpora cirkulaciji. Ugradnja potpornog uređaja za rad ventrikla (VAD eng. Ventricular assist device) normalizira ekspresiju ET_AR receptora u srcu bolesnika s kroničnim srčanim zatajenjem (138).

ET-1 kod bolesnika sa zatajenjem srca djeluje trojako: 1) djeluje negativno na kontraktilnu funkciju; 2) povećava sistemsku vaskularnu rezistenciju i 3) svojim mitogenim djelovanjem može dovesti do hipertrofije srca. Svi navedeni učinci imaju izrazito nepovoljno djelovanje u stanju poput zatajenja srca. Tretman se bazira na dodavanju antagonista ET receptora uz klasičnu terapiju za zatajenje srca.

1.2.2.3 Plućna hipertenzija

Kao i u drugim dijelovima krvožilnog sustava, u plućnoj cirkulaciji endotel čini unutarnji sloj krvne žile koji je u dodiru s krvlju. Karakteristika endotelnog sloja je da izlučuje vazoaktivne molekule koje su u međudjelovanju s elementima krvi i glatkim mišićnim stanicama iz stijenke krvne žile. U održanju vaskularnog tonusa u plućnoj vaskulaturi ključnu ulogu imaju vazodilatatori NO i prostaciklin, a od vazokonstriktora ET-1. Kod ispitanika s plućnom hipertenzijom, smanjeno je izlučivanje vazodilatatornih elemenata (NO i prostaciklina) (139, 140). Razine ET-1 povišene su u ispitanika s plućnom hipertenzijom, bilo primarnom ili onom uzrokovanom zatajenjem srca. Pritom nije sasvim jasno predstavljaju li te povišene razine ET-1 u tkivu pluća uzrok ili posljedicu plućne hipertenzije (141). Imunohistokemijsko ispitivanje otkrilo je ET-1 predominantno u endotelnim stanicama plućnih arterija koje su imale i histološke promjene slojeva stijenke u smislu zadebljanja medije i fibroze intime. Pritom je razina navedenih histoloških promjena stijenke žila korelirala s razinom ET-1 (142). Zbog velike površine plućne vaskulature i uz regularnu ekspresiju ET_BR receptora koji djeluju u eliminaciji ET-1, u plućima se, uz veliku proizvodnju, odvija i do 50% ukupne eliminacije ET-1 iz cirkulacije.

Upravo je kombinacija produkcije i eliminacije te djelovanje na ET-1 sustav posredovano receptorima, identificirana kao potencijalni cilj terapije kroz blokatore djelovanja receptora. Dok je djelovanje ET-1 ostvareno preko ET_AR receptora uniformno u smislu izazivanja vazokonstrikcije, učinak posredan ET_BR receptorima ovisi o njihovoj lokalizaciji. Dvije glavne vrste lijekova koji se koriste kao blokatori endotelinskih receptora su blokatori ET_AR te kombinirani ET_AR/ET_BR blokatori.

Selektivni ET_AR blokatori ostavljaju ET_BR receptore na glatkim mišićnim stanicama intaktnima te se preko njih ostvaruje vazokonstriktivni / proliferativni učinak. Kombinirani blokatori ET_AR/ET_BR receptora blokiraju pak i endotelne ET_BR preko kojih se ostvaruje vazodilatacija preko lučenja NO i prostaciklina (143). Trenutno su u kliničkoj uporabi dva blokatora ET-receptora: bosentan i imbrisentan. Bosentan je kombinirani blokator ET-receptora s većim afinitetom za ET_AR receptore. Prvi je blokator ET-receptora koji je ušao u kliničku uporabu. U studiji na bolesnicima s primarnom idiopatskom plućnom hipertenzijom i plućnom hipertenzijom vezanom uz bolesti veziva, terapija bosentanom dovela je do poboljšanja rezultata 6-minutnog testa hodanja, indeksa dispneje i funkcionalnog stadija (144).

1.2.2.4 Koronarna bolest srca

Endotelin-1 ima ranije opisanu ulogu u razvoju ateroskleroze i formaciji aterosklerotskog plaka kao patološkog supstrata i u koronarnoj bolesti kao lokaliziranoj formi ateroskleroze na arterijama srca. Imunohistokemijskim istraživanjem Ihling i suradnici zabilježili su najveću imunoreaktivnost ET-1 u područjima najizraženijih koronarnih plakova. Najviše aktivnosti zabilježeno je u makrofazima i miofibroblastima u blizini nekrotičnih područja blizu mjesta koja su uz područja krvarenja u plaku. Također, ET-1 mRNA bilježe u makrofazima što ET-1 povezuje s nestabilnim plakovima s izraženom kroničnom upalnom komponentom. Njihov je zaključak da u stabilnim aterosklerotskim plakovima ET-1 ima ulogu regulatora endotelne funkcije čime povoljno djeluje na stabilizaciju plaka. Kod nestabilnih plakova uloga ET-1 može biti i negativna, jer dovodi do vazokonstrikcije nakon rupture plaka (145). Kinlay i suradnici dokazali su ulogu ET-1 u vazoregulaciji na mjestu aterosklerotskih plakova u koronarnim arterijama. U njihovom je istraživanju, nakon infuzije blokatora ET_AR receptora, zabilježena 21% veća dilatacija na mjestu aterosklerotskog plaka u odnosu na zdrave žile (146). Povišene razine endotelina u plazmi prisutne su kod bolesnika sa stabilnom koronarnom bolesti pri čemu pozitivno koreliraju sa stupnjem stenoze koronarne arterije, a najviše su kod bolesnika kod kojih postoji i okluzija neke od koronarnih arterija (147). Također, povećane razine zabilježene su i kod bolesnika s nestabilnom anginom pectoris (148). Kod kod bolesnika sa šećernom bolešću tipa 2, sa stabilnom i nestabilnom anginom pectoris i nakon preboljelog infarkta miokarda, razine ET-1 u plazmi nisu se razlikovale u odnosu na ispitanike bez šećerne bolesti. U kontrolnoj skupini bolesnika bez koronarne bolesti, razine ET-1 u plazmi bile su značajno više kod bolesnika sa šećernom bolešću (149).

Razine ET-1 povišene su i kod bolesnika u akutnom infarktu miokarda. Stewart i suradnici zabilježili su porast ET-1 unutar 6 sati od početka bolova. U bolesnika s nekomplikiranim infarktom, razina ET-1 naglo je i pala na bazalne razine unutar 24 sata. Kod bolesnika s infarktom koji se komplicirao hemodinamskom nestabilnošću, razina ET-1 rasla je po istoj dinamici kao i kod nekomplikiranih bolesnika, ali je razina ostala povišena i do 72 sata nakon početka bolova te je bila povezana sa sniženjem funkcije lijeve klijetke (149).

Invazivno-kardiološka revaskularizacija (PCI), kako u stabilnoj koronarnoj bolesti tako i u akutnom koronarnom sindromu, u dijelu u kojem se balonom pod visokim tlakom širi mjesto stenozе / okluzije, proizvodi lokalno oštećenja endotela. Navedeno je zbivanje bilo predmetom istraživanja vezano za lokalno djelovanje ET-1 Vainsteina i suradnika. Oni su zabilježili povišene vrijednosti ET-1 u plazmi bolesnika koji su podvrgavani elektivnoj PCI. Njihov je zaključak da je do povišenih razina dovelo upravo oštećenje endotela na mjestu intervencije. Promatrali su i povezanost razine ET-1 s rezultatima intervencije nakon 6 mjeseci. Posebno je promatrana pojava restenozе unutar ili oko potpornice, a do koje je moglo doći radi lokalno proliferativnog učinka ET-1. Nakon 6 mjeseci utvrdili su razine ET-1 u plazmi koje su bile slične bazalnima, ali korelacija između restenozе potpornice i razine ET-1 nije utvrđena (150). Shirai i suradnici proveli su slično istraživanje te detektirali povišene razine ET-1 na mjestu restenozе nakon PCI. Oni zaključuju da ET-1 potiče lokalnu proliferaciju glatkih mišićnih stanica neointime, te uz lokalni vazokonstiktivni učinak pridonosi restenozu potpornice (151).

1.2.2.5. Endotelin u istraživanjima vezanim za operacije aortokoronarnog

premoštenja

Sustav endotelina istraživani je i vezano za operacije aortokoronarnog premoštenja. Sistemski upalni odgovor s lučenjem citokina, ishemija/reperfuzija i aktivacija leukocita, neke su od posljedica korištenja EKC-a koje istodobno dokazano potiču aktivaciju sustava endotelina. Istraživanja vezana za operacije aortokoronarnog premoštenja koncipirana su kao istraživanja fiziologije lučenja i eliminacije ET-1 u različitim odjeljcima cirkulacije u ovisnosti o korištenju EKC-a uz određene kliničke korelacije (korištenje inotropa, trajanje mehaničke ventilacije, dužina boravka u JIL-u). Također, određena su istraživanja razmatrala i utjecaj ET-1 na funkciju graftova nakon aortokoronarnog premoštenja.

Zajednička karakteristika rezultata studija koje su ispitivale lučenje ET-1 tijekom uporabe EKC-a je porast razine ET-1 u sistemskoj cirkulaciji. Zabilježena je varijabilnost navedenog porasta od 23% do 200% (152-154). Također, istraživanja lučenja ET-1 u ovisnosti o korištenju EKC-a tijekom aortokoronarnog premoštenja, pokazuju značajno više razine ET-1 kod bolesnika operiranih uz EKC, u odnosu na operacije bez uporabe EKC-a (154, 155). U navedenim istraživanjima, kao izvor povišenih razina ET-1 navode se povišena produkcija ET-1 u plućima (156), koronarnoj cirkulaciji (153) ili krvožilju i "organima distalno od uzlazne aorte" (157).

Pluća su jedno od značajnih mjesta i proizvodnje i eliminacije ET-1. U istraživanjima u operacijama aortokoronarnog premoštenja, nisu dobiveni jednoznačni rezultati glede razine ET-1 u plućnoj cirkulaciji. Dorman i suradnici navode povišenje razine ET-1 u plućnoj cirkulaciji za 80% nakon uporabe EKC-a pri čemu razina ostaje povišena i do 24 sata nakon operacije (153). Istu dinamiku ET-1 u plućnoj cirkulaciji zabilježili smo i kod bolesnika operiranih uz EKC u vlastitom istraživanju (155). Mathieu i suradnici, u svom istraživanju nisu zabilježili značajan porast razine ET-1 u plućnoj cirkulaciji niti u grupi bolesnika operiranih uz EKC niti u grupi operiranih bez EKC-a. U sistemskoj cirkulaciji zabilježili su porast razine ET-1 kod bolesnika operiranih uz EKC. U istom istraživanju mjereno je i kapacitet vezanja ET-1 za receptore u plućima koji nije bio promijenjen uslijed korištenja EKC-a. Njihov je zaključak da je za povećane sistemske razine ET-1 bila odgovorna povećana produkcija u plućima (156).

S obzirom na podlogu koronarne bolesti, ishemiju/reperfuziju, dokumentirano lučenje ET-1 iz miocita kao i lokalno autokrino i parakrino djelovanje, posebno je istraživano lučenje ET-1 iz miokarda tijekom aortokoronarnog premoštenja. Najjednostavniji način predstavlja analiza venske krvi uzorkovane iz koronarnog sinusa. U našem vlastitom istraživanju, razine ET-1 u koronarnom sinusu kod bolesnika operiranih uz EKC, bile su značajno više od bazalnih kao i od razina izmjerenih kod bolesnika operiranih bez EKC-a (155). Dorman i suradnici zabilježili su negativan gradijent ET-1 (razliku razina u sistemskoj i koronarnoj cirkulaciji) prije uporabe EKC-a, što je sugeriralo miokardijalno vezanje ET-1, da bi nakon EKC-a gradijent postao pozitivan, što su objasnili povećanom proizvodnjom ET-1 u miokardu (153). Miokardijalno lučenje ET-1 procjenjivano je i analizom miokardijalnog mikrodijalizata. Multani i suradnici bilježe tako 6 puta višu bazalnu razinu ET-1 u mikrodijalizatu nego u plazmi, a nakon EKC-a porast razine ET-1 u mikrodijalizatu je bio 105%, a u plazmi 23% (152). Ipak ni rezultati mjerenja razina ET-1 nisu konzistentni u svim istraživanjima. Hasdai i suradnici bilježe pad razine

ET-1 u uzorcima iz koronarnog sinusa (157), a Mair i suradnici samo nesignifikantan porast razine ET-1 nakon EKC-a, pri čemu razine ET-1 u koronarnom sinusu nisu bile više od sistemskih (158). Sharma i suradnici mjerili su razine ET-1 u uzorcima iz koronarnog sinusa bolesnika sa šećernom bolešću tipa 2 tijekom revaskularizacije uz EKC. Zabilježili su značajno više razine nakon kardioplegijskog aresta nego kod ispitanika bez šećerne bolesti (159). Slične rezultate na istoj populaciji dobili su i Verma i suradnici, uz dodatnu analizu mikrovaskulature iz uzoraka tkiva lijevog atrija u kojima su pokazali da mikrovaskulatura bolesnika sa šećernom bolešću reagira na ishemiju / reperfuziju pojačanom vazokonstrikcijom posredovanom ET-1 te smanjenom vazodilatacijom posredovanom NO. Navedeni se učinak u njihovom istraživanju smanjio nakon primjene selektivnog blokatora ET_AR receptora BQ-123 (159).

U vlastitom prethodnom istraživanju nismo zabilježili značajnih razlika u kliničkom ishodu, iako je razina ET-1 u koronarnom sinusu odmah nakon EKC-a bila u korelaciji s razinom troponina 24 sata nakon operacije (155). Dorman i suradnici pronašli su povezanost između razina ET-1 i dužine boravka u JIL-u. Bolesnici s višim razinama ET-1 češće su boravili u JIL-u duže od 28 sati. Također, razina ET-1 šest sati nakon EKC-a bila je izravno povezana s potrebom za inotropnim lijekovima (153).

Cerrato i suradnici istraživali su djelovanje ET-1 na unutarnju grudnu arteriju (IMA) (eng. internal mammary artery) i venu safenu magnu (VSM), dvije žile koje se najčešće koriste za izvođenje aortokoronarnog premoštenja. Prema njihovim rezultatima, ET-1 djelovanjem dominantno preko svojih ET_AR receptora povećava produkciju superoksida (O₂⁻) u VSM, a još više u IMA. Superoksid predstavlja korak u proizvodnji reaktivnih spojeva kisika (ROS, eng. reactive oxygen species), čiji suvišak dovodi do smanjene biodostupnosti NO i posljedično do jačeg vazokonstriktivnog i proinflamatornog učinka ET-1. Mehaničko djelovanje ET-1 na kontraktilnost IMA već je ranije proučavao i He sa suradnicima, te je također zaključio da se vazokonstriktivni učinak ostvarivao dominantno putem ET_AR receptora (160). Dashwood sa suradnicima istraživao je ulogu ET-1 u endotelnom oštećenju prilikom prepariranja VSM, a koje se smatra okidačem kasnijih promjena u stijenci vene koje u konačnici mogu dovesti do smanjenja dugoročne prohodnosti kod VSM upotrijebljenih u aortokoronarnom premoštenju. Oni su dokazali da se ET-1 i ET_AR receptori nalaze u subintimalnim područjima stijenke VSM na kojima je kirurška trauma prekomjernom distenzijom tijekom prepariranja izazvala oštećenje

endotela. Na istim je mjestima zabilježena i proliferacija stanica endotela, dok ET_BR receptori nisu pronađeni (161).

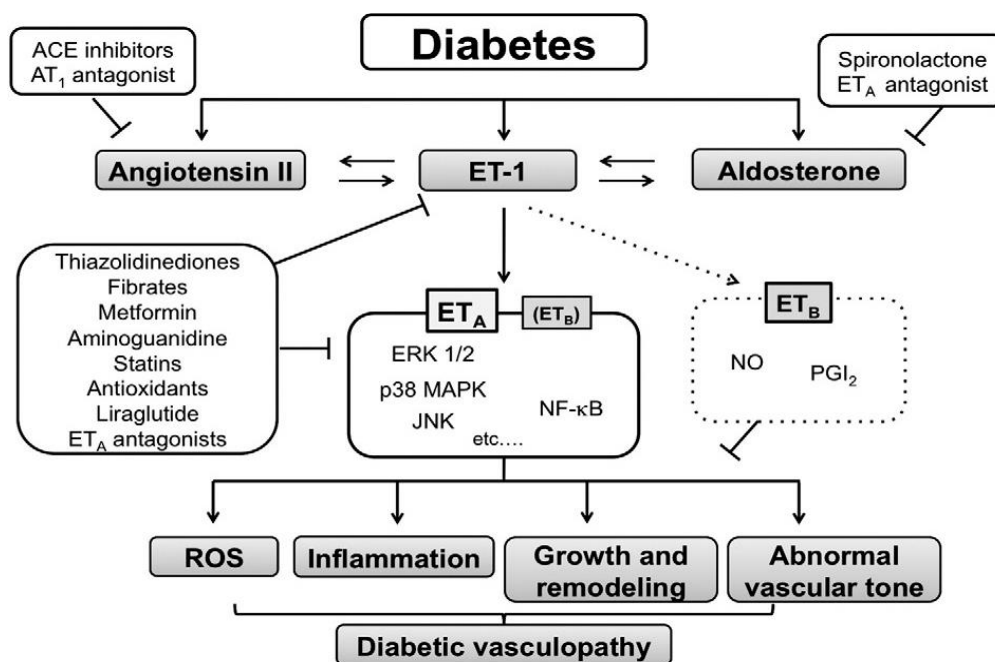
1.2.3. Endotelin i šećerna bolest

Povišene vrijednosti ET-1 u plazmi zabilježene su kod bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1 i tipa 2. Schneider i suradnici zabilježili su razine ET-1 značajno više od onih u zdravih ispitanika. Također, ispitali su odnos razina ET-1 s regulacijom glikemije, razinom krvnog tlaka te pojavom komplikacija šećerne bolesti. Kod zdravih ispitanika razina ET-1 korelirala je sa dobi i sistoličkim vrijednostima krvnog tlaka. Kod bolesnika sa šećernom bolešću, nije dokazana povezanost razina ET-1 sa dobi, razvojem komplikacija, a povezanost sa kontrolom glikemije bila je slaba. Također istraživali su i razine ET-1 kod bolesnika sa šećernom bolešću i hipertenzijom te pronašli značajno niže razine ukoliko su bili na terapiji ACE – inhibitorima (162). Slično istraživanje proveli su Ak i suradnici te zabilježili više razine ET-1 u plazmi kod ispitanika sa šećernom bolesti tipa 2 u usporedbi sa zdravim kontrolama. Među ispitanicima sa šećernom bolešću, razine ET-1 bile su više kod onih koji imaju bar jednu mikrovaskularnu komplikaciju nego kod ispitanika sa nekomplikiranom bolesti. Također, razine ET-1 bile su više kod ispitanika sa hipertenzijom. Kod ispitanika kod kojih bolesti traje duže od 10 godina razine ET-1 bile su više nego kod onih kod kojih traje kraće. Razine ET-1 korelirale su dobro sa mikroangiopatijom, hipertenzijom dužim trajanjem bolesti i obiteljskom anamnezom šećerne bolesti. Između dobi, spola, modaliteta terapije, razine HbA1c, BMI i pušenja te razine ET-1 nije bilo značajne korelacije (163).

Endotelin-1 povezan je značajno s razvojem makro- i mikroangiopatije kod koje predstavljaju podlogu za razvoj komplikacija šećerne bolesti. Osim već spomenutih povišenih razina ET-1 u plazmi bolesnika, još je dokazanih promjena vezanih uz endotelinski sustav koje djeluju na razvoj komplikacija šećerne bolesti. U vaskulaturi bolesnika je promijenjena i ekspresija ET_AR i ET_BR receptora (164). Razumijevanje ukupne patologije komplikacija šećerne bolesti, kao i uloge sustava endotelina te nove terapije koje bi djelovale na sustav endotelina kako na razini endotelinih stanica, tako i na razini glatkih mišićnih stanica, mogle bi usporiti razvoj komplikacija kod šećerne bolesti.

Trenutne terapije usmjerene na regulaciju razine glukoze, regulaciju hipertenzije i hiperlipidemije, također ostvaruju posredne učinke i na djelovanje endotelinskog sustava. Metformin, lijek iz skupine bigvanida, jedan je od najpropisivanijih lijekova pacijentima sa šećernom bolešću tipa 2. U istraživanju

Sachidanandama i suradnika na Goto-Kakizaki (GK) štakorima (modelu za šećernu bolest tipa 2), pokazalo se da regulacija glikemije metforminom smanjuje koncentraciju ET-1 u plazmi i smanjuje ekspresiju ETAR receptora u arteriji mezenterici. Također smanjivala je omjer medije i lumena krvnih žila, mišićni tonus i sintezu kolagena. Iz navedenog su zaključili da metformin ima blagotvorne učinke na smanjenje posljedica djelovanja ET-1 na razvoj vaskularnih komplikacija šećerne bolesti (165). Tiazolidinedioni (glitazoni) također se koriste u liječenju šećerne bolesti tipa 2. Navedena skupina lijekova aktivira γ receptor aktiviran proliferatorom peroksisoma (PPAR γ) i uz druge fiziološke učinke, djeluje i na vaskularnu funkciju (166). Potenza i suradnici utvrdili su da tretman rosiglitazonom kod spontano hipertenzivnih štakora s endotelnom disfunkcijom i rezistencijom na inzulin dovodi do smanjenja tlaka, razina ET-1 u plazmi, razine inzulina u plazmi i inzulinske rezistencije (167). Terapija pioglitazonom u istraživanju Matsumota i suradnika, također je djelovala povoljno na funkciju endotela smanjenjem oksidativnog stresa. Oni su zabilježili povećanu aktivnost superoksid-dismutaze, smanjenu aktivnost NADP(H) oksidaze te smanjenu razinu ET-1 (168). Mehanizmi djelovanja inhibitora renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava kao i statina na sustav endotelina opisani su u ranijim poglavljima. Grafički prikaz mehanizama djelovanja terapija za šećernu bolest na endotelinski sustav vidljiv je na slici 3.



Slika 3. Prikaz mehanizama djelovanja terapija za šećernu bolest kojima moduliraju endotelni sustav i smanjuju razvoj vaskulopatije kod šećerne bolesti (prema Matsumotu i sur.) (169)

ACE: angiotenzin konvertirajući enzim; AT1: angiotenzin II tip 1 receptor; ERK: kinaza reguliran izvanstaničnim signalom; JNK: c-Jun N-terminalna kinaza; MAPK: mitogen-aktivirana protein kinaza; NF-κB: čimbenik-kapa B iz jezgre; PGI₂: prostaciklin;

1.3. ENDOTELNA DISFUNKCIJA

Endotel je mononuklearni sloj koji oblaže unutrašnjost svih krvnih žila i predstavlja sloj žile koji je u izravnom kontaktu sa cirkulirajućom krvi. Dugo je vremena smatran tek pasivnom barijerom koja odvaja krv od ostalih slojeva stijenke krvnih žila. Međutim, ekstenzivna istraživanja su otkrila da se radi o vrlo kompleksnom organu ključnom za održavanje vaskularne hemostaze. Endotelna disfunkcija stoga, u širem smislu, predstavlja nemogućnost endotela da adekvatno sudjeluje u održavanju vaskularne homeostaze (170).

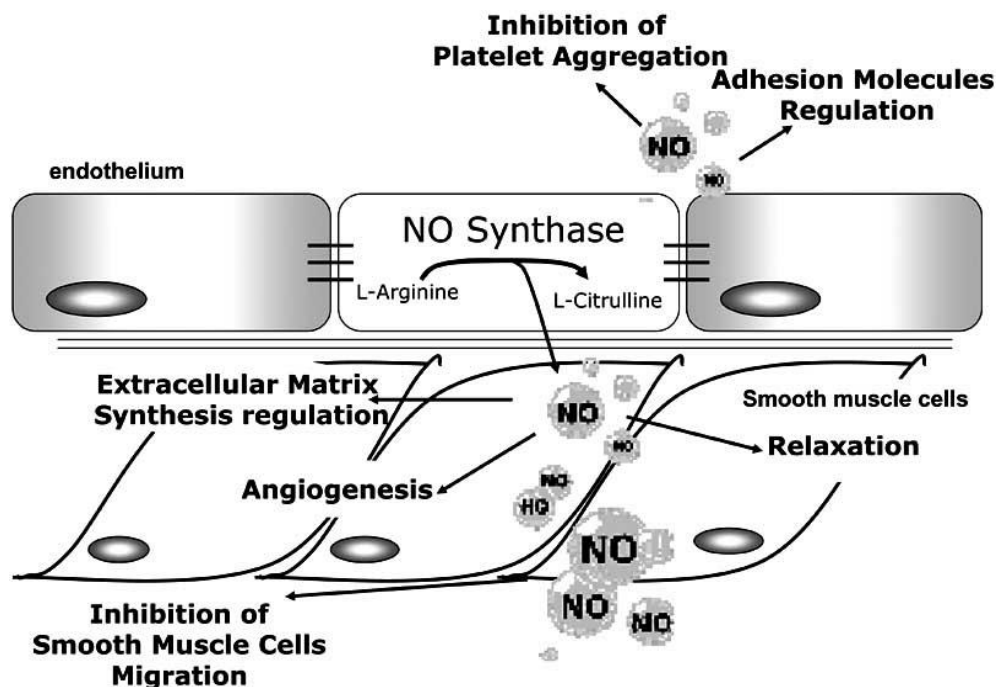
Vaskularnu homeostazu endotel održava lučenjem vazodilatativnih i vazokonstriktivnih molekula u ovisnosti o podražajima kojima je izložen. U vazodilatativne molekule spadaju NO, hiperpolarizirajući čimbenik podrijetlom iz endotela (EDHF), bradikinin, prostaciklin. Od vazokonstriktivnih molekula endotel luči ET-1, tromboksan i angiotenzin. Preko navedenih molekula endotel sudjeluje u održavanju vaskularnog tonusa. Lučenje vazodilatatornih molekula iz endotela stimuliraju acetil-kolin, trombin, angiotenzin i serotonin koji djeluju izravno na glatke mišićne stanice (171). Sila trenja krvnih elemenata također stimulira lučenje NO iz

endotela. Ta je sila proporcionalna protoku krvi, a na treću potenciju obrnuto proporcionalna promjeru krvne žile. Male redukcije u promjeru krvnih žila dovode tako do značajnog povećanja sile trenja. U zdravim provodnim arterijama, povećanje protoka dovodi do smanjenja sile trenja na endotel preko "vazodilatacije ovisne o protoku". Takvo povećanje promjera arterija neizravan je pokazatelj funkcioniranja endotela i njegovog kapaciteta u održavanju homeostaze (172). Uz akutne adaptacije vezane za protok, endotelin sudjeluje i pri razvoju kroničnih promjena strukture stijenke i promjera krvnih žila. Takvo remodeliranje također je vezano uz silu trenja, a odvija se preko kronične upale, vazodilatatornih molekula i čimbenika koji modificiraju izvanstanične građevne elemente stijenke. Poremećaj djelovanja vazodilatatornih molekula u takvom remodeliranju objašnjava zašto se ateroskleroza kod bolesnika sa šećernom bolešću producira kao difuzno bolesne tanke krvne žile (173). Endotel regulira i vaskularni tonus malih rezistentnih arterija koje kontroliraju ravnotežu dostave krvi i potreba tkiva. Iako je taj proces ovisan pretežito o vazodilatatorima koji nisu podrijetlom iz endotela, poput adenzina, i NO iz endotela djeluje na vazodilataciju izazvanu ishemijom te hiperemijom u naporu i povećanim potrebama. Na taj način endotelna disfunkcija pridonosi smanjenim mogućnostima reguliranja protoka prema povećanim zahtjevima u naporu kod kroničnog srčanog zatajenja (174).

Na razini endotela luče se i molekule koje djeluju protrombotski kao što su tkivni čimbenik (TF), inhibitor aktivatora plazminogena, tromboksan i von Willebrandov faktor (vWF). Njihovo je djelovanje u zdravom endotelu balansirano lučenjem antitrombotskih molekula kao što su NO, trombomodulin, urokinaza, aktivator tkivnog plazminogena. Čimbenici rizika koji djeluju na endotelnu disfunkciju pomiču tu ravnotežu i kreiraju protrombotsko i antifibrinolitičko stanje (171).

Isti čimbenici rizika dovode i do kroničnog upalnog stanja koje je u podlozi razvoja ateroskleroze. Prvi korak u tom stanju je adhezija leukocita za endotel te kasnija migracija u subendotelni prostor. Navedeni slijed zbivanja u normalnom endotelu spriječava NO te održava endotel u protuupalnom stanju. U endotelnoj disfunkciji djelovanje čimbenika rizika dovodi do aktivacije endotela te se luči cijeli niz molekula koji omogućava i potpomaže adheziju leukocita kao što su: selektini, međustanična adhezijska molekula (ICAM) i adhezijska molekula vaskularnih stanica (VCAM). Aktivirani endotel luči i kemotaksijske molekule kao što je čimbenik koji privlači monocite (MCP). Također luče se i proinflamatorni citokini kao čimbenik nekroze tumora (TNF), čimbenik koji stimulira kolonije makrofaga. Djelovanje navedenih čimbenika iz endotela omogućava razvoj upale u arterijskoj stijenci što

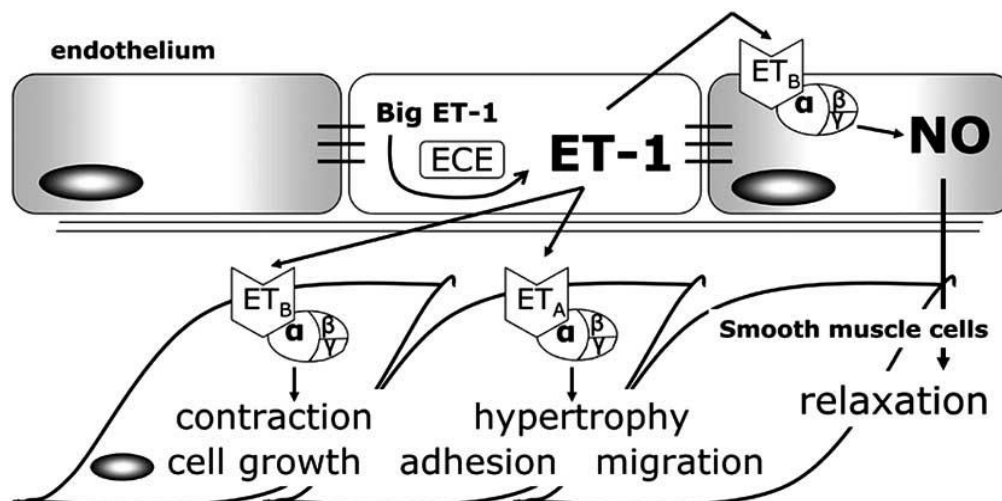
predstavlja prvi korak u razvoju ateroskleroze (171, 175). Prikaz djelovanja NO u održavanju homeostaze na razini endotela nalazi se na slici 4.



Slika 4. Biološki učinci NO u održavanju endotelne homeostaze (prema Potenza i sur.) (171)

Prirodni antagonist djelovanju NO na razini endotela je ET-1. Nastaje iz prirodno neaktivnog prekursora big-ET-1 djelovanjem endotelin-konvertirajućeg enzima (ECE). Kako je ranije spomenuto biološke učinke ostvaruje putem ET_AR i ET_BR receptora. Vezanje ET-1 na ET_AR receptor aktivira fosfolipazu C (PLC). Aktivacija PLC dovodi do stvaranja inozitol-trifosfata (IP3) te diacil-glicerola (DAG) koji dovode do pojačanog lučenja kalcija i aktivacije protein kinaze C (PKC) (176). Također, preko ET_AR receptora aktivira se i stvaranje DAG preko fosfolipaze D, te se pokreće kaskada mitogen aktivirane protein kinaze (MAPK). Navedeni mehanizmi kratkoročno reguliraju tonus glatke mišićne muslukature, a dugoročno proliferaciju i migraciju na razini endotela (177). Djelovanjem ET-1 na ET_BR receptore posredovana je kako vazokonstrikcija na razini mišićnih stanica, tako i otpuštanje NO i prostaciklina, preko čega se ostvaruje lokalna homeostaza prirodnim mehanizmom povratne sprege. Prikaz djelovanja ET-1 na razini endotela

prikazan je na slici 5. Poremećaj u stvaranju, lučenju ili aktivnosti ET-1 također može biti obilježje endotelne disfunkcije.



Slika 5. Biološki učinci ET-1 na razini endotela (prema Potenza i sur.) (171)

1.3.1 Endotelna disfunkcija kod šećerne bolesti

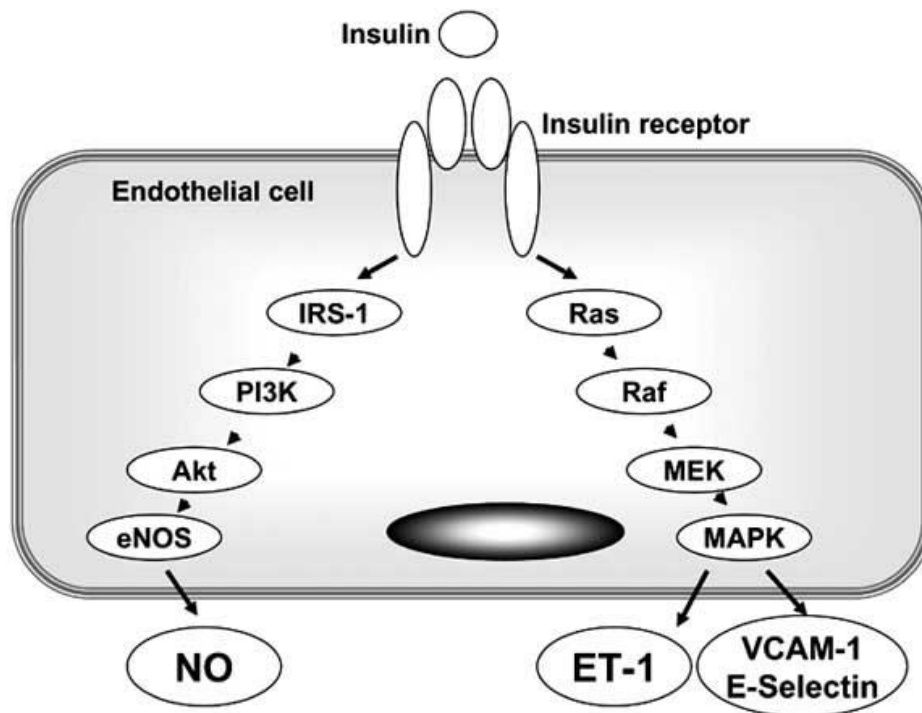
Nekoliko je metaboličkih poremećaja kod šećerne bolesti od kojih svaki može djelovati kao čimbenik koji remeti sintezu i degradaciju NO na endotelnoj razini. Ti su čimbenici: hiperglikemija, inzulinska rezistencija, prekomjerno oslobađanje slobodnih masnih kiselina (SMK) i kompenzatorna hiperinzulinemija (178).

Studije na životinjskim modelima pokazale su da akutna, tranzitorna hiperglikemija, kao i kronična narušava endotelnu funkciju i u makrocirkulaciji i u mikrocirkulaciji (179). Početni korak u djelovanju hiperglikemije na razvoj endotelne disfunkcije je oksidativni stres. Hiperglikemija inducira povećanu proizvodnju superoksid aniona koja dovodi do proizvodnje peroksinitrita. Peroksinitriti reagiraju s endotelnom sintetazom NO (eNOS), enzimom odgovornim za proizvodnju NO u endotelu, smanjujući razine kofaktora tetrahidrobiopterina (BH₄). U nedostatku BH₄ eNOS svoje elektrone predaje kisiku umjesto L-argininu te se stvaraju superoksid anioni umjesto NO (180). Hiperglikemija je početna faza proizvodnje naprednih produkata krajnje glikacije (AGE, eng. advanced glycation-end products). Radi se o heterogenoj skupini molekula izmijenjenih proteina, lipida i nukleinskih kiselina koji nastaju kroz neenzimatsku Mallardovu reakciju. Vezanjem na svoje receptore (RAGE) povećavaju unutarstaničnu proizvodnju superoksida, a djeluju i na

smanjenu efikasnost eNOS i manju bioraspoloživost NO ubrzavajući degradaciju eNOS mRNA (181). Aktivacijom kappa B čimbenika u jezgri (NF- κ B) AGE povećava i ekspresiju ET-1 i narušava ravnotežu NO i ET-1 na stranu vazokonstrikcije i endotelne disfunkcije (182). Hiperglikemija djeluje i na proizvodnju i otpuštanje upalnih citokina kao što su interleukini, TNF α , adhezijske molekule i čimbenike koji izazivaju apoptozu i staničnu proliferaciju izazivajući tako kronično upalno stanje koje narušava normalno funkcioniranje endotela (183).

Rezistencija na inzulin predstavlja stanje narušene sposobnosti inzulina da promovira korištenje glukoze u mišićima i masnom tkivu i da suprimira proizvodnju glukoze u jetri (184). Na molekularnoj razini podlogu inzulinskoj rezistenciji čini smanjenje signala posredovanog fosfoinozimid 3- kinazom (PI3K) u ciljnim tkivima. Fosfoinozimid 3-kinaza nalazi se u metaboličkoj kaskadi preko koje inzulin djeluje na proizvodnju eNOS i preko toga proizvodnju NO (185).

Djelovanje inzulina na održavanje homeostaze na razini endotela je dvojaka. Nakon vezanja na inzulinski receptor na membrani endotelne stanice, aktiviraju se putovi koji dovode do proizvodnje NO, kao i ET-1. Navedeni su putovi prikazani na slici 6.



Slika 6. Djelovanje inzulina na aktivaciju putova stvaranja NO i ET-1 u endotelnim stanicama (prema Potenza i sur.) (171)

IRS -1 – Inzulini receptor supstrat 1; PI3K - fosfoinozitolid 3- kinaza; Akt – Protein kinaza B; eNOS – endotelna sintetaza dušičnog oksida; MAPK – mitogen aktivirana protein kinaza

Ključni poremećaj pri inzulinskoj rezistenciji je već spomenuto smanjenje signala posredovanog PI3K. Pritom je MAPK signalni put očuvan te hiperinzulinemija dovodi do pojačane proizvodnje ET-1 i naglašavanja njegovih učinaka na razini endotela. Preko MAPK je signalnog puta povećava se i proizvodnja VCAM-1 i E-selektina koji sudjeluju u kasnijim promjenama izvanstaničnog matriksa, staničnoj hipertrofiji i promjenama stijenke krvne žile (186).

U tablici 2 navedene su komponente endotelne disfunkcije koje su povezane s razvojem i opsegom vaskularnih komplikacija šećerne bolesti.

Tablica 2. Komponente endotelne disfunkcije koje djeluju na razvoj i opseg vaskularnih komplikacija kod šećerne bolesti *

Komponenta endotelne disfunkcije

Strukturalne promjene u endotelu kao membrani i izvanstaničnom matriksu

- Povećanje debljine bazalne membrane
- Redukcija glikokaliksa
- Formiranje AGE i nepravilno povezivanje elemenata matriksa

Mikroalbuminurija

Smanjen vazodilazacijski odgovor

- Smanjena proizvodnja NO
- Povećana proizvodnja ET-1

Povišena proupalna aktivnost

- Povišena aktivnost staničnih adhezijskih molekula i adhezija leukocita
- Povišena produkcija i osjetljivost na cirkulirajuće posrednike uključujući C reaktivni protein

Poremećaj hemostaze

- Povišene razine von Willebrandovog faktora u plazmi
- Smanjenje trombomodulina, povišena razina aktivatora inhibicije plazminogena

* - prema Bakkeru i sur. (170)

Kliničke implikacije endotelne disfunkcije kod šećerne bolesti očituju se na razini velikih krvnih žila, kao i na razini mikrocirkulacije. Promjene na mikrocirkulaciji dovode do retinopatije i u konačnici sljepoće (dijabetička retinopatija vodeći je uzrok sljepoće u razvijenom svijetu). Jasno je dokazana i povezanost mikroalbuminurije kod oboljelih od šećerne bolesti koji imaju endotelnu disfunkciju. U konačnici promjene dovode do bubrežnog zatajenja. Također, endotelna disfunkcija povezana je i s dijabetičkom neuropatijom (171). Ubrzanje ateroskleroze kod oboljelih od šećerne bolesti na razini velikih krvnih žila dovodi do povećanog rizika za kardiovaskularne neželjene događaje: infarkt miokarda, cerebrovaskularni inzult te amputacije donjih okrajina (187).

Terapijske intervencije za zaustavljanje progresije i reverziju endotelne disfunkcije djeluju na razne čimbenike koji navedenu disfunkciju izazivaju ili podržavaju. Shematski su već ranije bili prikazani na slici 3. Glavne terapije uključuju: regulaciju glikemije, hipertenzije (s posebno korisnim ACE inhibitorima i ARB) i hiperlipidemije (statinima). Djelovanje navedenih terapija opisano je u prethodnim odlomcima. Na poboljšanje endotelne funkcije povoljno djeluju i promjene životnih navika: promjene prehrane i vježbanje te prestanak pušenja. Program koji je uključivao redovito vježbanje uz dijetu s malim unosom masti u trajanju od godinu dana, značajno je kod ispitanica smanjio razine TNF- α , interleukina 6 (IL-6), VCAM-1 u plazmi. Smanjenje težine ispitanica u studiji popravilo je funkciju endotela (188). Povećana tjelesna aktivnost kroz vježbu i inače povoljno djeluje na endotelnu funkciju kod hipertoničara, u bolesnika sa zatajenjem srca i kod bolesnika s koronarnom bolesti. Većina se navedenih povoljnih učinaka ostvaruje kroz povećanu biološku dostupnost NO, a najveća su poboljšanja u dijelovima cirkulacije koji su tijekom vježbanja izloženi ciklusima povećanog krvnog protoka (189, 190).

1.3.2 Djelovanje izvantjelesnog krvotoka na funkciju endotela

Nekoliko svojstava izvantjelesnog krvotoka mogu sudjelovati u razvoju endotelne disfunkcije: nepulzatilni protok, sistemski upalni odgovor, akutna hiperglikemija te ishemija / reperfuzija. S obzirom da je pulzatilni protok sa svojim karakteristikama frekvencijom i amplitudom jedan od čimbenika koji potiču lučenje NO (191), uglavnom nepulzatilni protok na EKC-u može dovesti do smanjenja endotelne produkcije NO. Utjecaj pulzatilnog protoka tijekom EKC-a proučavao je Mathie sa suradnicima. U njihovoj je studiji u skupini bolesnika koji su operirani uz pulzatilni EKC zabilježena značajno viša razina nitrata i nitrita nakon dovršetka

EKC-a nego u skupini s nepulzatilnim EKC-om. Na lučenje nitrata i nitrita u njihovoj je studiji utjecala i sistemska temperatura. Tako je razina nitrata i nitrita bila niža u skupini koja je operirana u umjerenoj sistemskoj hipotermiji (28°C) nego u normotermiji (192).

Izvantjelesni krvotok aktivira brojne komponente upalnog odgovora. Upalni odgovor izaziva sila trenja proizvedena djelovanjem pumpi koje krv tjeraju kroz EKC, hipotermija te aktivacija proteina plazme nakon kontakta krvi s umjetnim površinama cijevi korištenih za EKC (193). Aktiviraju se unutarnji i vanjski put zgrušavanja te povećava fibrinoliza (194). Sustav komplementa aktivira se kontaktom krvi s umjetnim površinama, nakon ishemije / reperfuzije te formiranjem protamin-heparin kompleksa nakon primjene protamina (195, 196). Aktivirani komplement dovodi do proizvodnje peptida koji izazivaju porast broja cirkulirajućih leukocita, njihovu adheziju za endotel i migraciju makrofaga područja s razvojem upale (197). Aktivacija endotelnih stanica događa se radi djelovanja trombina, C5a komponente komplementa te citokina IL-1 i TNF α . Potonja dva elementa djeluju na lučenje E-selektina i P-selektina kao i VCAM-1 i ICAM-1 molekula koje vežu monocite neutrofile za endotelne stanice i potpomažu prolaz leukocita u ekstravaskularni prostor (198).

Intervencije usmjerene ka kontroliranju i smanjenju učinaka EKC-a na upalni odgovor djeluju na pojedine komponente odgovorne za upalni odgovor, mediakmentozno saniraju njegove posljedice ili nastoje potpuno izbjeći korištenje EKC-a i nepovoljnih učinaka koje ima. Kod operacija aortokoronarnog premoštenja moguće je izbjeći nepovoljne učinke EKC-a koristeći tehniku revaskularizacije bez upotrebe EKC-a na kucajućem srcu ("off-pump"). Iako je pokazano da revaskularizacija bez EKC-a smanjuje sistemski upalni odgovor i kod navedene se tehnike događa kirurška trauma, manipulacija položajem srca, koristi se heparin te se konvertira protaminom što sve uzrokuje fiziološku reakciju u smislu upalnog odgovora. Ipak, opseg takve sistemske reakcije značajno je manji nego kod operacije uz EKC (199). Druga mogućnost kojom se mogu umanjiti negativni učinci EKC-a je tzv. "minimiziranje" cijelog sustava. Navedeni se pojam odnosi na nekoliko intervencija u strukturi, pripremi te prilagodbi tijekom korištenja sustava. Intervencije uključuju: minimiziranje hemodilucije krvi kroz smanjenje količine tekućine za ispunu sustava; izbjegavanje kontakta krvi i zraka kroz izostavljanje venskog rezervoara iz sistema; korištenje sukcije nakon koje se stanice obrađuju i čuvaju (eng. "cell-saver"); te oblaganje unutrašnje, kontaktne površine cijevi biokompatibilnim oblogom ili heparinom kako bi se smanjila kontaktna aktivacija i ukupna količina

heparina. Takav minimalizirani sustav u istraživanjima je pokazao smanjenje aktivacije neutrofila i lučenja citokina. (200). Također korištenje minimaliziranog sustava EKC-a smanjilo je stvaranje ROS, MAPK i čimbenika-kapa B iz jezgre, čimbenika uključenih u sistemski upalni odgovor, kao i u patofiziologiju dijabetičke vaskulopatije (201).

Uz sam operacijski zahvat koji inducira stres hiperglikemiju, korištenje EKC-a još dodatno povećava razine glukoze i potrošnju inzulina kod bolesnika sa i bez šećerne bolesti. Otežana kontrola glikemije, povezana je s višim mortalitetom i morbiditetom nakon kardiokirurških operacija (74). Glukoza je u istraživanju Buxa i suradnika istaknuta kao važan supstrat u procesu stvaranja proinflammatoryh citokina kojima je izvor u samom srcu i koji se luče nakon ishemije/reperfuzije. Oni su u svom istraživanju na izoliranim srcima štakora pokazali da se tijekom reperfuzije nakon kardioplegijskog aresta u grupi u kojoj je reperfuzija uključivala i infuziju glukoze, značajno povećava transkripcija gena odgovornih za staničnu proliferaciju, apoptozu i upalu (202).

S obzirom na proinflammatoryno djelovanje akutne hiperglikemije te potencijalnog dodatnog djelovanja EKC-a, postavlja se pitanje kako na lučenje proinflammatoryh citokina djeluje intenzivna kontrola glikemije inzulinom. Albacker i suradnici u svojoj su studiji pokazali da su kod bolesnika kod kojih je glikemija regulirana kontinuiranom infuzijom inzulina (sa ciljnom razinom GUK-a 3.9 - 6.1 mmol/L), uz bolju kontrolu glikemije i ukupno niže razine GUK-a, razine proupalnih citokina bile značajno niže nego u skupini u kojoj su ciljane vrijednosti GUK-a bile >10 mmol/L. Navedene su se promjene odnosile na IL-6, IL-8 i TNF α (203). Slično istraživanje provela je sa svojim suradnicima i Hoedemaekersova. Istražujući utjecaj intenzivne kontrole glikemije na lučenje proinflammatoryh i antiinflammatoryh citokina oni nisu našli značajne razlike u razinama IL-6 i TNF α , kao niti u razinama IL-10 između grupa kod kojih je glikemija bila regulirana kontinuiranom infuzijom inzulina (sa ciljanom razinom GUK-a 4.4 – 6.1 mmol/L) odnosno konvencionalnom terapijom (sa ciljanom vrijednosti <11.1. mmol/L). Razine IL-6 i IL-10 pritom su bile više u uzorcima iz medijastinuma nego iz plazme, sugerirajući i lokalnu proizvodnju (204).

2. HIPOTEZA

Korištenje kontinuirane infuzije inzulina kao metode kontrole glikemije smanjit će lučenje Endotelina-1 u sistemske i koronarnoj cirkulaciji kod bolesnika sa šećernom bolešću koji se podvrgavaju operacijskom zahvatu aortokoronarnog premoštenja uz uporabu stroja za izvantjelesni krvotok.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

3.1. OPĆI CILJ

Ispitati djelovanje kontinuirane infuzije inzulina kao metode kontrole glikemije u perioperacijskom razdoblju na funkciju endotela, mjerenjem razine Endotelina-1 u sistemske i koronarnoj cirkulaciji kod bolesnika sa šećernom bolešću koji se podvrgavaju operacijskom zahvatu aortokoronarnog premoštenja uz uporabu stroja za izvantjelesni krvotok.

3.2. SPECIFIČNI CILJEVI

Istražiti djelovanje metoda kontrole glikemije na:

- hemodinamske parametre tijekom i nakon operacije izražene kroz vrijednosti sistemskog i plućnog tlaka, minutnog volumena srca, indeksiranog minutnog volumena srca, sistemske i plućne vaskularne rezistencije
- lučenje kardioselektivnih enzima nakon operacije (CK, CK-MB, Troponin I)
- pojavu sistemskog upalnog odgovora izraženu mjerenjem broja leukocita razine C reaktivnog proteina (CRP)
- potrebu za korištenjem vazoaktivnih lijekova (inotropi, vazopresori)
- operacijski mortalitet
- pojavu poslijeoperacijskih komplikacija: perioperacijskog infarkta miokarda, sindroma niskog minutnog volumena srca, potrebe za produženom mehaničkom ventilacijom, poslijeoperacijske fibrilacije atrijske, površinske i duboke infekcije sternalne rane, infekcije rane na mjestu uzimanja krvnih žila za premoštenje, infekcije urinarnog trakta, septikemije, neuroloških komplikacija (delirij, cerebrovaskularni inzult), bubrežno zatajenje, potrebu za dijalizom.

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Ustroj istraživanja

Istraživanje je planirano i postavljeno kao jednostruko slijepi randomizirani klinički pokus u skladu sa smjernicama o izvještavanju randomiziranih istraživanja s usporednim skupinama ispitanika CONSORT 2010 (205, 206).

Istraživanje je odobreno je od strane Etičkih povjerenstava KB Dubrava i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Svi bolesnici su prije uključanja u istraživanje potpisali odobreni Informirani pristanak (Prilog 1) te primili prateću Obavijest o istraživanju (Prilog 2).

Istraživanje je provedeno na Zavodu za kardijalnu i transplantacijsku kirurgiju, Klinici za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje i Kirurškom laboratoriju za biomedicinska istraživanja Kliničke bolnice Dubrava.

4.2. Ispitanici

U ispitivanje je uključeno 50 bolesnika sa šećernom bolešću kod kojih je predviđen elektivni operacijski zahvat aortokoronarnog premoštenja.

U ispitivanje nisu bili uključeni:

- bolesnici koji su podvrgavani hitnom operacijskom zahvatu aortokoronarnog premoštenja
- bolesnici sa smanjenom sistoličkom funkcijom lijeve klijetke ($LVEF \leq 35\%$)
- bolesnici s narušenom funkcijom bubrega (vrijednost kreatinina $> 200 \mu\text{mol/L}$)
- bolesnici s perifernom vaskularnom bolesti: okluzija ili $>50\%$ stenoza karotidnih arterija, klaudikacije, prethodna amputacija radi arterijske okluzivne bolesti, prethodni ili planirani operacijski zahvat na abdominalnoj aorti, karotidnim arterijama ili arterijama okrajina
- bolesnici s dokumentiranim komplikacijama šećerne bolesti retinopatijom ili neuropatijom

4.3. Veličina uzorka i randomizacija ispitanika

Uvrštenjem prosječne očekivane razlike razine ET-1 između skupina te standardne devijacije u kalkulator veličine uzorka, uz dvostrani test, $\alpha=0.05$ i snagu od 90%, dobivena je veličina uzorka od ukupno 44 bolesnika (22 po skupini). Navedeni broj uvećan je na 25 bolesnika po skupini.

Nakon uključjenja u studiju, bolesnici su pomoću računalno-generiranih randomizacijskih tablica randomizirani u dvije skupine u odnosu na korištenu metodu kontrole glikemije: skupinu u kojoj je kao metoda kontrole glikemije korištena kontinuirana infuzija inzulina (**KII**) i skupinu u kojoj su korišteni bolusi inzulina (**BOL**). Randomizacijske tablice tijekom istraživanja pohranjene su kod voditelja istraživanja. Nakon randomizacije pripremljene su omotnice s dokumentacijom potrebnom za istraživanje. Omotnice su označene rednim brojem i konsektivno priložene medicinskoj dokumentaciji bolesnika po uključanju u studiju. Na dan operacijskog zahvata, anesteziolog nakon otvaranja omotnice saznaje u kojoj je bolesnik skupini te primjenjuje predviđeni protokol. Bolesnici uključeni u ispitivanje nisu bili upoznati s ishodom randomizacije.

4.4. Operacijski zahvat

4.4.1. Anesteziološki protokol

Protokol anestezije bio je isti za sve bolesnike te je uključivao: premedikaciju morfijem u dozi od 0.1 mg/kg intramuskularno (Morphine Merck; Merck KgaA, Darmstadt, Njemačka) primijenjeno sat vremena prije operacijskog zahvata. Indukcija u anesteziju izvršena je intravenskom primjenom midazolama (Dormicum; Hoffman-La Roche Ltd., Basel, Švicarska) u dozi 0.1 mg/kg, fentanila (Fentanyl; Janssen Pharmaceutica, Beerse, Belgija) u dozi 5-7 g/kg i pankuronij-bromida (Pavulon; N.V. Organon, Oss, Nizozemska). Nakon endotrahealne intubacije, pluća su ventilirana volumenom ventilacije 8 mL/kg, frekvencijom od 12 respiracija u minuti (Cato, Dräger, Lübeck, Njemačka). Volumen i frekvencija respiracije prilagođavani su da bi se parametri acidobaznog statusa i tlaka CO₂ u arterijskoj krvi održavali u fiziološkim granicama. U svrhei monitoriranja plućnog tlaka preko desne jugularne vene u plućnu je arteriju postavljen Swan-Ganz kateter (Edwards Lifesciences LLC, Irvine, SAD). Anestezija je održavana mješavinom dušičnog oksida i kisika u omjeru 40/60 % i sevofluranom (Sevorane; Abbott Laboratories S.A., Abbott Park, SAD) u dozi 1-1.3 minimalne alveolarne

koncentracije (MAC). Dodatne doze pankuronij-bromida primjenjivane su radi održavanja neuromuskularne blokade tijekom operacijskog zahvata.

4.4.2. Kirurški protokol

Kirurški pristup uključivao je, u obje grupe, medijalnu sternotomiju. Odabir i prepariranje potrebnih graftova prepušteni su diskreciji operatera. Na kraju prepariranja LIMA-e, prije odvajanja distalnog kraja, sistemski je intravenski primijenjen heparin (Heparin; Belupo, Koprivnica, Hrvatska) u dozi 300 IJ/kg. Adekvatnost razine heparinizacije određivana je mjerenjem aktiviranog vremena zgrušavanja (eng. activated clotting time – ACT), a čija je ciljna vrijednost održavana na vrijednostima >480 sekundi, uz dodavanje dodatnih doza heparina prema potrebi. Kod svih je bolesnika primijenjena centralna kanilacija što podrazumijeva postavljanje kanile u distalni dio uzlazne aorte te trostupanjske kanile (DLP Medtronic, Minneapolis, SAD) u desni atrij. Slijedila je kanilacija koronarnog sinusa uobičajenim pristupom kroz desni atrij. Kroz postavljenu kanilu (DLP Medtronic, Minneapolis, SAD) učini se uzorkovanje krvi iz koronarnog sinusa. Potom se uspostavi EKC uz sistemsku normotermiju tijekom čitave operacije. Potom se postavi kanila (DLP Medtronic, Minneapolis, SAD) za davanje antegradne kardioplegije u ascedentnu aortu. Nakon izazivanja artificalne fibrilacije ventrikla, ascedentna aorta je klemkana te je kardioplegični arest izazvan instiliranjem 1000 mL hladne krvne kardioplegije prema Buckbergu (omjer 4:1)(207). Redoslijed kreiranja anastomoza uključivao je prvo kreiranje distalnih anastomoza tijekom kardioplegičnog aresta uz intermitentno davanje kardioplegijske otopine retrogradnim putem kroz koronarni sinus i svaki kreirani graft. Kardioplegija je dozirana svakih 10 minuta u trajanju od 3 minute. Tijekom kreiranja posljednje distalne anastomoze, kroz kateter u koronarnom sinusu i kroz kreirane graftove, otpočne se sa davanjem tople kardioplegije (3 minute), a potom i krvi iz EKC-a (3 min). Potom se otpusti klema sa uzlazne aorte. U slučaju da nije došlo do spontane uspostave srčanog ritma, učini se izravna defibrilacija. Potom su na hrptu rubno klemane aorte kreirane proksimalne anastomoze. Kontrola kvalitete anastomoza izvršena je mjerenjem protoka kroz graftove ručnim doppler sondama (MediStim, MediStim ASA, Oslo, Norveška). U slučaju nezadovoljavajućih parametara protoka, učinjena je kirurška revizija graftova.

Potom je slijedilo odvajanje od izvantjelesnog krvotoka. Nakon dovršetka istog i uzorkovanja krvi iz katetera u koronarnom sinusu, izvađeni su kateter te kanile EKC-a. Na kraju zahvata heparin je u potpunosti neutraliziran protamin-hidrokloridom (Protamin ICN, ICL Pharmaceuticals, Birsfelden, Švicarska).

4.5. Kontrola glikemije

Po prijemu na Zavod radi operacijskog liječenja, kod svih je bolesnika, uz ostale laboratorijske nalaze, određen i HbA1c kao pokazatelj kvalitete kontrole regulacije glikemije aktualnom terapijom svakog od ispitanika. Do operacijskog zahvata kod ispitanika je nastavljena njihova dosadašnja terapija.

Provedba protokola kontrole glikemije iz istraživanja, otpočinjala je dolaskom ispitanika u operacijsku salu. Inicijalna vrijednost GUK-a određena je aparatom i-STAT (Abbot, Princeton, SAD). Prema inicijalnoj vrijednosti, titrirane su doze humanog kratkodjelujućeg inzulina (Acrapid HM, NovoNordisk AS, Bagsvaerd, Danska).

Intraoperacijske sheme doziranja inzulina navedene su u Prilozima 4 i 5, modificirane su prema shemi Funarya i sur. (208). Intraoperacijsko mjerenje GUK-a vršeno je svakih 20 minuta uzimanjem krvi iz perifernog venskog puta i analizom na AccuCheck Performa aparatu (Roche Diabetes Care GmbH, Mannheim, Njemačka). Doziranje inzulina vršeno je prema vrijednosti GUK-a te su obje vrijednosti unesene u evidencijske tablice prikazane u Prilozima 8 i 9.

U poslijeoperacijskom periodu u grupi KII GUK je određivan svakih 2 sata, a inzulin je doziran prema „Portland protokolu“ prikazanom u Prilogu 6 (83).

U poslijeoperacijskom periodu u grupi BOL, GUK je određivan svaka 4 sata, uz doziranje inzulina prema skali sa Sveučilišta Pittsburgh prikazanom u Prilogu 7 (209).

4.6. Uzorkovanje krvi

Vremenske točke u kojima je vršeno uzorkovanje krvi navedene su u tablici 3. U svakoj od navedenih točaka uzorci krvi za određivanje ET-1, uzimani su iz arterijske krvi iz kanile u radijalnoj arteriji (ART). U točkama T1 i T2 uz uzorak iz arterijske krvi, uzimao se i uzorak iz katetera postavljenog izravno u koronarni sinus (CS). Uzorci krvi pohranjeni su u epruvete s etilendiaminotetraoctenom kiselinom (EDTA) (BD Vacutainer, Franklin Lakes, NJ, SAD) do centrifugiranja unutar 30 minuta od uzimanja uzorka.

U navedenim se vremenskim točkama iz navedenih uzoraka određivao i acidobazni status, GUK, CRP, kalij, leukociti te hematokrit (radi naknadne korekcije hemodilucije). Također, u svim je promatranim točkama zabilježena vrijednost sistemskog i plućnog tlaka te plućnog okluzivnog tlaka. Također, putem Swan-Ganz katetera određivan je minutni volumen (CO), indeksirani minutni volumen (CI), sistemski vaskularni otpor (SVR), plućni vaskularni otpor (PVR) i mješana venska saturacija.

U točkama T3 i T4, uz navedene parametre, određivane su i vrijednosti kardioselektivnih enzima kao markera oštećenja srčanog mišića: kreatin kinaze (CK), MB izoenzima kreatin kinaze (CK-MB), i troponina I (cTnI).

Tablica 3. Vremenske točke uzimanja uzoraka krvi

	T1	T2	T3	T4
Sistemska cirkulacija (ART)	Nakon sternotomije	Nakon odvajanja od EKC	6 h poslije operacije	24 h poslije operacije
Koronarna cirkulacija (CS)	Nakon sternotomije	Nakon odvajanja od EKC	-	-

4.7. Definicije

Perioperacijski infarkt miokarda – vrijednosti CK-MB >100 U/L, vrijednosti enzima peterostruko veće od gornje referentne granice unutar 72 sata od operacije, uz pojavu novog Q zupca u EKG-u ili pojavu novog bloka lijeve grane, angiografski dokazanu okluziju grafta ili nativne koronarne arterije, ili dokazani gubitak vijabilnosti miokarda

Sindrom niskog minutnog volumena srca (LCOS) – minutni volumen <2.0 L/min/m², tlak u lijevom atriju >20 mmHg, SVR > 1500 dyne-sec/cm², uz znakove hipoperfuzije organa i tkiva

Infekcija sternalne rane – drenaža iz rane sa ili bez potvrđene kulture uzročnika, lokalni znakovi upale ili dehiscenca ili otvaranje rane od strane kirurga

Infekcija rane na nozi - drenaža iz rane na mjestu uzimanja vene safene, sa ili bez potvrđene kulture uzročnika, lokalni znakovi upale ili dehiscenca ili otvaranje rane od strane kirurga

Septikemija - sistemski znakovi infekcije uz pozitivan nalaz hemokulture

Uroinfekcija – lokalni ili sistemski znakovi infekcije uz pozitivan nalaz urinokulture

Cerebrovaskularni inzult (CVI) – novonastali neurološki deficit u trajanju >24 sata

Delirij - akutni i fluktuirajući poremećaj svijesti sa smanjenom mogućnosti koncentracije, zadržavanja ili usmjeravanja pozornosti, uz poremećaje percepcije nastao kao posljedica operacijskog zahvata

Bubrežno zatajenje – akutno zatajenje bubrega ili pogoršanja bubrežne funkcije koja se očituje u bar jednom od slijedećih kriterija: 1) porast serumskog kreatinina trostruko u odnosu na bazalnu vrijednost ili 2) serumski kreatinin >350 μ mol/L

Dijaliza – nova potreba za dijalizom u poslijeoperacijskom periodu

Krvarenje – rana ili kasna kirurška reeksploracija radi pojačanog krvarenja sa ili bez tamponade

Produžena mehanička ventilacija – potreba za mehaničkom ventilacijom duže od 24 sata

Smrt – smrtni ishod unutar 30 dana od operacije ili tijekom indeksne hospitalizacije

Aдекватna kontrola glikemije – razina GUK-a u ciljanim vrijednostima u $>50\%$ uzoraka

4.8. Određivanje Endotelina-1

Nakon uzimanja, uzorci za određivanje ET-1 pohranjeni su u epruvete s EDTA i pohranjeni na 4°C do centrifugiranja (ne duže od 30 minuta). Potom su uzorci centrifugirani 15 minuta na 1000 okretaja. Plazma je izdvojena u plastične spremnike (Eppendorf GmbH, Hamburg Njemačka) i pohranjena na -20°C do analize.

Razina ET-1 u dobivenim uzorcima određena je spektrofotometrijskom ELISA metodom pomoću komercijalnog seta Abbexa Human Endothelin-1 ELISA kit abx253612 (Abbexa Ltd, Cambridge, Velika Britanija) slijedeći upute proizvođača. Očitavanje vrijednosti izvršeno je pomoću čitača ELISA testova ELX 800 s filterom 450 nm, (BiomedicaMedizinprodukte GmbH, Beč, Austrija). Prema proizvođaču, varijacija unutar testa iznosi do 8% a između testova do 10%.

U promatranim je točkama izvršena i korekcija radi hemodilucije prema sljedećoj formuli: $pcET-1_{tx} = cET-1_{tx} \times (hct_{tx} / hct_{t0})$. Pri čemu je $pcET-1_{tx}$ – stvarna koncentracija ET-1 u točki tx, $cET-1_{tx}$ – izmjerena koncentracija ET-1 u točki tx, hct_{tx} – hematokrit u točki tx i hct_{t0} – početni hematokrit.

4.9. Statističke metode

Normalnost raspodjela kontinuiranih varijabli, testirana je putem Shapiro-Wilk testa. U slučaju normalne raspodjele kontinuirane varijable prikazane su kao aritmetička sredina i standardna devijacija. U slučaju odstupanja od normalne raspodjele kontinuirane varijable prikazane su kao medijan i interkvartilni raspon. Za usporedbu dviju skupina s normalno distribuiranim varijablama, korišten je t-test za neovisne uzorke. Za usporedbu varijabli unutar grupe s konsektivnim mjerenjima, korišten je paired T-test. U slučaju odstupanja od normalne raspodjele korišten je Mann-Whitneyev U test.

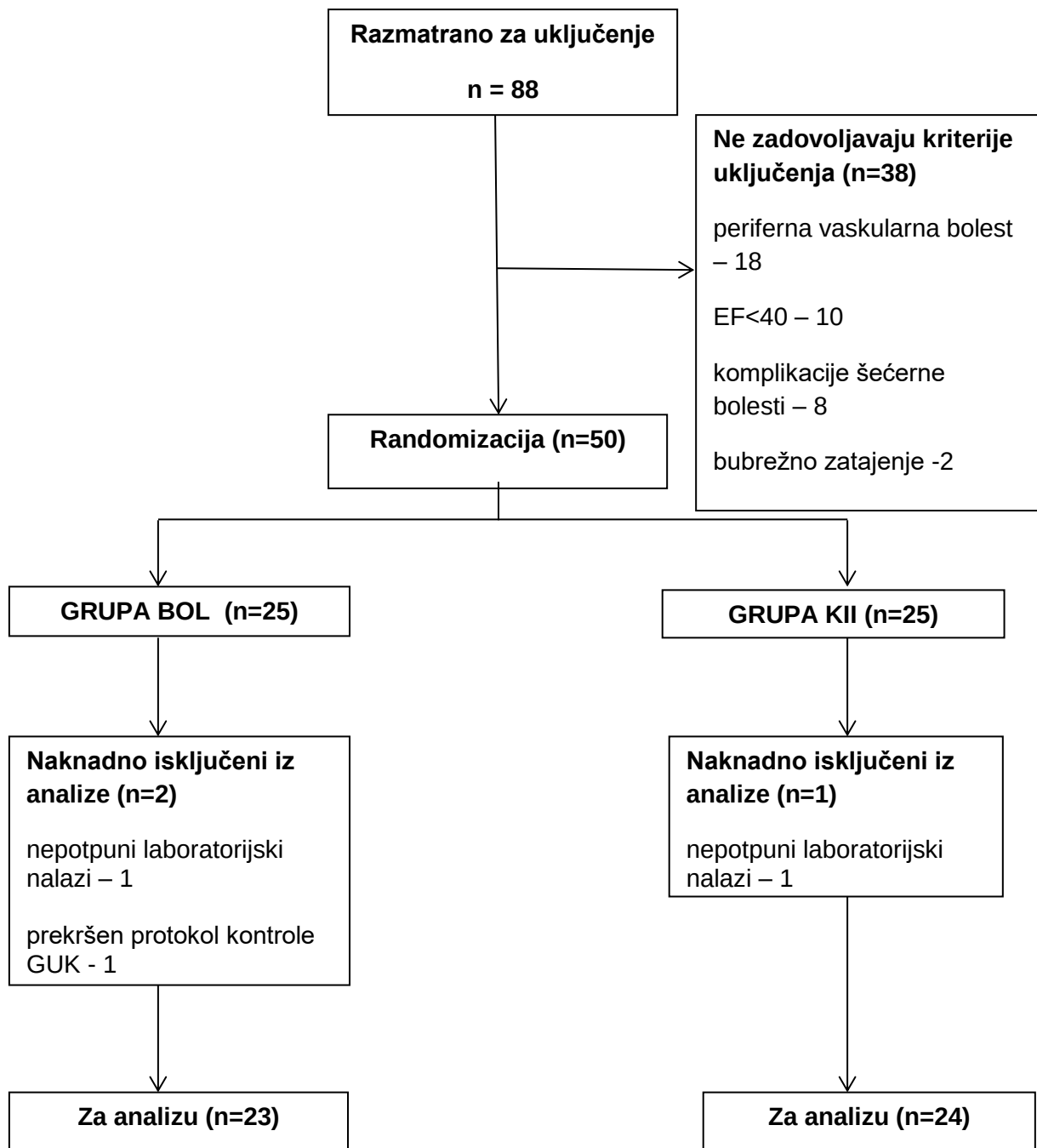
Za usporedbu varijabli koje su mjerene u konsektivnim vremenskim točkama korištena je ANOVA za ponavljana mjerenja. U slučaju narušavanja načela sfericiteta mjerenog Mauchly-evim testom korištena je Greenhouse-Geiserova korekcija. Za post-hoc analizu korišten je Bonferronijev test.

Korelacije između kontinuiranih varijabli određivane su računanjem Pearsonovog koeficijenta korelacije. Razlike između dviju skupina pacijenata s obzirom na kategorijalne varijable testirane su putem χ^2 testa, odnosno Fisherovog egzaktnog testa u slučajevima u kojima su očekivane frekvencije bile manje od 5.

Svi navedeni statistički testovi provedeni su uz razinu statističke značajnosti od $p < 0,05$ uz korištenje računalnog statističkog programa Statistica (StatSoft, v11.0).

5. REZULTATI

Osamdeset i osmero bolesnika sa šećernom bolešću planiranih za elektivni kardiokirurški zahvat revaskularizacije miokarda uz upotrebu EKC-a, razmatrano je za uključivanje u studiju. Trideset i osmero bolesnika imalo je neko od stanja koja su predstavljala isključujuće čimbenike za razmatranje uključivanja u ispitivanje. Pedeset bolesnika randomizirano je u KII i BOL skupine. Iz istraživanja su naknadno isključena 3 bolesnika. U grupi BOL isključena su dva bolesnika; jedan zbog nepotpunih laboratorijskih nalaza i jedan zbog kršenja protokola kontrole glikemije. U grupi KII isključen je jedan bolesnik zbog nepotpunih laboratorijskih nalaza. Ukupan broj bolesnika za analizu bio je 23 u grupi BOL, odnosno 24 u grupi KII. Dijagram tijekom istraživanja prema CONSORT 2010 smjernicama prikazan je na slici 7.



Slika 7. Dijagram tijeka istraživanja prema CONSORT 2010.

5.1 Prijeoperacijske karakteristike ispitanika

Prijeoperacijske karakteristike ispitanika prikazane su u tablici 4. Obje ispitivane skupine su u potpunosti usporedive po spolu, dobi, indeksu tjelesne mase i udjelu ispitanika s indeksom >30 , adekvatnosti kontrole glikemije izražene kroz udio HbA1c i udjelu ispitanika sa udjelom >6.5 , istisnoj frakciji lijeve klijetke i procijenjenom kardiokirurškom riziku (kroz logistički EuroSCORE i EuroSCORE2). Između skupina nije bilo razlike niti u pridruženim bolestima poput arterijske hipertenzije, hiperlipidemije, pušenju, ili prethodno preboljelom infarktu miokarda. Pritom valja napomenuti da je dio ispitanika u anamnezi imao pušenje, ali isto nije uzeto u obzir u analizi radi velike heterogenosti vremena prestanka pušenja. Skupine se nisu razlikovale niti po udjelu ispitanika sa prethodnim invazivno kardiološkim intervencijama na koronarnim arterijama.

Tablica 4. pokazuje prijeoperacijsku terapiju ispitanika. Skupine se nisu razlikovale po udjelu bolesnika na isključivo inzulinskoj, isključivo peroralnoj ili kombiniranoj inzulinskoj i peroralnoj terapiji. Također, uz acetilsalicilnu kiselinu koju su u terapiji imali svi ispitanici, nije bilo značajne razlike između skupina u udjelu bolesnika na terapiji beta-blokatorima, ACE inhibitorima, ARB ili statinima. U KII skupini statistički značajno više ispitanika imalo je u terapiji klopido­gre­l.

Tablica 4. Prijeoperacijske karakteristike ispitanika

	BOL n=23 n(%)	KII n=24 n(%)	p
spol: muški	20 (87)	23 (96)	0,348
dob (godine)*	63 ± 7,6	63 ± 9,7	0,999 [#]
BMI*	30,7 ± 4,5	30,8 ± 4,2	0,950 [#]
BMI > 30	15 (65)	14 (58)	0,627
HbA1c (%)*	7,3 ± 1,5	7,3 ± 1,1	0,954 [#]
HbA1c > 6.5%	15 (65)	17 (71)	0,680
art. hipertenzija	20 (87)	23 (96)	0,348
hiperlipidemija	20 (87)	20 (83)	>0,999
pušenje	5 (21)	4 (17)	0,724
prethodni MI	11 (48)	15 (63)	0,312
prethodni PCI	3 (13)	4 (17)	>0,999
LVEF (%)*	59,0 ± 8,2	55,1 ± 9,3	0,137 [#]
logES (%)**	1,8 (1,0 - 2,5)	1,9 (1,3 - 2,9)	0,528 [§]
ES II (%)**	1,1 (0,7 - 1,2)	1,1 (0,8 - 1,5)	0,693 [§]

*- srednja vrijednost ± standardna devijacija; ** - medijan (interkvartilni raspon)

[#] - Studentov t-test; [§] - Mann-Whitney U test

BMI – indeks tjelesne mase, HbA1c – glikozilirani hemoglobin; MI – infarkt miokarda;

PCI – perkutana koronarna intervencija; LVEF – istisna frakcija lijeve klijetke;

logES – logistički EuroSCORE; ES II – EuroSCORE 2

Tablica 5. Prijeoperacijska terapija ispitanika

	BOL n=23 n(%)	KII n=24 n(%)	p
inzulin	4 (17)	5 (21)	>0,999
peroralna	19 (83)	16 (67)	0,210
peror. + inzulin	0	3 (13)	0,234
β- blokatori	19 (83)	20 (83)	>0,999
ACE inhibitori	15 (65)	16 (67)	0,694
ARB	4 (18)	3 (13)	>0,999
statini	22 (96)	22 (92)	>0,999
klopidogrel	6 (26)	13 (54)	0,050

ACE – angiotenzin konvertirajući enzim; ARB – blokatori receptora angiotenzina II

5.2 Intraoperacijski podaci

Promatrane skupine bolesnika nisu se razlikovale po dužini trajanja izvantjelesnog krvotoka, kardioplegijskog aresta, broja učinjenih premosnica niti udjelu bolesnika kod kojih je učinjeno više od 1 arterijske premosnice. Također, nije bilo značajne razlike u udjelu bolesnika kod kojih je intraoperacijski korištena inotropna potpora, uz napomenu da za primjenu iste nije postojao definirani algoritam, nego je primjena bila prepuštena kliničkoj prosudbi anesteziologa. Promatrani intraoperacijski podaci prikazani su u tablici 6.

Tablica 6. Intraoperacijski podaci

	BOL n=23 n(%)	KII n=24 n(%)	p
EKC (min)**	79 (62 – 85)	67 (58 – 83)	0,229 [§]
CCT (min)**	43 (35 – 54)	38 (31 – 45)	0,150 [§]
broj graftova*	2,45 ± 0,51	2,33 ± 0,48	0,322 [#]
art. revask.	8 (35)	14 (58)	0,106
inotropi	9 (39)	7 (29)	0,471

*- srednja vrijednost ± standardna devijacija; ** - medijan (interkvartilni raspon)

- Studentov t-test; § - Mann- Whitney U test

EKC – trajanje izvantjelesnog krvotoka; CCT – trajanje klemanja aorte

Korelacijskom analizom nije utvrđena povezanost dužine trajanja izvantjelesnog krvotoka ili kardioplegijskog aresta s razinom ET-1 nakon odvajanja od EKC-a (točka T2), kao ni s razlikom koncentracija ET-1 prije i nakon revaskularizacije u sistemske ili koronarnoj cirkulaciji. Nije utvrđena povezanost duljine trajanja kardioplegijskog aresta s koncentracijom ET-1 u koronarnoj cirkulaciji nakon odvajanja od EKC-a, kao ni s razlikom koncentracija ET-1 u koronarnoj cirkulaciji prije i nakon revaskularizacije tablica 7.

Tablica 7. Prikaz koeficijenata korelacije između trajanja izvantjelesnog krvotoka i kardioplegijskog aresta i koncentracija ET-1 u sistemske i koronarnoj cirkulaciji tijekom i nakon dovršetka revaskularizacije

	r	p
EKC – ET-1 ARTT2	0,05	0,737
EKC – Δ ET-1 ARTT2-T1	0,11	0,461
EKC – ET-1 CST2	0,04	0,816
EKC – Δ ET-1 CST2-T1	0,04	0,799
CCT – ET-1 CST2	0,18	0,224
CCT – Δ ET-1 CST2-T1	0,17	0,266

EKC – trajanje izvantjelesnog krvotoka (min); CCT – trajanje kardioplegijskog aresta (min); r – Pearsonov koeficijent korelacije

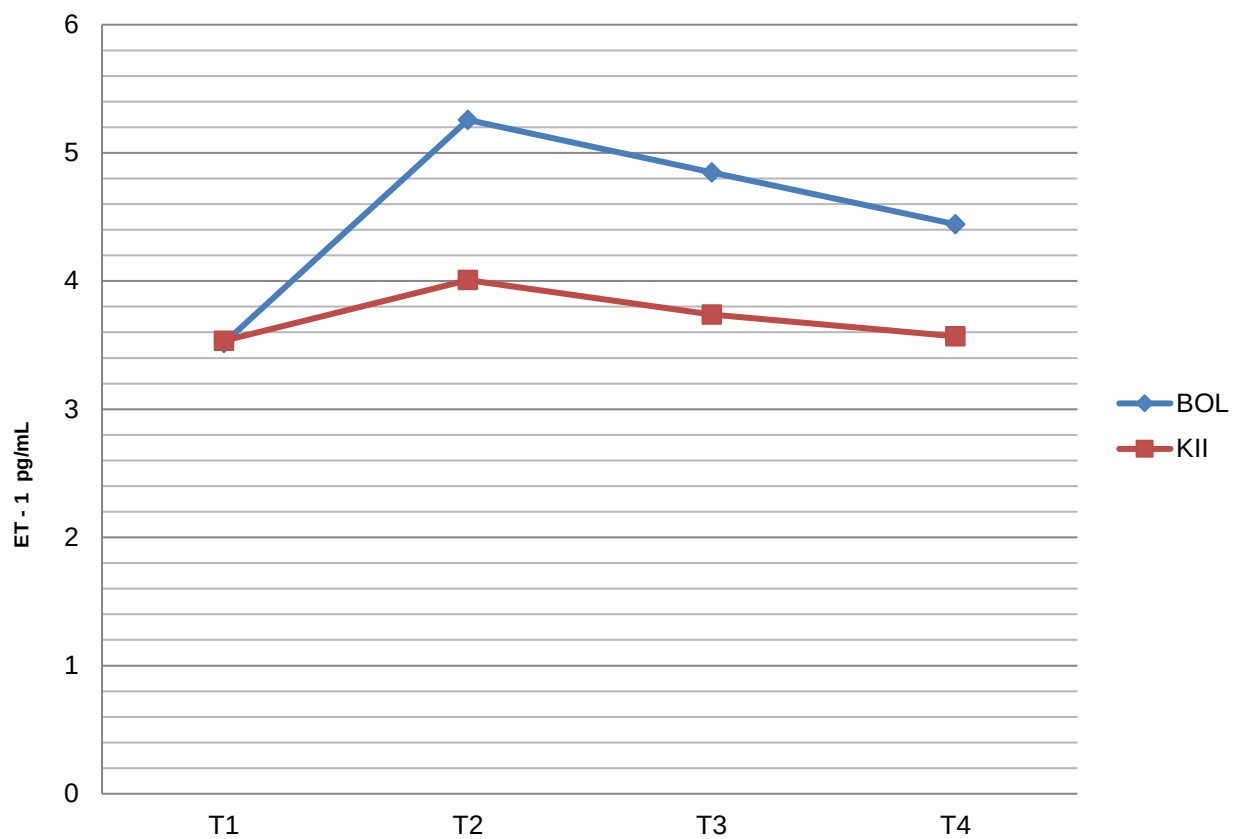
5.3 Analiza razina endotelina-1 u sistemske i koronarnoj cirkulaciji

Korelacijska analiza pokazala je da nije bilo značajnog utjecaja dobi ($r=0,08$; $p=0,601$), BMI ($r=0,06$; $p=0,694$) i kontrole glikemije iskazane kroz HbA1c ($r= - 0,18$; $p=0,238$) na početne koncentracije ET-1.

Trend lučenja ET-1 u obje je grupe bio sličan: porast tijekom korištenja EKC-a, te postupni pad u poslijeoperacijskom periodu. U grupi BOL koncentracija ET-1 značajno je porasla u odnosu na početnu u točki T2 ($5,26 \pm 1,16$ naspram $3,52 \pm 1,19$ pg/mL; $p < 0,001$), a značajno je većom bila i u točkama T3 ($4,84 \pm 1,17$ naspram $3,52 \pm 1,19$ pg/mL; $p < 0,001$) i T4 ($4,44 \pm 1,13$ naspram $3,52 \pm 1,19$ pg/mL; $p < 0,001$). U grupi KII koncentracija ET-1 također je bila značajno viša u odnosu na početnu u grupama T2 ($4,01 \pm 0,96$ naspram $3,53 \pm 0,95$ pg/mL; $p<0,001$) i T3 ($3,74 \pm 0,93$ naspram $3,53 \pm 0,95$ pg/mL; $p<0,001$). U točki T4 nije bilo značajne razlike u koncentraciji ET-1 u odnosu na početnu vrijednost ($3,56 \pm 0,91$ naspram $3,53 \pm 0,95$ pg/mL; $p=0,728$).

Razlika u koncentracijama ET-1 između skupina bila je statistički značajna: $F(1, 45)= 6,873$; $p = 0,012$.

Srednje vrijednosti koncentracija ET-1 te SD i 95%CI prikazani su u tablici 8 i grafički na slici 7.



Slika 7. Grafički prikaz koncentracija ET-1 u sistemske cirkulaciji

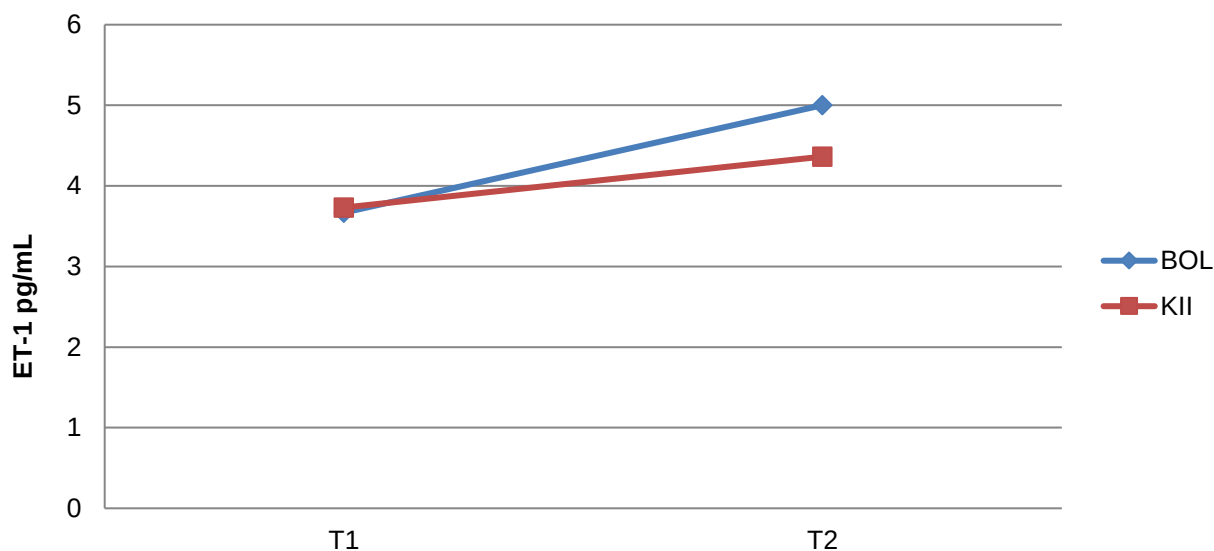
Tablica 8. Vrijednosti ET-1 (pg/mL) u sistemske cirkulaciji u promatranim vremenskim točkama

	grupa	srednja vrijednost $\pm$ SD	95% CI
ET-1 T1	BOL (n=23)	3,52 $\pm$ 1,19	2,99 – 4,03
	KII (n=24)	3,53 $\pm$ 0,95	3,13 – 3,93
ET-1 T2	BOL (n=23)	5,26 $\pm$ 1,16	4,76 – 5,76
	KII (n=24)	4,01 $\pm$ 0,96	3,60 – 4,41
ET-1 T3	BOL (n=23)	4,84 $\pm$ 1,17	4,34 – 5,35
	KII (n=24)	3,74 $\pm$ 0,93	3,34 – 4,13
ET-1 T4	BOL (n=23)	4,44 $\pm$ 1,13	3,95 – 4,93
	KII (n=24)	3,56 $\pm$ 0,91	3,19 – 3,95

SD – standardna devijacija; CI – interval pouzdanosti

Početne koncentracija ET-1 u koronarnoj cirkulaciji nisu se statistički značajno razlikovale između skupina ($3,67 \pm 1,15$ naspram $3,73 \pm 1,06$ pg/mL; $p = 0,846$)

Grafički prikaz koncentracija ET-1 u koronarnoj cirkulaciji prikazan je na slici 8.



Slika 8. Grafički prikaz koncentracija ET-1 u koronarnoj cirkulaciji

U skupini BOL, koncentracija ET-1 u koronarnoj cirkulaciji bila je statistički značajno viša od početne ($5,00 \pm 1,22$ naspram $3,67 \pm 1,06$; $p < 0,001$).

I u skupini KII koncentracija ET-1 u koronarnoj cirkulaciji bila je statistički značajno viša od početne nakon EKC-a ($4,36 \pm 1,06$ naspram $3,73 \pm 1,06$ pg/mL; $p < 0,001$).

Nakon EKC-a nije bilo značajne razlike u koncentracijama ET-1 u koronarnoj cirkulaciji između skupina ($5,00 \pm 1,22$ naspram $4,36 \pm 1,06$; $p = 0,062$).

5.4 Kontrola glikemije

Razine GUK-a u sistemskoj cirkulaciji u skupini BOL u svim su poslijeoperacijskom točkama značajno više od početne vrijednosti: T2 ($9,1 \pm 2,1$ naspram $6,7 \pm 2,3$ mmol/L, $p < 0,001$); T3 ($9,1 \pm 2,1$ naspram $6,7 \pm 2,3$ mmol/L, $p = 0,001$); i T4 ($11,0 \pm 3,2$ naspram $6,7 \pm 2,3$ mmol/L, $p < 0,001$). U skupini KII razina GUK-a u sistemskoj cirkulaciji poslijeoperacijskom točkama također značajno više od početne vrijednosti: T2 ($7,9 \pm 2,0$ naspram $5,9 \pm 1,8$ mmol/L, $p < 0,001$); T3 ($9,1 \pm 2,1$ naspram $5,9 \pm 1,8$ mmol/L, $p < 0,001$); i T4 ($7,9 \pm 2,3$ naspram $5,9 \pm 1,8$ mmol/L, $p = 0,018$). (Tablica 9)

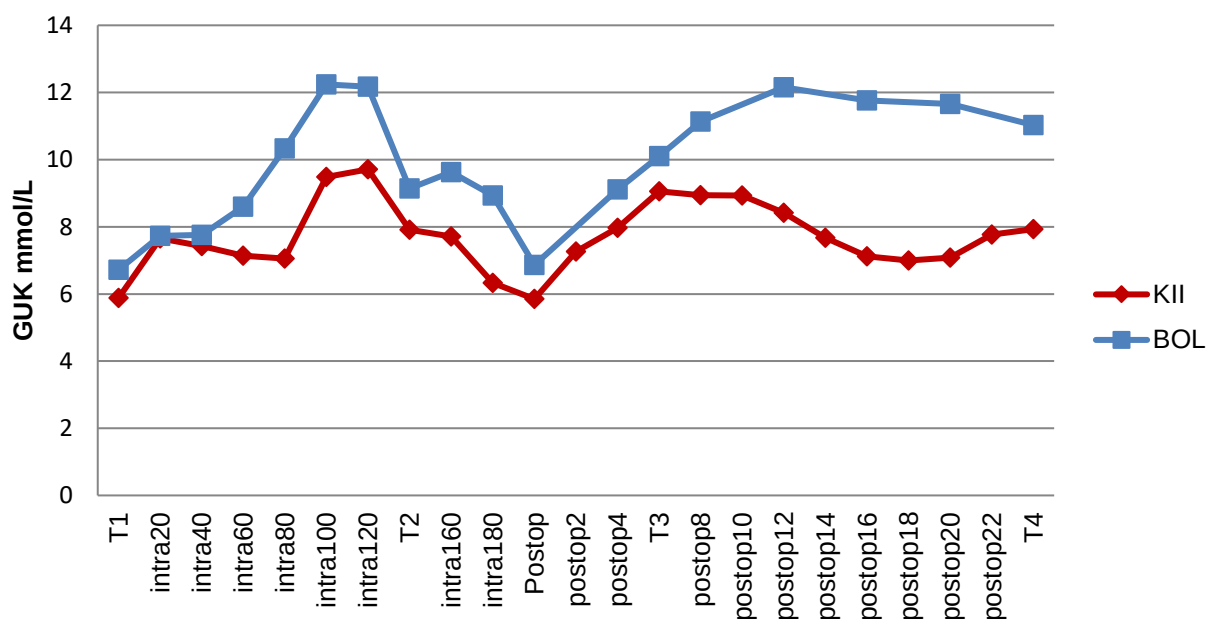
Tablica 9. Vrijednosti GUK-a (mmol/L) u sistemskoj cirkulaciji u promatranim vremenskim točkama

	grupa	srednja vrijednost $\pm$ SD	95% CI
T1 GUK	BOL (n=23)	$6,7 \pm 2,3$	5,7 – 7,7
	KII (n=24)	$5,9 \pm 1,8$	5,1 – 6,7
T2 GUK	BOL (n=23)	$9,1 \pm 2,1$	8,2 – 10,0
	KII (n=24)	$7,9 \pm 2,0$	7,1 – 8,7
T3 GUK	BOL (n=23)	$10,1 \pm 3,2$	8,7 – 11,5
	KII (n=24)	$9,1 \pm 2,1$	8,2 – 10,0
T4 GUK	BOL (n=23)	$11,0 \pm 3,2$	9,7 – 12,4
	KII (n=24)	$7,9 \pm 2,3$	6,9 – 8,9

SD – standardna devijacija; CI – interval pouzdanosti

Grafički prikaz razina GUK-a na slici 9 uključuje vrijednosti svih mjerenja u intraoperacijskom i poslijeoperacijskom periodu i još preciznije pokazuje trendove u obje grupe. Vidljiv je trend sličnog kretanja krivulje u intraoperacijskom periodu (T1 – intraop 180), ali uz niže vrijednosti u skupini KII. U poslijeoperacijskom periodu (postop – T4), primjetan je porast GUK-a u obje skupine do točke T3, te potom daljnji porast u skupini BOL a održavanje iste razine u skupini KII.

Razlika u razini GUK-a u sistenskoj cirkulaciji bila je statistički značajna. $F(1, 45) = 13,132$; $p=0,001$)



Slika 9. Grafički prikaz vrijednosti GUK-a u sistenskoj cirkulaciji u promatranom periodu

U skupini BOL utrošeno je značajno više inzulina za intraoperacijsku kontrolu glikemije (59 naspram 34 ij; $p=0,031$). Između skupina nije bilo statistički značajne razlike u broju ispitanika kod kojih je postignuta dobra kontrola glikemije intraoperativno. Poslije operacije, značajno je više inzulina utrošeno u skupini KII (65 naspram 32 ij, $p=0,009$). U poslijeoperacijskom je periodu dobra regulacija glikemije postignuta kod značajno više bolesnika u skupini KII nego u skupini BOL (88% naspram 52%, $p=0,008$). Između skupina nije bilo značajne razlike u ukupnoj utrošenoj količini inzulina. Podaci su prikazani u tablici 10.

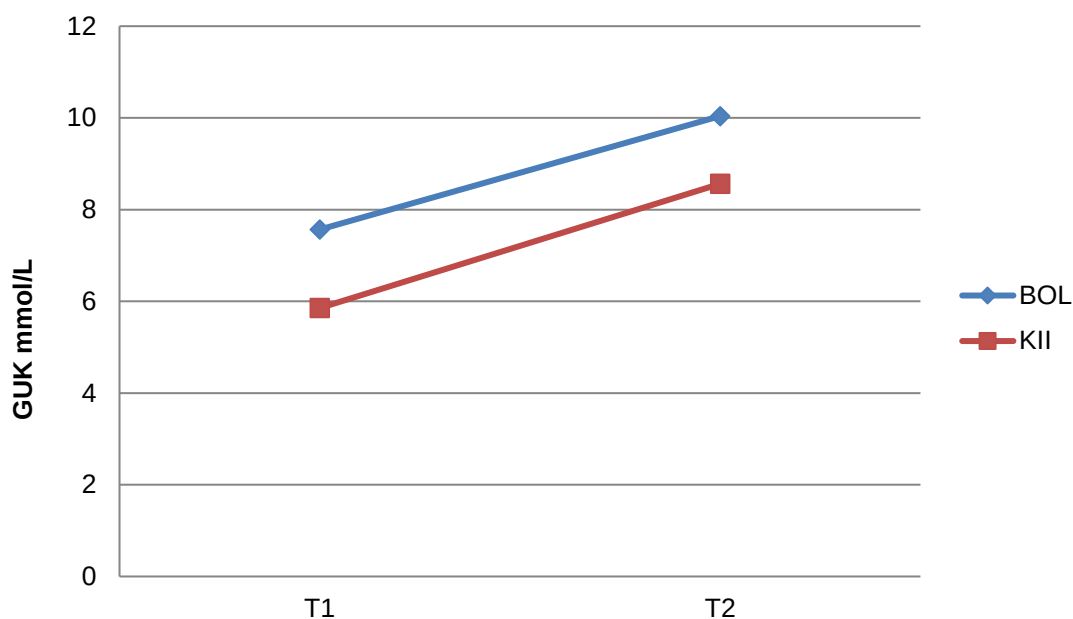
Tablica 10. Potrošnja inzulina i regulacija glikemije

	BOL n=23	KII n=24	p
inzulin intraop* (ij)	59 ± 49	34 ± 17	0,031[#]
regulacija intraop.	18 (78)	23 (96)	0,097
inzulin postop* (ij)	32 ± 29	65 ± 51	0.009[#]
regulacija postop.	12 (52)	21 (88)	0.008
inzulin ukupno* (ij)	90 ± 57	99 ± 61	0,583

* - srednja vrijednost ± standardna devijacija; # - Studentov T test; ij – internacionalne jedinice

Vrijednosti GUK-a u koronarnoj cirkulaciji nisu se statistički značajno razlikovale su među skupinama u točki T1 : 7,1 (5,8 – 8,5) naspram 5,6 (5,2 – 6,7) $Z = -1,94$, $p = 0,052$.

Kretanje razina GUK-a u koronarnoj cirkulaciji prikazano je na slici 10.



Slika 10. Grafički prikaz razine GUK-a u koronarnoj cirkulaciji

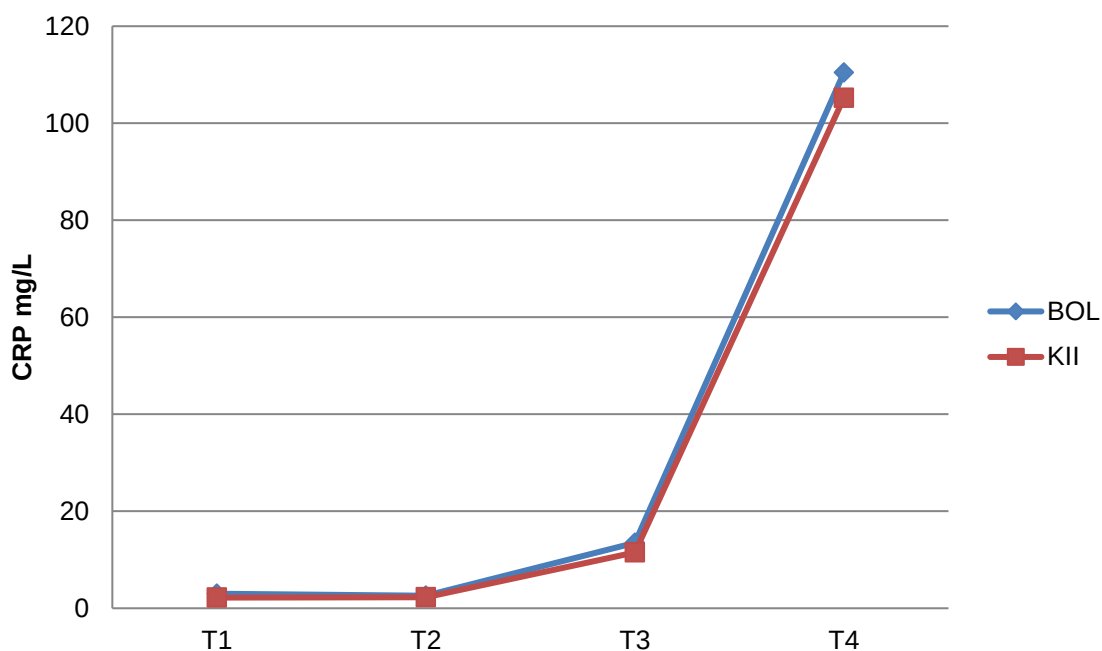
U skupini BOL razina GUK-a u koronarnoj cirkulaciji bila je statistički značajno viša nakon EKC-a: 9,6 (9,0 – 10,9) naspram 7,1 (5,8 – 8,5); $Z = -2,67$; $p = 0,008$.

U skupini KII razina GUK-a u koronarnoj cirkulaciji bila je statistički značajno viša nakon EKC-a: 8,1 (7,3 – 10,3) naspram 5,6 (5,2 – 6,7); $Z = -3,23$; $p = 0,001$.

Između skupina nije bilo statistički značajnih razlika u razini GUK-a nakon korištenja EKC-a: 9,6 (9,0 – 10,9) naspram 8,1 (7,3 – 10,3); $Z = -1,71$; $p = 0,087$.

5.5 Upalni odgovor

Sistemiški upalni odgovor u istraživanju je promatran kroz razine CRP-a. U obje je promatrane skupine bio prisutan identičan trend lučenja CRP-a s gotovo jednakim razinama tijekom operacije, te porastom u poslijeoperacijskom periodu do vršnih vrijednosti u točki T4, 24 sata nakon operacije (slika 11).



Slika 11. Razina CRP-a u sistemske cirkulaciji

Srednje vrijednosti CRP-a u skupini BOL bile su statistički značajno više od početnih u T3 ($13,5 \pm 11,3$ naspram $3,0 \pm 4,2$ g/L; $p < 0,001$) i T4 ($110,5 \pm 40,2$ naspram $3,0 \pm 4,2$ g/L; $p < 0,001$). Porast razine CRP-a između točaka T3 i T4 je također bio statistički značajan ($110,5 \pm 40,2$ naspram $13,5 \pm 11,3$ g/L; $p < 0,001$).

U KII skupini srednje vrijednosti CRP-a bile su statistički značajno više od početnih u T3 ($11,5 \pm 7,4$ naspram $2,2 \pm 2,0$ g/L; $p < 0,001$) i T4 ($105,9 \pm 35,8$ naspram $2,2 \pm 2,0$ g/L; $p < 0,001$). Porast razine CRP-a između točaka T3 i T4 je također bio statistički značajan ($105,9 \pm 35,8$ naspram $11,5 \pm 7,4$ g/L; $p < 0,001$).

Nije bilo statistički značajne razlike u razinama CRP-a između skupina : $F(1; 45) = 0,412$; $p = 0,524$.

Tablica 11. Vrijednosti CRP-a (mg/L) u sistemskoj cirkulaciji u promatranim vremenskim odjeljcima

	grupa	srednja vrijednost $\pm$ SD	95% CI
T1 CRP	BOL (n=23)	3,0 $\pm$ 4,2	1,2 – 4,8
	KII (n=24)	2,2 $\pm$ 2,0	1,3 – 3,1
T2 CRP	BOL (n=23)	2,6 $\pm$ 3,3	0,9 – 3,7
	KII (n=24)	1,6 $\pm$ 1,4	1,0 – 2,2
T3 CRP	BOL (n=23)	13,5 $\pm$ 11,3	8,6 – 18,4
	KII (n=24)	11,5 $\pm$ 7,4	8,3 – 14,6
T4 CRP	BOL (n=23)	110,5 $\pm$ 40,2	93,1 – 127,9
	KII (n=24)	105,9 $\pm$ 35,8	92,5 – 119,4

SD – standardna devijacija; CI – interval pouzdanosti

5.6 Ostale korelacije

U tablicama 12.-15. prikazane su korelacije razina ET-1 u sistemskoj cirkulaciji s hemodinamskim parametrima. Zajednička legenda nalazi se ispod zadnje tablice.

U točki T1 je postojala značajna korelacija između koncentracije ET-1 u sistemskoj cirkulaciji i sistoličkog i srednjeg tlaka u plućnoj arteriji kao i plućne vaskularne rezistencije (tablica 12).

Tablica 12. Prikaz koeficijenata korelacije između razina ET-1 u sistemskoj cirkulaciji u točki T1 i hemodinamskih parametara

	r	p
ET1 – RR sist	0,11	0,448
ET1 - RRsred	0,12	0,420
ET1 – PAP sist	0,34	0,020
ET1 – PAP sred	0,33	0,021
ET1 - SVR	-0,02	0,919
ET1 - PVR	0,30	0,041
ET1 - CO	-0,06	0,695
ET1 - CI	-0,02	0,914

r – Pearsonov koeficijent korelacije

U točki T2 je postojala značajna korelacija između koncentracije ET-1 i plućne vaskularne rezistencije (tablica 13).

Tablica 13. Prikaz koeficijenata korelacije između razina ET-1 u sistemskoj cirkulaciji u
točki T2 i hemodinamskih parametara

	r	p
ET1 – RR sist	0,15	0,319
ET1 - RRsred	0,20	0,174
ET1 – PAP sist	0,21	0,168
ET1 – PAP sred	0,16	0,286
ET1 - SVR	0,03	0,840
ET1 - PVR	0,41	0,005
ET1 - CO	0,02	0,890
ET1 - CI	-0,02	0,916

r – Pearsonov koeficijent korelacije

U točki T3 je postojala značajna korelacija između koncentracije ET-1 i srednje vrijednosti plućnog tlaka (tablica 14).

Tablica 14. Prikaz koeficijenata korelacije između razina ET-1 u sistemskoj cirkulaciji u
točki T3 i hemodinamskih parametara

	r	p
ET1 – RR sist	0,15	0,318
ET1 - RRsred	0,14	0,354
ET1 – PAP sist	0,28	0,057
ET1 – PAP sred	0,36	0,012
ET1 - SVR	0,04	0,813
ET1 - PVR	0,25	0,094
ET1 - CO	-0,10	0,506
ET1 - CI	-0,07	0,666

r – Pearsonov koeficijent korelacije

U točki T4 nije bilo značajnih korelacija između koncentracije ET-1 i hemodinamskih parametara (tablica 15).

Tablica 15. Prikaz koeficijenata korelacije između razina ET-1 u sistemske cirkulaciji u točki T4 i hemodinamskih parametara

	r	p
ET1 – RR sist	0,09	0,550
ET1 - RRsred	0,07	0,663
ET1 – PAP sist	0,14	0,349
ET1 – PAP sred	-0,03	0,867
ET1 - SVR	0,06	0,697
ET1 - PVR	0,14	0,358
ET1 - CO	0,08	0,583
ET1 - CI	0,09	0,537

r – Pearsonov koeficijent korelacije

Zajednička legenda za tablice X – X: RR sist – sistolička vrijednost sistenskog tlaka; RR sred – srednja vrijednost sistenskog tlaka; PAP sist – sistolička vrijednost plućnog tlaka; PAP sred - srednja vrijednost plućnog tlaka; SVR – sistemska vaskularna rezistencija; PVR - plućna vaskularna rezistencija; CO – minutni volumen; CI – indeksirani minutni volumen

5.7 Klinički ishodi

U promatranim skupinama bolesnika nije bilo smrtnih ishoda. Skupine se nisu značajno razlikovale po dužini trajanja mehaničke ventilacije, kao ni prema udjelu ispitanika koji su trebali produženu mehaničku ventilaciju, uz napomenu da u KII skupini produženu mehaničku ventilaciju nije trebao niti jedan ispitanik. Od poslijeoperacijskih komplikacija između skupina nije zabilježena značajna razlika u učestalosti poslijeoperacijskog infarkta miokarda, cerebrovaskularnog inzulta, niti delirija. Od infektivnih komplikacija između skupina nije bilo značajnih razlika u učestalosti infekcija sternalne rane, infekcija rane na mjestu uzimanja vene safene magne, septikemije ili urinarne infekcije. Nisu zabilježene značajne razlike niti u učestalosti pojave sistemskog upalnog odgovora. U skupini BOL kod 30% bolesnika zabilježena je pojava poslijeoperacijske fibrilacije atrijske, naspram 8% u skupini KII. Opažena razlika u učestalosti, ipak se nije pokazala statistički značajnom ($p=0,072$). Poslijeoperacijski ishodi skupno su prikazani u tablici 16.

Tablica 16. Podaci o kliničkim ishodima

	BOL n=23 n(%)	KII n=24 n(%)	p
mortalitet	0	0	>0,999
meh.ventilacija (h)**	17,0 (13,5 – 19,5)	17,0 (10,8 – 18,9)	0,285 [§]
meh. ventilacija >24h	3 (13)	0	0,109
periop. MI	2 (9)	2 (8)	>0,999
krvarenje	2 (9)	0	0,234
fibrilacija atrija	7 (30)	2 (8)	0,072
infekcija - sternum	1 (4)	1 (4)	>0,999
infekcija - noga	1 (4)	0	0,489
uroinfekcija	1 (4)	2 (8)	>0,999
septikemija	3 (13)	4 (17)	>0,999
CVI	1 (4)	0	0,489
delirij	1 (4)	3 (13)	0,609
SIRS	7(30)	4 (17)	0,318

** - medijan (interkvartilni raspon); § - Mann- Whitney U test

MI – infarkt miokarda; CVI – cerebrovaskularni inzult; SIRS – sistemski upalni odgovor

Prosječne vrijednosti enzima kao markera oštećenja miokarda, prikazane su u tablici 17. U poslijeoperacijskom periodu nije bilo značajne razlike između razina CK, CK-MB niti troponina I. Vrijednosti enzima u poslijeoperacijskom periodu nisu značajno korelirale s poslijeoperacijskim vrijednostima ET-1 u koronarnoj cirkulaciji. Vrijednosti r i p za korelacije prikazane su u tablici 18.

Tablica 17. Poslijeoperacijske vrijednosti kardioselektivnih enzima (U/L)

	BOL n=23	KII n=24	p
T3 CK**	476 (373 - 825)	578 (330 – 840)	0,865 [§]
T3 CK-MB**	26 (20 – 35)	29 (23 – 34)	0,617 [§]
T3 troponin I ^{#,**}	2,2 (1,5 – 4,8)	2,1 (1,3 – 4,3)	0,587 [§]
T4 CK**	779 (560 - 1888)	971 (674 – 1784)	0,355 [§]
T4 CK-MB**	26 (19 – 47)	34 (22 – 47)	0,292 [§]
T4 troponin I ^{#,**}	1,1 (0,8 – 4,9)	1,4 (0,8 – 3,7)	0,848 [§]

** - medijan (interkvartilni raspon); [§] - Mann- Whitney U test, # - µg/L

Tablica 18. Prikaz koeficijenata korelacije između razina ET-1 u koronarnom sinusu i kardioselektivnih enzima

	r	p
ET-1 CST2 – T3 CK	-0,19	0,207
ET-1 CST2 – T3 CK-MB	-0,06	0,691
ET-1 CST2 – T3 troponin I	-0,20	0,184
ET-1 CST2 – T4 CK	-0,18	0,221
ET-1 CST2 – T4 CK-MB	-0,08	0,585
ET-1 CST2 – T4-troponin I	-0,13	0,396

r – Pearsonov koeficijent korelacije

6. DISKUSIJA

Ispitanici uključeni u studiju imali su: visok prosječni BMI, velik postotak pretilosti, relativno nezadovoljavajuće reguliranu glikemiju s višim prosječnim vrijednostima HbA1c. Manji je broj aktivnih pušača, ali je određeni broj ispitanika naveo pušenje u anamnezi s različitim vremenom prestanka pušenja te se navedeni utjecaj na razine ET-1 nije mogao adekvatno analizirati. U prijašnjim su studijama Cooke sa suradnicima i Hirai sa suradnicima pokazali korelaciju između pušenja i razina ET-1 (210, 211). U našoj grupi ispitanika nije bilo korelacije između vrijednosti BMI i početne razine ET-1, za razliku od studije Weila i suradnika koji su zaključili da je kod bolesnika sa povećanom tjelesnom težinom (BMI 25-30 kg/m²) i pretilošću (BMI > 30 kg/m²) povećana vazokonstrikcija posredovana s ET-1 (212). Kod naših ispitanika nije bilo niti značajne korelacije preoperativne koncentracije ET-1 s razinom HbA1C, a koju je u svojoj studiji opisao Pontiroli sa suradnicima (213). Rezultati naše studije komparabilni su s onima Aka i suradnika koji također nisu našli značajne korelacije između spola, dobi, razina HbA1c, pretilosti i pušenja s bazalnim vrijednostima ET-1 (163).

Kronična terapija usmjerena na kontrolu glikemije kod ispitanika je uključivala većinom peroralne antidijabetike te u malom postotku inzulin. Od hipertenzivne terapije, većina je uzimala ACE inhibitore dok su ARB bili zastupljeni u manjem postotku. Većina ispitanika u obje skupine u terapiji je imala i statine. Navedena prijeoperacijska terapija u skladu je s preporukama navedenim u radu Potenze i suradnika koji govore o ulozi različitih modaliteta terapije na smanjenje endotelne disfunkcije kod oboljelih od šećerne bolesti, a navode upravo i lijekove koje je u terapiji imala većina naših ispitanika kao preporučene (171).

Nismo pronašli statistički značajnu korelaciju dužine trajanja EKC-a s razinama ET-1 u sistemske i koronarnoj cirkulaciji u točki T2 kao ni s veličinom promjene koncentracije (Δ ET-1) između točaka T2 i T1 u sistemske cirkulaciji. Nije bilo niti statistički značajne korelacije između dužine kardioplegijskog aresta i koncentracije ET-1 u koronarnoj cirkulaciji nakon EKC-a ili veličine promjene koncentracije (Δ ET-1) između točaka T2 i T1 u koronarnoj cirkulaciji.

Koncentracije ET-1 u ovom istraživanju pokazale su značajno veće vrijednosti tijekom i nakon korištenja EKC-a. Pritom je u obje skupine zabilježen isti obrazac značajnog porasta nakon korištenja EKC-a te postepenog opadanja kroz 24 sata nakon operacije, ali bez dosezanja prijeoperativnih vrijednosti u skupini BOL. U skupini KII, vrijednosti ET-1 vratile su se nakon 24 sata na početne. Dinamiku

lučenja ET-1 sličnu opaženoj u grupi KII zabilježila je i Danova sa sur. U njihovoj je studiji razina ET-1 porasla 2 sata nakon operacije te kasnije pala gotovo na prijeoperacijske vrijednosti, što je protumačeno povećanom plućnom produkcijom ET-1 (214). U svojoj studiji, nisu pritom mjerili razine ET-1 u plućnoj cirkulaciji kao što nisu mjerene niti u našoj aktualnoj studiji. Lučenje ET-1 u skupini BOL pokazalo je slične trendove kao u našoj prethodnoj studiji kod bolesnika operiranih uz EKC (155). U navedenoj je studiji krv uzorkovana u dvije točke prije EKC-a, ali između razina ET-1 u tim točkama nije bilo razlike. Usporedbom krivulje lučenja ET-1 bolesnika iz skupine BOL, s krivuljom lučenja ET-1 kod bolesnika operiranih uz EKC iz prethodne studije (nakon prvog intraoperacijskog mjerenja), vidljivo je podudaranje trendova. U skupini KII, takvog podudaranja nema jer porast razina ET-1 nakon EKC-a nije bio toliko oštar, a unutar 24 sata došlo je do povratka na početne razine. S obzirom da je u našoj prethodnoj studiji kontrola glikemije bila provedena na način na koji je provedena u skupini BOL, navedena se razlika može pripisati kontroli glikemije kontinuiranom infuzijom inzulina.

U točki T1 zabilježena je statistički značajna korelacija koncentracije ET-1 sa sistoličkim i srednjim vrijednostima plućnog tlaka, kao i s plućnom vaskularnom rezistencijom. U točki T2 zabilježena je statistički značajna korelacija koncentracije ET-1 s plućnom vaskularnom rezistencijom. U točki T3 zabilježena je statistički značajna korelacija koncentracije ET-1 sa srednjom vrijednosti plućnog tlaka. Iako promatrani hemodinamski parametri ni u jednom trenutku nisu bili povišeni do razina kliničke značajnosti, sve navedeno sugerira pojačanu produkciju ET-1 u plućima, kako bazalno tako i djelovanjem EKC-a. Navedeno je u skladu sa istraživanjem Mathieua i suradnika koji su u svom istraživanju zaključili da su pluća značajno mjesto proizvodnje ET-1 tijekom EKC-a, te da se ta proizvodnja reflektira i na razine u sistenskoj cirkulaciji (156). Sistemske razine ET-1 u poslijeoperacijskom periodu, bez obzira na korelacije s hemodinamskim parametrima plućne cirkulacije pokazivale su trend smanjivanja tijekom 24 sata. Dorman i suradnici su u svom istraživanju zabilježili perzistentno povišene vrijednosti ET-1 u sistenskoj cirkulaciji u perioperacijskom periodu, ali i povišeni plućni tlak u istom promatranom periodu (153).

Porast razina ET-1 u koronarnoj cirkulaciji može biti uzrokovan ishemijom / reperfuzijom, manipulacijom koronarnim arterijama kao i hipotermijom. Dorman i suradnici opisuju reverziju gradijenta ET-1 (razlike između koncentracija ET-1 u sistenskoj i koronarnoj cirkulaciji) nakon djelovanja EKC-a. Bazalno je taj gradijent bio negativan, što bi sugeriralo vezanje ET-1 na receptore u srcu. Nakon EKC-a

došlo je do reverzije gradijenta koji je postao pozitivan te su zaključili da je reverzija nastala radi pojačane miokardijalne proizvodnje ET-1 (153). Povećanje miokardijalne proizvodnje ET-1 zabilježili su i drugi autori (152, 155). Potencijalni mehanizam povećanja koncentracije ET-1 u koronarnoj cirkulaciji je i hipotermija. Hladna kardioplegijska otopina (4°C) može dovesti do otpuštanja ET-1 s mjesta njegovog vezanja za receptore u koronarnoj cirkulaciji. Naime, u studiji Franca-Cerecede i suradnika, nakon hipotermijskog kardioplegijskog aresta došlo je do povećanja koncentracije ET-1 u uzorcima iz koronarnog sinusa. U uzorcima nije zabilježena povišena koncentracija prekursora ET-1, pa je zaključak da je došlo do otpuštanja već stvorenog ET-1 s receptora, a ne do nove sinteze (215). U koronarnoj cirkulaciji u obje je skupine došlo do značajnog porasta razina ET-1 nakon EKC-a. Pritom razine u koronarnoj cirkulaciji nisu bile više od sistemskih. Unatoč trendu, razlika između skupina nakon uporabe EKC-a nije dosegla statističku značajnost. Valja napomenuti da su promjene u razinama GUK-a u koronarnoj cirkulaciji također bile značajno veće nakon EKC-a, ali ni tu razlika između skupina nije dosegla statističku značajnost. Navedena dinamika lučenja ET-1 u koronarnoj cirkulaciji slična je onoj kod Maira i suradnika gdje i oni mjere nesigntifikantni porast koncentracije u koronarnom sinusu te razine ET-1 koje nisu više od sistemskih (158).

Nismo zabilježili statistički značajne razine korelacije koncentracija ET-1 u koronarnoj cirkulaciji u točki T2 s razinama kardioselektivnih enzima u poslijeoperacijskom periodu (T3 i T4). U našem ranijem istraživanju koncentracija ET-1 u koronarnoj cirkulaciji kod bolesnika operiranih uz EKC, statistički je značajno korelirala s razinom troponina 24 sata nakon operacije (155). Razliku u odnosu na prethodno istraživanje možemo objasniti ukupno nižim razinama svih promatranih enzima u poslijeoperacijskom periodu, što sugerira dobru protekciju miokarda, kao i malim brojem bolesnika koji su imali perioperacijski infarkt miokarda.

U našem istraživanju unatoč razlici u apsolutnom broju, nije bilo statistički značajne razlike u udjelu bolesnika kod kojih je postignuta adekvatna kontrola glikemije tijekom operacije. Adekvatna kontrola glikemije definirana je kao >50% vrijednosti GUK-a u zadanom rasponu (216). Ipak, zabilježena je statistički značajno veća potrošnja inzulina intraoperacijski u BOL skupini. U poslijeoperacijskom periodu je kod statistički značajno više bolesnika u skupini KII postignuta adekvatna kontrola glikemije. Zabilježena je, međutim i značajno veća potrošnja inzulina u skupini KII u poslijeoperacijskom periodu. Ukupne količine inzulina u intraoperacijskom i poslijeoperacijskom periodu nisu se statistički značajno

razlikovale. Krivulja trenda razina GUK-a u sistemskoj cirkulaciji u intraoperacijskom periodu pokazuje slične karakteristike kao i istraživanju Gandhia i suradnika. Oni bilježe porast GUK-a tijekom EKC-a i kasnije do kraja operacije kod bolesnika tretiranih bolusima inzulina. Te su vrijednosti bile značajno veće od vrijednosti u KII skupini u promatranom periodu. Kod bolesnika tretiranih kontinuiranom infuzijom inzulina, razine GUK-a se ipak smanjuju prema kraju operacije. Oni, međutim, bilježe značajno veću potrošnju inzulina kod bolesnika tretiranih s KII u intraoperacijskom periodu (91). Kod naših je bolesnika razina GUK-a tijekom EKC-a također je bila značajno viša u BOL skupini. U obje skupine došlo je do smanjenja razine GUK-a do kraja operacije, ali uz značajno veću potrošnju inzulina u BOL skupini. U studiji Gandhia i suradnika, u poslijeoperacijskom periodu postignuta je dobra kontrola glikemije u obje skupine, te su vrijednosti GUK-a gotovo iste u svim promatranim točkama. Jedina razlika odnosi se na sam početak poslijeoperacijskog perioda gdje je razlika u razinama GUK-a još uvijek rezultat značajne razlike u razinama na kraju operacije. U poslijeoperacijskom periodu nije bilo razlike u utrošenom inzulinu (91). Kod naših ispitanika u ranom je poslijeoperacijskom periodu (do T3) razina GUK-a bila slična u obje skupine, ali je kasnije značajno viša u skupini BOL. Krivulja trenda razina GUK-a u skupini KII u našem istraživanju podudara se sa trendovima u istraživanju Masle i suradnika. Oni također bilježe više razine GUK-a nakon EKC-a, pad do kraja operacije te blagi porast tijekom prvih 24 sata (217).

Usporedbom krivulja trendova razina GUK-a i koncentracija ET-1 u našem istraživanju, primjetno je da EKC podiže razine i GUK-a i ET-1 u obje skupine, ali statistički značajno više u skupini BOL i bez obzira na adekvatnu kontrolu glikemije u intraoperacijskom periodu. U poslijeoperacijskom periodu koncentracije ET-1 i dalje su značajno više u skupini BOL, sporije padaju te ne dosežu prijeoperacijske vrijednosti. U istom periodu razine GUK-a u skupini BOL ostaju visoke, a kontrola glikemije je neadekvatna u značajno većem broju bolesnika. Uz adekvatnu kontrolu glikemije u skupini KII koncentracije ET-1 su značajno niže te dosežu početne vrijednosti nakon 24 sata. Navedeno upućuje na zaključak da KII svoje učinke na koncentraciju ET-1 u sistemskoj cirkulaciji ostvaruje prvenstveno smanjenjem hiperglikemije i stabilnoj kontroli razina GUK-a.

Učinak EKC-a i glikemije na sistemski upalni odgovor u našem je istraživanju proučavan mjerenjem razina CRP-a u promatranim vremenskim točkama. Unatoč razlikama u razinama glukoze i ET-1, u promatranim točkama razine CRP-a su bile gotovo identične u obje skupine. Iako je unutar skupina došlo do statistički

značajnog porasta razine CRP-a, između skupina nije bilo statistički značajnih razlika. Hoedemeakersova i suradnici također su proučavali djelovanje metoda kontrole glikemije kao i ciljanih razina GUK-a na proinflamatorne citokine. Niti oni nisu zabilježili značajnu razliku u razini proinflamatornih citokina između skupina bez obzira na razinu GUK-a i adekvatnost kontrole glikemije (204).

Promatrani klinički ishodi nisu se značajno razlikovali između skupina što pripisujemo prvenstveno malom broju ispitanika i rijetkoj pojavnosti promatranih komplikacija. Unatoč većem udjelu bolesnika u skupini BOL kod kojih je zabilježena poslijeoperacijska fibrilacija atrijska (30% naspram 8%), opažena razlika nije bila statistički značajna. Ipak, ona je na tragu opažanja Furnarya i suradnika i Lazara i suradnika koji su zabilježili statistički značajno manju incidenciju poslijeoperacijske fibrilacije atrijske uz KII i intenzivnu kontrolu glikemije (83, 87)

Ograničenja studije uključuju mali uzorak ispitanika sa niskim kirurškim rizikom radi kojega nije bilo moguće glavne rezultate ili rezultate kontrole glikemije povezati značajnije sa kliničkim ishodima. Također, neki čimbenici vezani uz ispitanike koji potencijalno djeluju na rezultat nisu mogli biti precizno verificirani: dužina trajanja šećerne bolesti i prethodni pušački staž. Specificiranje vrste peroralne terapije koju je većina ispitanika uzimala radi reguliranja glikemije kreirala bi dodatne podgrupe ispitanika te bi statistička obrada bila otežana. Postojanje inzulinske rezistencije nije pobliže testirano. Kao marker upalnog odgovora promatran je samo CRP, a nisu promatrani drugi proinflamatorni citokini. U ovom istraživanju nije uzorkovana krv iz plućne cirkulacije niti je određivan kapacitet izlučivanja ET-1 iz pluća, a koja su se u ranijim istraživanjima pokazala kao značajan izvor ET-1. Konačno, promatran je utjecaj kontrole glikemije pomoću kontinuirane infuzije inzulina samo na ET-1 koji predstavlja jednu od komponenti u kompleksnom međudjelovanju na molekularnoj razini endotelne disfunkcije. Eventualno mjerenje razina NO ili nekog od njegovih prekursora možda bi dali potpuniji uvid na molekularne mehanizme kojima kontrola glikemije i inzulin ostvaruju svoje djelovanje u endotelnoj disfunkciji.

7. ZAKLJUČAK

Ovo randomizirano, jednostruko slijepo istraživanje pokazalo je da kontrola glikemije kontinuiranom infuzijom inzulina u odnosu na bolusnu terapiju, značajno smanjuje lučenje ET-1 u sistemskoj, ali ne i u koronarnoj cirkulaciji. Kontinuirana infuzija inzulina postiže i bolju kontrolu glikemije u poslijeoperacijskom periodu. Prijeoperacijski parametri vezani za kontrolu glikemije i tjelesnu masu nisu značajno utjecali na bazične vrijednosti ET-1. Nije bilo značajne razlike među grupama u promatranim kliničkim ishodima, mjerenju komponenti upalnog odgovora ili markera oštećenja miokarda. Učinci kontinuirane infuzije inzulina na lučenje ET-1 ostvaruju se putem smanjenja utjecaja hiperglikemije na endotelnu disfunkciju.

8. SAŽETAK

Pozadina: Endotelna disfunkcija prekursor je razvoja ateroskleroze, osobito kod bolesnika sa šećernom bolešću. ET-1 je potetni vazokonstriktor, povišen u stanjima endotelne disfunkcije. Akutna hiperglikemija EKC-a i kronična hiperglikemija šećerne bolesti dovode do pogoršanja endotelne disfunkcije kod oboljelih od šećerne bolesti koji se podvrgavaju aortokoronarnom premoštenju uz EKC. Kontrola glikemije, osobito KII efikasna je metoda sprečavanja pogoršanja endotelne disfunkcije.

Metode: U randomiziranom, jednostruko slijepom istraživanju, 47 bolesnika sa šećernom bolešću predviđenih za elektivnu operaciju aortokoronarnog premoštenja uz korištenje EKC-a, nasumično je uključeno u skupinu bolusne kontrole glikemije (BOL, 23 bolesnika) ili u skupinu gdje se glikemija regulirala kontinuiranom infuzijom inzulina (KII, 24 bolesnika). Glikemija se kontrolirala u intraoperacijskom i poslijeoperacijskom periodu prema vrijednostima GUK-a slijedeći posebne protokole. Krv za određivanje ET-1 iz sistemske cirkulacije uzorkovana je u 4 vremenske točke tijekom operacije i do 24 sata nakon operacije, a iz koronarne cirkulacije u 2 točke tijekom operacije. ET-1 određivan je ELISA metodom. Tijekom i nakon operacije praćeni su i hemodinamski parametri, kardioselektivni enzimi, pokazatelji sustavnog upalnog odgovora i klinički ishodi.

Rezultati: Kontrola glikemije sa KII dovela je do značajno manjeg lučenja ET-1 u sistemske cirkulaciji: $F(1, 45) = 6,873$; $p = 0,012$, ali ne i u koronarnoj cirkulaciji BOL $5,00 \pm 1,22$ naspram KII $4,36 \pm 1,06$; $p = 0,062$. Nije bilo razlike u kontroli glikemije u intraoperacijskom periodu uz veću potrošnju inzulina u BOL skupini $p = 0,031$. U poslijeoperacijskom periodu regulacija glikemije bila je značajno bolja u KII skupini ($p = 0,008$) uz veću potrošnju inzulina u KII skupini ($p = 0,009$). Ukupno je razina GUK-a u promatranom razdoblju bila niža u KII skupini: $F(1, 45) = 13,132$; $p = 0,001$. Nije bilo značajnih razlika u razvoju sistemskog upalnog odgovora, razini kardioselektivnih enzima ili kliničkim ishodima.

Zaključak: Kontinuirana infuzija inzulina kao metoda kontrole glikemije smanjuje lučenje ET-1 u sistemske, ali ne u koronarnoj cirkulaciji. Učinke na lučenje ET-1 vjerojatno postiže stabilnijom kontrolom glikemije i izbjegavanjem hiperglikemije KII postiže i bolju kontrolu glikemije u poslijeoperacijskom periodu i ukupno, dok na sistemski upalni odgovor i kliničke ishode nema značajniji učinak.

9. SUMMARY

INFLUENCE OF CONTINUOUS INSULIN INFUSION ON ENDOTHELIN-1 EXPRESSION DURING CORONARY ARTERY BYPASS GRAFTING IN DIABETICS

Daniel Unić, 2017

Background: Endothelial dysfunction (ED) accelerates atherosclerosis in diabetics. ET-1 is one of the most potent vasoconstrictors and a marker of endothelial dysfunction (ED). Hyperglycemia and cardiopulmonary bypass (CPB) exacerbate ED which can be prevented by perioperative glycemic control.

Methods: Forty-seven diabetics undergoing elective surgical myocardial revascularization were randomized to perioperative glycemic control by bolus (BOL) or continuous insulin infusion (KII). Systemic and coronary blood samples were obtained at predefined time points. Insulin rates were applied according to protocols. ET-1 levels were determined by ELISA. During and after procedure hemodynamic parameters, myocardial damage markers and clinical outcomes were measured.

Results: Continuous insulin infusion (KII) significantly reduced ET-1 expression in systemic $F(1,45)=6,873$; $p=0,012$, but not in coronary circulation BOL $5,00\pm1,22$ vs KII $4,36\pm1,06$; $p=0,062$. KII obtained better glycemic control in postoperative period ($p=0,008$) and reduced overall GUK during observed time period : $F(1,45)=13,132$; $p=0,001$. There were no differences in systemic inflammatory response, myocardial damage or clinical outcomes.

Conclusion: KII reduces ET-1 expression in diabetics undergoing myocardial revascularization with CPB in systemic but not coronary circulation. Effect is most likely due to better and more stable glycemia control and avoidance of hyperglycemia. Overall glycemic control was better in KII group with no effect on clinical outcomes.

10. LITERATURA

1. Schoen FJ PR. Cardiac surgical pathology. In: LH C, editor Cardiac surgery in the adult. 2 ed. New York: Mc Graw-Hill; 2003
2. Vita JA, Keaney JF, Jr. Endothelial function: a barometer for cardiovascular risk? *Circulation*. 2002; 106:640-2
3. Veerasamy M, Bagnall A, Neely D, Allen J, Sinclair H, Kunadian V. Endothelial dysfunction and coronary artery disease: a state of the art review. *Cardiol Rev*. 2015; 23:119-29
4. Schechter AN, Gladwin MT. Hemoglobin and the paracrine and endocrine functions of nitric oxide. *N Engl J Med*. 2003; 348:1483-5
5. Luscher TF, Barton M. Biology of the endothelium. *Clin Cardiol*. 1997; 20:II-3-10
6. Standards of medical care in diabetes--2010. *Diabetes Care*. 2010; 33 Suppl 1:S11-61
7. Crea F, Pupita G, Galassi AR, el-Tamimi H, Kaski JC, Davies G, et al. Role of adenosine in pathogenesis of anginal pain. *Circulation*. 1990; 81:164-72
8. Fazzini PF, Prati PL, Rovelli F, Antonucci D, Menghini F, Seccareccia F, et al. Epidemiology of silent myocardial ischemia in asymptomatic middle-aged men (the ECCIS Project). *Am J Cardiol*. 1993; 72:1383-8
9. Koistinen MJ. Prevalence of asymptomatic myocardial ischaemia in diabetic subjects. *BMJ*. 1990; 301:92-5
10. Wackers FJ, Young LH, Inzucchi SE, Chyun DA, Davey JA, Barrett EJ, et al. Detection of silent myocardial ischemia in asymptomatic diabetic subjects: the DIAD study. *Diabetes Care*. 2004; 27:1954-61
11. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. 2004; 27:1047-53
12. Berry C, Tardif JC, Bourassa MG. Coronary heart disease in patients with diabetes: part I: recent advances in prevention and noninvasive management. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 49:631-42
13. Unwin N, Shaw J, Zimmet P, Alberti KG. Impaired glucose tolerance and impaired fasting glycaemia: the current status on definition and intervention. *Diabet Med*. 2002; 19:708-23

14. Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, Dietz WH, Vinicor F, Bales VS, et al. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *JAMA*. 2003; 289:76-9
15. McTigue KM, Garrett JM, Popkin BM. The natural history of the development of obesity in a cohort of young U.S. adults between 1981 and 1998. *Ann Intern Med*. 2002; 136:857-64
16. Hammoud T, Tanguay JF, Bourassa MG. Management of coronary artery disease: therapeutic options in patients with diabetes. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 36:355-65
17. Lteif AA, Mather KJ, Clark CM. Diabetes and heart disease an evidence-driven guide to risk factors management in diabetes. *Cardiol Rev*. 2003; 11:262-74
18. Kannel WB. Metabolic risk factors for coronary heart disease in women: perspective from the Framingham Study. *Am Heart J*. 1987; 114:413-9
19. Marks JB, Raskin P. Cardiovascular risk in diabetes: a brief review. *J Diabetes complications*. 2000; 14:108-15
20. Morrish NJ, Wang SL, Stevens LK, Fuller JH, Keen H. Mortality and causes of death in the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. *Diabetologia*. 2001; 44 Suppl 2:S14-21
21. Van de Werf F, Ardissino D, Betriu A, Cokkinos DV, Falk E, Fox KA, et al. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. The Task Force on the Management of Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2003; 24:28-66
22. Nashef SA, Roques F, Sharples LD, Nilsson J, Smith C, Goldstone AR, et al. EuroSCORE II. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2012; 41:734-44
23. Goraya TY, Leibson CL, Palumbo PJ, Weston SA, Killian JM, Pfeifer EA, et al. Coronary atherosclerosis in diabetes mellitus: a population-based autopsy study. *J Am Coll Cardiol*. 2002; 40:946-53
24. Ledru F, Ducimetiere P, Battaglia S, Courbon D, Beverelli F, Guize L, et al. New diagnostic criteria for diabetes and coronary artery disease: insights from an angiographic study. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37:1543-50
25. Cariou B, Bonnevie L, Mayaudon H, Dupuy O, Ceccaldi B, Bauduceau B. Angiographic characteristics of coronary artery disease in diabetic patients compared with matched non-diabetic subjects. *Diabetes Nutr Metab*. 2000; 13:134-41

26. Werner GS, Richartz BM, Heinke S, Ferrari M, Figulla HR. Impaired acute collateral recruitment as a possible mechanism for increased cardiac adverse events in patients with diabetes mellitus. *Eur Heart J*. 2003; 24:1134- 42
27. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 2000; 321:405-12
28. Malmberg K, Ryden L, Efendic S, Herlitz J, Nicol P, Waldenstrom A, et al. Randomized trial of insulin-glucose infusion followed by subcutaneous insulin treatment in diabetic patients with acute myocardial infarction (DIGAMI study): effects on mortality at 1 year. *J Am Coll Cardiol*. 1995; 26:57- 65
29. Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2000; 106:473-81
30. Giles TD, Sander GE. Pathophysiologic, diagnostic, and therapeutic aspects of the metabolic syndrome. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2005; 7:669-78
31. Wisse BE. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol*. 2004; 15:2792- 800
32. Collins R, Armitage J, Parish S, Sleight P, Peto R. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol-lowering with simvastatin in 5963 people with diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2003; 361:2005-16
33. Knopp RH, d'Emden M, Smilde JG, Pocock SJ. Efficacy and safety of atorvastatin in the prevention of cardiovascular end points in subjects with type 2 diabetes: the Atorvastatin Study for Prevention of Coronary Heart Disease endpoints in non-insulin-dependent diabetes mellitus (ASPEN). *Diabetes Care*. 2006; 29:1478-85
34. Knowler WC, Hamman RF, Edelstein SL, Barrett-Connor E, Ehrmann DA, Walker EA, et al. Prevention of type 2 diabetes with troglitazone in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes*. 2005; 54:1150-6
35. Li G, Hu Y, Yang W, Jiang Y, Wang J, Xiao J, et al. Effects of insulin resistance and insulin secretion on the efficacy of interventions to retard development of type 2 diabetes mellitus: the DA Qing IGT and Diabetes Study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2002; 58:193-200
36. Chiasson JL, Josse RG, Gomis R, Hanefeld M, Karasik A, Laakso M. Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. *Lancet*. 2002; 359:2072-7

37. Tenenbaum A, Motro M, Fisman EZ, Adler Y, Shemesh J, Tanne D, et al. Effect of bezafibrate on incidence of type 2 diabetes mellitus in obese patients. *Eur Heart J*. 2005; 26:2032-8
38. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S, et al. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2015; 373:2117-28
39. Marso SP, Daniels GH, Brown-Frandsen K, Kristensen P, Mann JF, Nauck MA, et al. Liraglutide and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2016; 375:311-22
40. McMurray JJ, Holman RR, Haffner SM, Bethel MA, Holzhauer B, Hua TA, et al. Effect of valsartan on the incidence of diabetes and cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2010; 362:1477-90
41. Bhatt DL, Marso SP, Hirsch AT, Ringleb PA, Hacke W, Topol EJ. Amplified benefit of clopidogrel versus aspirin in patients with diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 2002; 90:625-8
42. Boden WE, O'Rourke RA, Teo KK, Hartigan PM, Maron DJ, Kostuk WJ, et al. Optimal medical therapy with or without PCI for stable coronary disease. *N Engl J Med*. 2007; 356:1503-16
43. Frye RL, August P, Brooks MM, Hardison RM, Kelsey SF, MacGregor JM, et al. A randomized trial of therapies for type 2 diabetes and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2009; 360:2503-15
44. Farkouh ME, Domanski M, Sleeper LA, Siami FS, Dangas G, Mack M, et al. Strategies for multivessel revascularization in patients with diabetes. *N Engl J Med*. 2012; 367:2375-84
45. Kappetein AP, Head SJ, Morice MC, Banning AP, Serruys PW, Mohr FW, et al. Treatment of complex coronary artery disease in patients with diabetes: 5-year results comparing outcomes of bypass surgery and percutaneous coronary intervention in the SYNTAX trial. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2013; 43:1006-13
46. Bundhun PK, Wu ZJ, Chen MH. Coronary artery bypass surgery compared with percutaneous coronary interventions in patients with insulin-treated type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of 6 randomized controlled trials. *Cardiovasc Diabetol*. 2016; 15:2

47. Kolh P, Windecker S, Alfonso F, Collet JP, Cremer J, Falk V, et al. 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization: the Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). Developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *Eur J Cardiothorac Surg.* 2014; 46:517-92
48. Beck CS. The development of a new blood supply to the heart by operation. *Ann Surg.* 1935; 102:801-13
49. Beck CS. Principles underlying the operative approach to the treatment of myocardial ischemia. *Ann Surg.* 1943; 118:788-806
50. Beck CS, Stanton E, et al. Revascularization of heart by graft of systemic artery into coronary sinus. *J Am Med Assoc.* 1948; 137:436-42
51. Mc AF, Leighninger D, Beck CS. Revascularization of the heart by vein graft from aorta to coronary sinus. *Ann Surg.* 1951; 133:153-65
52. Vineberg AM. Development of an anastomosis between the coronary vessels and a transplanted internal mammary artery. *Can Med Assoc J.* 1946; 55:117- 9
53. Longmire WP, Jr., Cannon JA, Kattus AA. Direct-vision coronary endarterectomy for angina pectoris. *N Engl J Med.* 1958; 259:993-9
54. Effler DB, Sones FM, Jr., Favaloro R, Groves LK. Coronary endarterotomy with patch-graft reconstruction: clinical experience with 34 cases. *Ann Surg.* 1965; 162:590-601
55. Sones FM, Jr., Shirey EK. Cine coronary arteriography. *Mod Concepts Cardiovasc Dis.* 1962; 31:735-8
56. Kolessov VI. Mammary artery-coronary artery anastomosis as method of treatment for angina pectoris. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1967; 54:535-44
57. Favaloro RG. Saphenous vein autograft replacement of severe segmental coronary artery occlusion: operative technique. *Ann Thorac Surg.* 1968;5:334-9
58. Barner HB, Standeven JW, Reese J. Twelve-year experience with internal mammary artery for coronary artery bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1985; 90:668-75
59. Acar C, Jebara VA, Portoghese M, Beyssen B, Pagny JY, Grare P, et al. Revival of the radial artery for coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg.* 1992; 54:652-9

60. Cheng DC, Bainbridge D, Martin JE, Novick RJ. Does off-pump coronary artery bypass reduce mortality, morbidity, and resource utilization when compared with conventional coronary artery bypass? A meta-analysis of randomized trials. *Anesthesiology*. 2005; 102:188-203
61. Dieberg G, Smart NA, King N. On- vs. off-pump coronary artery bypass grafting: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2016; 223:201- 11
62. Puskas JD, Williams WH, Mahoney EM, Huber PR, Block PC, Duke PG, et al. Off-pump vs conventional coronary artery bypass grafting: early and 1-year graft patency, cost, and quality-of-life outcomes: a randomized trial. *JAMA*. 2004;291:1841-9
63. Khan NE, De Souza A, Mister R, Flather M, Clague J, Davies S, et al. A randomized comparison of off-pump and on-pump multivessel coronary- artery bypass surgery. *N Engl J Med*. 2004; 350:21-8
64. Shroyer AL, Grover FL, Hattler B, Collins JF, McDonald GO, Kozora E, et al. On-pump versus off-pump coronary-artery bypass surgery. *N Engl J Med*. 2009; 361:1827-37
65. Gruentzig A. Results from coronary angioplasty and implications for the future. *Am Heart J*. 1982; 103:779-83
66. Sigwart U, Puel J, Mirkovitch V, Joffre F, Kappenberger L. Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty. *N Engl J Med*. 1987; 316:701-6
67. Geiss LS, Wang J, Cheng YJ, Thompson TJ, Barker L, Li Y, et al. Prevalence and incidence trends for diagnosed diabetes among adults aged 20 to 79 years, United States, 1980-2012. *JAMA*. 2014; 312:1218-26
68. Dungan KM, Braithwaite SS, Preiser JC. Stress hyperglycaemia. *Lancet*. 2009; 373:1798-807
69. Vanhorebeek I, Langouche L. Molecular mechanisms behind clinical benefits of intensive insulin therapy during critical illness: glucose versus insulin. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2009; 23:449-59
70. Mesotten D, Delhanty PJ, Vanderhoydonc F, Hardman KV, Weekers F, Baxter RC, et al. Regulation of insulin-like growth factor binding protein-1 during protracted critical illness. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87:5516-23

71. Wolfe RR, Herndon DN, Jahoor F, Miyoshi H, Wolfe M. Effect of severe burn injury on substrate cycling by glucose and fatty acids. *N Engl J Med.* 1987; 317:403-8
72. Estrada CA, Young JA, Nifong LW, Chitwood WR, Jr. Outcomes and perioperative hyperglycemia in patients with or without diabetes mellitus undergoing coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg.* 2003; 75:1392-9
73. Peters A, Kerner W. Perioperative management of the diabetic patient. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 1995; 103:213-8
74. Knapik P, Nadziakiewicz P, Urbanska E, Saucha W, Herdyska M, Zembala M. Cardiopulmonary bypass increases postoperative glycemia and insulin consumption after coronary surgery. *Ann Thorac Surg.* 2009; 87:1859-65
75. Anderson RE, Brismar K, Barr G, Ivert T. Effects of cardiopulmonary bypass on glucose homeostasis after coronary artery bypass surgery. *Eur J CardiothoracSurg.* 2005; 28:425-30
76. Van den Berghe G, Wilmer A, Milants I, Wouters PJ, Bouckaert B, Bruyninckx F, et al. Intensive insulin therapy in mixed medical/surgical intensive care units:benefit versus harm. *Diabetes.* 2006; 55:3151-9
77. Meyer C, Schwaiger M. Myocardial blood flow and glucose metabolism in diabetes mellitus. *Am J Cardiol.* 1997; 80:94A-101A
78. Ferrannini E, Santoro D, Bonadonna R, Natali A, Parodi O, Camici PG. Metabolic and hemodynamic effects of insulin on human hearts. *Am J Physiol.* 1993; 264:E308-15
79. Randle PJ. Metabolic fuel selection: general integration at the whole-body level. *Proc Nutr Soc.* 1995; 54:317-27
80. Oliver MF, Opie LH. Effects of glucose and fatty acids on myocardial ischaemia and arrhythmias. *Lancet.* 1994; 343:155-8
81. van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, Verwaest C, Bruyninckx F, Schetz M, et al. Intensive insulin therapy in critically ill patients. *N Engl J Med.* 2001; 345:1359-67
82. Furnary AP, Zerr KJ, Grunkemeier GL, Starr A. Continuous intravenous insulin infusion reduces the incidence of deep sternal wound infection in diabetic patients after cardiac surgical procedures. *Ann Thorac Surg.* 1999; 67:352-60

83. Furnary AP, Gao G, Grunkemeier GL, Wu Y, Zerr KJ, Bookin SO, et al. Continuous insulin infusion reduces mortality in patients with diabetes undergoing coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003; 25:1007-21
84. Fan Y, Zhang AM, Xiao YB, Weng YG, Hetzer R. Glucose-insulin-potassium therapy in adult patients undergoing cardiac surgery: a meta-analysis. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2011; 40:192-9
85. Bothe W, Olschewski M, Beyersdorf F, Doenst T. Glucose-insulin-potassium in cardiac surgery: a meta-analysis. *Ann Thorac Surg.* 2004; 78:1650-7
86. Lazar HL, Zhang X, Rivers S, Bernard S, Shemin RJ. Limiting ischemic myocardial damage using glucose-insulin-potassium solutions. *Ann Thorac Surg.* 1995; 60:411-6
87. Lazar HL, Chipkin SR, Fitzgerald CA, Bao Y, Cabral H, Apstein CS. Tight glycemic control in diabetic coronary artery bypass graft patients improves perioperative outcomes and decreases recurrent ischemic events. *Circulation.* 2004; 109:1497-502
88. Wiener RS, Wiener DC, Larson RJ. Benefits and risks of tight glucose control in critically ill adults: a meta-analysis. *JAMA.* 2008; 300:933-44
89. Davidson PC, Steed RD, Bode BW. Glucomander: a computer-directed intravenous insulin system shown to be safe, simple, and effective in 120,618 h of operation. *Diabetes Care.* 2005; 28:2418-23
90. Finfer S, Chittock DR, Su SY, Blair D, Foster D, Dhingra V, et al. Intensive versus conventional glucose control in critically ill patients. *N Engl J Med.* 2009; 360:1283-97
91. Gandhi GY, Nuttall GA, Abel MD, Mullany CJ, Schaff HV, O'Brien PC, et al. Intensive intraoperative insulin therapy versus conventional glucose management during cardiac surgery: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2007; 146:233-43
92. Bhamidipati CM, LaPar DJ, Stukenborg GJ, Morrison CC, Kern JA, Kron IL, et al. Superiority of moderate control of hyperglycemia to tight control in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 141:543-51.

93. Eagle KA, Guyton RA, Davidoff R, Edwards FH, Ewy GA, Gardner TJ, et al. ACC/AHA 2004 guideline update for coronary artery bypass graft surgery: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Update the 1999 Guidelines for Coronary Artery Bypass Graft Surgery). *Circulation*. 2004; 110:e340-437
94. Lazar HL, McDonnell M, Chipkin SR, Furnary AP, Engelman RM, Sadhu AR, et al. The Society of Thoracic Surgeons practice guideline series: Blood glucose management during adult cardiac surgery. *Ann Thorac Surg*. 2009; 87:663-9
95. Gornik I, Rahelic D, Husedzinovic N, Gasparovic V, Ivanovic D, Krznaric Z, et al. Guidelines for the management of hyperglycaemia in hospitalised adult patients. *Lijec Vjesn*. 2014; 136:315-23
96. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988; 332:411-5
97. Ito H, Hirata Y, Hiroe M, Tsujino M, Adachi S, Takamoto T, et al. Endothelin-1 induces hypertrophy with enhanced expression of muscle-specific genes in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circ Res*. 1991; 69:209-15
98. Wesson DE, Simoni J, Green DF. Reduced extracellular pH increases endothelin-1 secretion by human renal microvascular endothelial cells. *J Clin Invest*. 1998; 101:578-83
99. Macarthur H, Warner TD, Wood EG, Corder R, Vane JR. Endothelin-1 release from endothelial cells in culture is elevated both acutely and chronically by short periods of mechanical stretch. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994; 200:395-400
100. Boulanger CM, Luscher TF. Hirudin and nitrates inhibit the thrombin-induced release of endothelin from the intact porcine aorta. *Circ Res*. 1991; 68:1768-72
101. Imai T, Hirata Y, Emori T, Yanagisawa M, Masaki T, Marumo F. Induction of endothelin-1 gene by angiotensin and vasopressin in endothelial cells. *Hypertension*. 1992; 19:753-7
102. Matsuura A, Yamochi W, Hirata K, Kawashima S, Yokoyama M. Stimulatory interaction between vascular endothelial growth factor and endothelin-1 on each gene expression. *Hypertension*. 1998; 32:89-95

103. Woods M, Mitchell JA, Wood EG, Barker S, Walcot NR, Rees GM, et al. Endothelin-1 is induced by cytokines in human vascular smooth muscle cells: evidence for intracellular endothelin-converting enzyme. *Mol Pharmacol.* 1999; 55:902-9
104. Boulanger CM, Tanner FC, Bea ML, Hahn AW, Werner A, Luscher TF. Oxidized low density lipoproteins induce mRNA expression and release of endothelin from human and porcine endothelium. *Circ Res.* 1992; 70:1191-7
105. Hattori Y, Kasai K, Nakamura T, Emoto T, Shimoda S. Effect of glucose and insulin on immunoreactive endothelin-1 release from cultured porcine aortic endothelial cells. *Metabolism.* 1991; 40:165-9
106. Rakugi H, Tabuchi Y, Nakamaru M, Nagano M, Higashimori K, Mikami H, et al. Evidence for endothelin-1 release from resistance vessels of rats in response to hypoxia. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990; 169:973-7
107. Maeda S, Miyauchi T, Sakai S, Kobayashi T, Iemitsu M, Goto K, et al. Prolonged exercise causes an increase in endothelin-1 production in the heart in rats. *Am J Physiol.* 1998; 275:H2105-12
108. Galie N, Manes A, Branzi A. The endothelin system in pulmonary arterial hypertension. *Cardiovasc Res.* 2004; 61:227-37
109. Wagner OF, Christ G, Wojta J, Vierhapper H, Parzer S, Nowotny PJ, et al. Polar secretion of endothelin-1 by cultured endothelial cells. *J Biol Chem.* 1992; 267:16066-8
110. Russell FD, Skepper JN, Davenport AP. Detection of endothelin receptors in human coronary artery vascular smooth muscle cells but not endothelial cells by using electron microscope autoradiography. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1997; 9:820-6
111. Maguire JJ, Davenport AP. ETA receptor-mediated constrictor responses to endothelin peptides in human blood vessels in vitro. *Br J Pharmacol.* 1995; 115:191-7
112. Wright CE, Fozard JR. Regional vasodilation is a prominent feature of the haemodynamic response to endothelin in anaesthetized, spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol.* 1988; 155:201-3
113. Gasic S, Wagner OF, Vierhapper H, Nowotny P, Waldhausl W. Regional hemodynamic effects and clearance of endothelin-1 in humans: renal and peripheral tissues may contribute to the overall disposal of the peptide. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1992; 19:176-80

114. Vierhapper H, Wagner O, Nowotny P, Waldhausl W. Effect of endothelin-1 in man. *Circulation*. 1990; 81:1415-8
115. Dupuis J, Stewart DJ, Cernacek P, Gosselin G. Human pulmonary circulation is an important site for both clearance and production of endothelin-1. *Circulation*. 1996; 94:1578-84
116. Gandhi CR, Kang Y, De Wolf A, Madariaga J, Aggarwal S, Scott V, et al. Altered endothelin homeostasis in patients undergoing liver transplantation. *Liver Transpl Surg*. 1996; 2:362-9
117. Saito Y, Kazuwa N, Shirakami G, Mukoyama M, Arai H, Hosoda K, et al. Endothelin in patients with chronic renal failure. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1991; 17 Suppl 7:S437-9
118. Johnstrom P, Fryer TD, Richards HK, Harris NG, Barret O, Clark JC, et al. Positron emission tomography using 18F-labelled endothelin-1 reveals prevention of binding to cardiac receptors owing to tissue-specific clearance by ET B receptors in vivo. *Br J Pharmacol*. 2005; 144:115-22
119. Schiffrin EL. Role of endothelin-1 in hypertension and vascular disease. *Am J Hypertens*. 2001; 14:83S-9S
120. Saito Y, Nakao K, Mukoyama M, Imura H. Increased plasma endothelin level in patients with essential hypertension. *N Engl J Med*. 1990; 322:205
121. Haak T, Jungmann E, Felber A, Hillmann U, Usadel KH. Increased plasma levels of endothelin in diabetic patients with hypertension. *Am J Hypertens*. 1992; 5:161-6
122. Cardillo C, Kilcoyne CM, Wacławiw M, Cannon RO, 3rd, Panza JA. Role of endothelin in the increased vascular tone of patients with essential hypertension. *Hypertension*. 1999; 33:753-8
123. Schiffrin EL, Deng LY, Sventek P, Day R. Enhanced expression of endothelin-1 gene in resistance arteries in severe human essential hypertension. *J Hypertens*. 1997; 15:57-63
124. Juan CC, Shen YW, Chien Y, Lin YJ, Chang SF, Ho LT. Insulin infusion induces endothelin-1-dependent hypertension in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004; 287:E948-54
125. Cardillo C, Campia U, Bryant MB, Panza JA. Increased activity of endogenous endothelin in patients with type II diabetes mellitus. *Circulation*. 2002; 106:1783-7

126. Shemyakin A, Bohm F, Wagner H, Efendic S, Bavenholm P, Pernow J. Enhanced endothelium-dependent vasodilatation by dual endothelin receptor blockade in individuals with insulin resistance. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2006; 47:385-90
127. Krum H, Viskoper RJ, Lacourciere Y, Budde M, Charlon V. The effect of an endothelin-receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. Bosentan Hypertension Investigators. *N Engl J Med*. 1998; 338:784-90
128. Weber MA, Black H, Bakris G, Krum H, Linas S, Weiss R, et al. A selective endothelin-receptor antagonist to reduce blood pressure in patients with treatment-resistant hypertension: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2009; 374:1423-31
129. Wei CM, Lerman A, Rodeheffer RJ, McGregor CG, Brandt RR, Wright S, et al. Endothelin in human congestive heart failure. *Circulation*. 1994; 89:1580-6
130. Kinugawa T, Kato M, Ogino K, Osaki S, Igawa O, Hisatome I, et al. Plasma endothelin-1 levels and clinical correlates in patients with chronic heart failure. *J Card Fail*. 2003; 9:318-24
131. Pieske B, Beyersmann B, Breu V, Löffler BM, Schlotthauer K, Maier LS, et al. Functional effects of endothelin and regulation of endothelin receptors in isolated human nonfailing and failing myocardium. *Circulation*. 1999; 99:1802-9
132. Zolk O, Quattek J, Sitzler G, Schrader T, Nickenig G, Schnabel P, et al. Expression of endothelin-1, endothelin-converting enzyme, and endothelin receptors in chronic heart failure. *Circulation*. 1999; 99:2118-23
133. Spieker LE, Mitrovic V, Noll G, Pacher R, Schulze MR, Muntwyler J, et al. Acute hemodynamic and neurohumoral effects of selective ET(A) receptor blockade in patients with congestive heart failure. ET 003 Investigators. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 35:1745-52
134. Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J, Durand JB, Bies RD, Young JB, et al. Tumor necrosis factor- α and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart. *Circulation*. 1996; 93:704-11
135. Packer M, McMurray J, Massie BM, Caspi A, Charlon V, Cohen-Solal A, et al. Clinical effects of endothelin receptor antagonism with bosentan in patients with severe chronic heart failure: results of a pilot study. *J Card Fail*. 2005; 11:12-20

136. Packer M, McMurray JJV, Krum H, Kiowski W, Massie BM, Caspi A, et al. Long-Term Effect of Endothelin Receptor Antagonism With Bosentan on the Morbidity and Mortality of Patients With Severe Chronic Heart Failure: Primary Results of the ENABLE Trials. *JACC Heart failure*. 2017; 5:317-26
137. Louis A, Cleland JG, Crabbe S, Ford S, Thackray S, Houghton T, et al. Clinical Trials Update: CAPRICORN, COPERNICUS, MIRACLE, STAF, RITZ-2, RECOVER and RENAISSANCE and cachexia and cholesterol in heart failure. Highlights of the Scientific Sessions of the American College of Cardiology, 2001. *Eur J Heart Fail*. 2001; 3:381-7
138. Morawietz H, Szibor M, Goettsch W, Bartling B, Barton M, Shaw S, et al. Deloading of the left ventricle by ventricular assist device normalizes increased expression of endothelin ET(A) receptors but not endothelin-converting enzyme-1 in patients with end-stage heart failure. *Circulation*. 2000; 102:III188-93
139. McLaughlin VV, McGoon MD. Pulmonary arterial hypertension. *Circulation*. 2006; 114:1417-31
140. Christman BW, McPherson CD, Newman JH, King GA, Bernard GR, Groves BM, et al. An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 1992; 327:70-5
141. Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, et al. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 1993; 328:1732-9
142. Bressollette E, Dupuis J, Bonan R, Doucet S, Cernacek P, Tardif JC. Intravascular ultrasound assessment of pulmonary vascular disease in patients with pulmonary hypertension. *Chest*. 2001; 120:809-15
143. Chester AH, Yacoub MH. The role of endothelin-1 in pulmonary arterial hypertension. *Glob Cardiol Sci Pract*. 2014; 2014:62-78
144. Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ, Galie N, Black CM, Keogh A, et al. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med*. 2002; 346:896-903
145. Ihling C, Gobel HR, Lippoldt A, Wessels S, Paul M, Schaefer HE, et al. Endothelin-1-like immunoreactivity in human atherosclerotic coronary tissue: a detailed analysis of the cellular distribution of endothelin-1. *The J Pathol*. 1996; 179:303-8
146. Kinlay S, Behrendt D, Wainstein M, Beltrame J, Fang JC, Creager MA, et al. Role of endothelin-1 in the active constriction of human atherosclerotic coronary arteries. *Circulation*. 2001; 104:1114-8

147. Salomone OA, Elliott PM, Calvino R, Holt D, Kaski JC. Plasma immunoreactive endothelin concentration correlates with severity of coronary artery disease in patients with stable angina pectoris and normal ventricular function. *J Am Coll Cardiol.* 1996; 28:14-9
148. Qiu S, Theroux P, Marcil M, Solymoss BC. Plasma endothelin-1 levels in stable and unstable angina. *Cardiology.* 1993; 82:12-9
149. Donatelli M, Hoffmann E, Colletti I, Andolina G, Russo V, Bucalo ML, et al. Circulating endothelin-1 levels in type 2 diabetic patients with ischaemic heart disease. *Acta diabetol.* 1996; 33:246-8
150. Wainstein MV, Goncalves SC, Zago AJ, Zenker R, Burtet R, Couto Gde B, et al. Plasma endothelin-1 levels after coronary stenting in humans. *Am J Cardiol.* 2003; 92:1211-4
151. Shirai N, Naruko T, Ohsawa M, Ikura Y, Sugama Y, Hirayama M, et al. Expression of endothelin-converting enzyme, endothelin-1 and endothelin receptors at the site of percutaneous coronary intervention in humans. *J Hypertens.* 2006; 24:711-21
152. Multani MM, Ikonomidis JS, Kim PY, Miller EA, Payne KJ, Mukherjee R, et al. Dynamic and differential changes in myocardial and plasma endothelin in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2005; 129:584-90
153. Dorman BH, Bond BR, Clair MJ, Walker CA, Pinosky ML, Reeves ST, et al. Temporal synthesis and release of endothelin within the systemic and myocardial circulation during and after cardiopulmonary bypass: relation to postoperative recovery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2000; 14:540-5
154. Dorman BH, Kratz JM, Multani MM, Baron R, Farrar E, Walton S, et al. A prospective, randomized study of endothelin and postoperative recovery in off-pump versus conventional coronary artery bypass surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2004; 18:25-9
155. Unic D, Baric D, Brkic K, Planinc M, Jonjic D, Rudez I, et al. Off-pump myocardial revascularization attenuates endothelin-1 expression in systemic, pulmonary, and coronary circulation. *Wien Klin Wochenschr.* 2014; 126:710-7
156. Mathieu P, Dupuis J, Carrier M, Cernacek P, Pellerin M, Perrault LP, et al. Pulmonary metabolism of endothelin 1 during on-pump and beating heart coronary artery bypass operations. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2001; 121:1137-42

157. Hasdai D, Erez E, Gil-Ad I, Raanani E, Sclarovsky S, Barak Y, et al. Is the heart a source for elevated circulating endothelin levels during aorta-coronary artery bypass grafting surgery in human beings? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1996; 112:531-6
158. Mair P, Mair J, Bleier J, Waldenberger F, Furtwaengler W, Balogh D, et al. Coronary sinus endothelin-1 concentrations after cardioplegic cardiac arrest. *Coron Artery Dis.* 1995; 6:533-7
159. Sharma AC, Fogelson BG, Nawas SI, Vigneswaran WT, Sam AD, 2nd, Alden KJ, et al. Elevated coronary endothelin-1 but not nitric oxide in diabetics during CABG. *Ann Thorac Surg.* 1999; 67:1659-63
160. He GW, Liu MH, Yang Q, Furnary A, Yim AP. Role of endothelin-1 receptor antagonists in vasoconstriction mediated by endothelin and other vasoconstrictors in human internal mammary artery. *Ann Thorac Surg.* 2007; 84:1522-7
161. Dashwood M, Anand R, Loesch A, Souza D. Surgical trauma and vein graft failure: further evidence for a role of ET-1 in graft occlusion. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2004; 44 Suppl 1:S16-9
162. Schneider JG, Tilly N, Hierl T, Sommer U, Hamann A, Dugi K, et al. Elevated plasma endothelin-1 levels in diabetes mellitus. *Am H Hypertens.* 2002; 15:967-72
163. Ak G, Buyukberber S, Sevinc A, Turk HM, Ates M, Sari R, et al. The relation between plasma endothelin-1 levels and metabolic control, risk factors, treatment modalities, and diabetic microangiopathy in patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 2001; 15:150-7
164. Kobayashi T, Nogami T, Taguchi K, Matsumoto T, Kamata K. Diabetic state, high plasma insulin and angiotensin II combine to augment endothelin-1-induced vasoconstriction via ETA receptors and ERK. *Br J Pharmacol.* 2008; 155:974-83
165. Sachidanandam K, Hutchinson JR, Elgebaly MM, Mezzetti EM, Dorrance AM, Motamed K, et al. Glycemic control prevents microvascular remodeling and increased tone in type 2 diabetes: link to endothelin-1. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physio.* 2009; 296:R952-9
166. Iglarz M, Touyz RM, Amiri F, Lavoie MF, Diep QN, Schiffrin EL. Effect of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and -gamma activators on vascular remodeling in endothelin-dependent hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23:45-51

167. Potenza MA, Marasciulo FL, Tarquinio M, Quon MJ, Montagnani M. Treatment of spontaneously hypertensive rats with rosiglitazone and/or enalapril restores balance between vasodilator and vasoconstrictor actions of insulin with simultaneous improvement in hypertension and insulin resistance. *Diabetes*. 2006; 55:3594-603
168. Matsumoto T, Noguchi E, Kobayashi T, Kamata K. Mechanisms underlying the chronic pioglitazone treatment-induced improvement in the impaired endothelium-dependent relaxation seen in aortas from diabetic rats. *Free Radic Biol Med*. 2007; 42:993-1007
169. Matsumoto T, Lopes RA, Taguchi K, Kobayashi T, Tostes RC. Linking the beneficial effects of current therapeutic approaches in diabetes to the vascular endothelin system. *Life Sci*. 2014; 118:129-35
170. Bakker W, Eringa EC, Sipkema P, van Hinsbergh VW. Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity. *Cell Tissue Res*. 2009; 335:165-89
171. Potenza MA, Gagliardi S, Nacci C, Carratu MR, Montagnani M. Endothelial dysfunction in diabetes: from mechanisms to therapeutic targets. *Curr Med Chem*. 2009; 16:94-112
172. Vita JA. Nitric oxide-dependent vasodilation in human subjects. *Methods Enzymol*. 2002; 359:186-200
173. Silver AE, Vita JA. Shear-stress-mediated arterial remodeling in atherosclerosis: too much of a good thing? *Circulation*. 2006; 113:2787-9
174. Loscalzo J, Vita JA. Ischemia, hyperemia, exercise, and nitric oxide. Complex physiology and complex molecular adaptations. *Circulation*. 1994; 90:2556-9
175. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002; 105:1135-43
176. Muldoon LL, Rodland KD, Forsythe ML, Magun BE. Stimulation of phosphatidylinositol hydrolysis, diacylglycerol release, and gene expression in response to endothelin, a potent new agonist for fibroblasts and smooth muscle cells. *J Biol Chem*. 1989; 264:8529-36
177. Schiffrin EL. Endothelin and endothelin antagonists in hypertension. *J Hypertens*. 1998; 16:1891-5
178. King GL. The role of hyperglycaemia and hyperinsulinaemia in causing vascular dysfunction in diabetes. *Ann Med*. 1996; 28:427-32

179. Lash JM, Nase GP, Bohlen HG. Acute hyperglycemia depresses arteriolar NO formation in skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1999; 277:H1513-20
180. Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martasek P, Hogg N, Masters BS, Karoui H, et al. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95:9220-5
181. Xu B, Chibber R, Ruggiero D, Kohner E, Ritter J, Ferro A. Impairment of vascular endothelial nitric oxide synthase activity by advanced glycation end products. *FASEB J.* 2003; 17:1289-91
182. Quehenberger P, Bierhaus A, Fasching P, Muellner C, Klevesath M, Hong M, et al. Endothelin 1 transcription is controlled by nuclear factor-kappaB in AGE-stimulated cultured endothelial cells. *Diabetes.* 2000; 49:1561-70
183. Collier B, Dossett LA, May AK, Diaz JJ. Glucose control and the inflammatory response. *Nutr Clin Pract.* 2008; 23:3-15
184. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988; 37:1595-607
185. Nystrom FH, Quon MJ. Insulin signalling: metabolic pathways and mechanisms for specificity. *Cell Signal.* 1999; 11:563-74
186. Montagnani M, Golovchenko I, Kim I, Koh GY, Goalstone ML, Mundhekar AN, et al. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase enhances mitogenic actions of insulin in endothelial cells. *J Biol Chem.* 2002; 277:1794-9
187. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol.* 2003; 42:1149-60
188. Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, Esposito K, Marfella R, Cioffi M, et al. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation.* 2002; 105:804-9
189. Gielen S, Schuler G, Hambrecht R. Exercise training in coronary artery disease and coronary vasomotion. *Circulation.* 2001; 103:E1-6
190. Gokce N, Vita JA, Bader DS, Sherman DL, Hunter LM, Holbrook M, et al. Effect of exercise on upper and lower extremity endothelial function in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2002; 90:124-7
191. Hutcheson IR, Griffith TM. Release of endothelium-derived relaxing factor is modulated both by frequency and amplitude of pulsatile flow. *Am J Physiol.* 1991; 261:H257-62

192. Mathie RT, Ohri SK, Keogh BE, Williams J, Siney L, Griffith TM. Nitric oxide activity in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 112:1394-5
193. Day JR, Taylor KM. The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass. *Int J Surg.* 2005; 3:129-40
194. Hunt BJ, Parratt RN, Segal HC, Sheikh S, Kallis P, Yacoub M. Activation of coagulation and fibrinolysis during cardiothoracic operations. *Ann Thorac Surg.* 1998; 65:712-8
195. Kirklin JK, Chenoweth DE, Naftel DC, Blackstone EH, Kirklin JW, Bitran DD, et al. Effects of protamine administration after cardiopulmonary bypass on complement, blood elements, and the hemodynamic state. *Ann Thorac Surg.* 1986; 41:193-9
196. Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE, Stewart RW, Blackstone EH, Kirklin JW. Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *N Engl J Med.* 1981; 304:497-503
197. Moat NE, Shore DF, Evans TW. Organ dysfunction and cardiopulmonary bypass: the role of complement and complement regulatory proteins. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1993; 7:563-73
198. Patel KD, Cuvelier SL, Wiehler S. Selectins: critical mediators of leukocyte recruitment. *semin Immunol* 2002; 14:73-81
199. Ascione R, Lloyd CT, Underwood MJ, Lotto AA, Pitsis AA, Angelini GD. Inflammatory response after coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 2000; 69:1198-204
200. Ohata T, Mitsuno M, Yamamura M, Tanaka H, Kobayashi Y, Ryomoto M, et al. Minimal cardiopulmonary bypass attenuates neutrophil activation and cytokine release in coronary artery bypass grafting. *J Artif Organs.* 2007; 10:92-5
201. Nguyen BA, Fiorentino F, Reeves BC, Baig K, Athanasiou T, Anderson JR, et al. Mini Bypass and Proinflammatory Leukocyte Activation: A Randomized Controlled Trial. *Ann Thorac Surg.* 2016; 101:1454-63
202. Bux AS, Lindsey ML, Vasquez HG, Taegtmeyer H, Harmancey R. Glucose regulates the intrinsic inflammatory response of the heart to surgically induced hypothermic ischemic arrest and reperfusion. *Physiol Genomics.* 2017; 49:37-52
203. Albacker T, Carvalho G, Schricker T, Lachapelle K. High-dose insulin therapy attenuates systemic inflammatory response in coronary artery bypass grafting patients. *Ann Thorac Surg.* 2008; 86:20-7

204. Hoedemaekers CW, Pickkers P, Netea MG, van Deuren M, Van der Hoeven JG. Intensive insulin therapy does not alter the inflammatory response in patients undergoing coronary artery bypass grafting: a randomized controlled trial [ISRCTN95608630]. *Crit Care*. 2005; 9:R790-7
205. Schulz KF, Altman DG, Moher D. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ*. 2010; 340:c332
206. Clavien PA, Lillemoe KD. A new policy to implement CONSORT guidelines for surgical randomized controlled trials. *Ann Surg*. 2014; 260:947-8
207. Follette DM, Mulder DG, Maloney JV, Buckberg GD. Advantages of blood cardioplegia over continuous coronary perfusion or intermittent ischemia. Experimental and clinical study. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1978; 76:604-19
208. Furnary AP, Cheek DB, Holmes SC, Howell WL, Kelly SP. Achieving tight glycemic control in the operating room: lessons learned from 12 years in the trenches of a paradigm shift in anesthetic care. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*. 2006; 18:339-45
209. Donihi AC, DiNardo MM, DeVita MA, Korytkowski MT. Use of a standardized protocol to decrease medication errors and adverse events related to sliding scale insulin. *Qual Saf Health Care*. 2006; 15:89-91
210. Cooke AB, Toli E, Gomez YH, Mutter AF, Eisenberg MJ, Mantzoros CS, et al. From rest to stressed: endothelin-1 levels in young healthy smokers and non-smokers. *Metabolism*. 2015; 64:1103-11
211. Hirai Y, Adachi H, Fujiura Y, Hiratsuka A, Enomoto M, Imaizumi T. Plasma endothelin-1 level is related to renal function and smoking status but not to blood pressure: an epidemiological study. *J Hypertens*. 2004; 22:713-8
212. Weil BR, Westby CM, Van Guilder GP, Greiner JJ, Stauffer BL, DeSouza CA. Enhanced endothelin-1 system activity with overweight and obesity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011; 301:H689-95
213. Pontiroli AE, Pizzocri P, Koprivec D, Vedani P, Marchi M, Arcelloni C, et al. Body weight and glucose metabolism have a different effect on circulating levels of ICAM-1, E-selectin, and endothelin-1 in humans. *Eur J Endocrinol*. 2004; 150:195-200
214. Danova K, Pechan I, Olejarova I, Liska B. Natriuretic peptides and endothelin-1 in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Gen Physiol Biophys*. 2007; 26:194-9

215. Franco-Cereceda A, Barr G, Owall A, Liska J, Lundberg JM. Is endothelin-1 release at reperfusion of the ischaemic human heart due to cold-induced displacement of endothelin from binding sites? *Eur J Pharmacol.* 1995; 279:105-7
216. Carr JM, Sellke FW, Fey M, Doyle MJ, Krempin JA, de la Torre R, et al. Implementing tight glucose control after coronary artery bypass surgery. *Ann Thorac Surg.* 2005; 80:902-9
217. Masla M, Gottschalk A, Durieux ME, Groves DS. HbA1c and diabetes predict perioperative hyperglycemia and glycemic variability in on-pump coronary artery bypass graft patients. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2011; 25:799-803

11. PRILOZI

PRILOG 1. Informirani pristanak bolesnika

00 00 00 KBD
00 00 00 Klinička bolnica Dubrava
00 00 00
Klinika za kirurgiju
ZAVOD ZA KARDIJALNU I TRANSPLANTACIJSKU KIRURGIJU
Av. Gojka Šuška 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, Tel. 01/290 2518, 290 3523; Fax. 01/290 3819; Email: kardkir@kdbd.hr, www.kbd.hr/kardkir

INFORMIRANI PRISTANAK ISPITANIKA ZA SUDJELOVANJE U ISTRAŽIVANJU

Naziv istraživanja	"UTJECAJ KONTINUIRANE INFUZIJE INZULINA NA LUČENJE ENDOTELINA-1 TIJEKOM AORTOKORONARNOG PREMOŠTENJA U BOLESNIKA SA DIJABETES MELITUSOM"
Glavni istraživač	Mr.sc. Daniel Unić, dr.med.
Šifra istraživanja	0002/10

Potvrđujem da sam:

Pročitao sam i razumio *Obavijest ispitanika o istraživanju*, te mi je liječnik odgovorio na sva pitanja u vezi samog istraživanja.

Imao sam dovoljno vremena razmisliti o svom sudjelovanju u istraživanju i svjestan sam činjenice da je sudjelovanje u cijelosti dobrovoljno. Znam da mogu u svakom trenutku odustati od daljnjeg sudjelovanja, a da time ne utječem na kvalitetu svoga liječenja ili odnosa sa svojim liječnikom.

Shvaćam i pristajem da se potrebni podaci uzmu iz moje osobne medicinske dokumentacije, te da se obrađuju od strane ovlaštenih sudionika u ovom istraživanju.

Shvaćam da imam pravo pristupa svojim osobnim podacima te da u njima mogu ispraviti možebitne netočnosti.

Primio sam primjerak *Obavijesti ispitanika o istraživanju* te ovime potvrđujem da sam voljan dobrovoljno sudjelovati u opisanom istraživanju.

Potvrđujem svoje sudjelovanje ovoj studiji.

Ispitanik

Ime i Prezime Potpis Datum

ili

Ovlašteni zastupnik

Ime i Prezime Potpis Datum

Istraživač

Mr.sc. Daniel Unić, dr.med.

Ime i Prezime



Potpis

24.05.2017

Datum

PRILOG 2. Obavijest o istraživanju



KB D

Klinička bolnica Dubrava

ZAVOD ZA KARDIJALNU I TRANSPLANTACIJSKU KIRURGIJU

Klinika za kirurgiju

Av. Gojka Šuška 6, 10000 Zagreb, Hrvatska, Tel. 01/290 2518, 290 3523; Fax: 01/290 3819; Email: kardkir@kdb.hr, www.kbd.hr/kardkir

OBAVIJEST O ISTRAŽIVANJU

Naziv istraživanja	"UTJECAJ KONTINUIRANE INFUZIJE INZULINA NA LUČENJE ENDOTELINA-1 TIJEKOM AORTOKORONARNOG PREMOŠTENJA U BOLESNIKA SA DIJABETES MELITUSOM"
Glavni istraživač	Mr.sc. Daniel Unić, dr.med.
Šifra istraživanja	0002/10

Pozivamo Vas da sudjelujete u istraživanju čija je svrha prikupiti podatke vezane za istraživanje utjecaja kontrole povišenih razina glukoze na lučenje jednog od parametara upale i markera oštećenja endotela tijekom kardiokirurških operacija. Molimo Vas da ovu obavijest pažljivo pročitate i, ako to želite, porazgovarajte o njoj s drugima. Ukoliko mislite da nešto nije dovoljno jasno objašnjeno ili biste željeli doznati više podataka, molimo da nam to kažete.

Cilj ovog istraživanja je utvrditi hoće li kontinuirana infuzija inzulina tijekom i nakon operacije aortokoronarnog premoštenja imati učinka na smanjenje lučenja endotelina-1 u odnosu na tradicionalnu metodu kontrole glikemije. U navedenu će se svrhu prikupljati uzorci arterijske krvi tijekom i nakon operacije standardnim putem iz linije postavljene radi mjerenja arterijskog tlaka, te intraoperacijski, rutinski postavljenim kateterom u koronarni sinus.

Ispitanici koji su pozvani da sudjeluju u istraživanju su bolesnici-dijabetičari kod kojih je planirana kardiokirurška operacija aortokoronarnog premoštenja. U istraživanje neće biti uključivani bolesnici koji imaju pridruženu bolest zalistaka, bolesnici bubrežnom bolesti (kreatinin >200) i bolesnici sa EF < 40%.

Isključivo o Vama ovisi hoćete li sudjelovati u ovom istraživanju ili ne. Ukoliko odlučite sudjelovati, potpisat ćete obrazac kojim potvrđujete svoj pristanak. Međutim, sve do termina za koji je zakazana Vaša operacija, možete od istraživanja odustati, a da za to ne morate navoditi razloge. Odlučite li ne sudjelovati u ovom istraživanju ili se predomislite i odustanete prije operacije, bit će Vam osigurani isti standardi liječničkih usluga koje biste primili i da niste odustali.

Ukoliko pristanete sudjelovati, biti ćete nasumično svrstani u jednu od dvije skupine ovisno o kontroli glikemije koja će se provoditi. Postupak svrstavanja u bilo koju od skupina **NE MIJENJA** planirani operacijski zahvat, te će on u cijelosti biti proveden kako je potrebno i planirano.

Ukoliko pristanete sudjelovati, osobni podaci za potrebe studije bit će uzeti iz Vaše medicinske dokumentacije. Sve su Vaše informacije anonimne. Vi osobno imate pravo pristupa svojim osobnim podacima prikupljenim za potrebe predmetnog istraživanja, kao i ispravka možebitnih netočnosti u njima. Podaci će biti prikazivani na medicinskim/znanstvenim skupovima, a mogu se proslijediti za objavljivanje u medicinskim časopisima. Vaš identitet neće se objaviti ni u jednom od prikaza ili publikacija.

Ovu studiju organizira Odjel za kardijalnu kirurgiju KB Dubrava. Kao ispitanik u ovom istraživanju, za svoje sudjelovanje u njemu nećete primiti nikakvu financijsku naknadu. Liječnik koji vas uključuje u predmetno istraživanje također za to ne prima nikakvu novčanu naknadu. Predmetno istraživanje pregledalo je i odobrilo Etičko povjerenstvo Kliničke bolnice Dubrava.

Zahvaljujemo Vam što ste pročitali ovu obavijest.

Odlučite li sudjelovati u predmetnoj studiji, dobit ćete primjerak ove obavijesti kao i vlastiti potpisani primjerak obrasca kojim potvrđujete svoj pristanak na sudjelovanje u njoj.

Istraživač

Mr.sc. Daniel Unić, dr.med.

Ime i Prezime

Potpis

10.7.2015.

Datum

PRILOG 3. Obrazac ispitanika

RED. BROJ _____ GRUPA _____ Ime i prezime _____

Spol _____ DOB _____ god TT _____ kg TV _____ cm BMI _____

IDDM ☐ NIDDM ☐ INZULIN ☐ PERORALNA Th ☐ HbA1c _____

Art. Hipert ☐ Hiperlipidemija ☐ Pušenje ☐ Infarkt ☐ PCI ☐ KOPB ☐

LVEF (%) _____ log ES _____ ES II _____

B-blok. ☐ ACE inh. ☐ ARB ☐ Statini ☐ klopidogetel ☐

CPB _____ min CCT _____ min Broj graftova _____ Art. Revask (>1 art) ☐

	T1		T2		T3 (6h POSTOP)	T4 (24h POSTOP)
RR (sist/diast/sred)						
PAP (sist/diast/sred)						
CRP						
CO						
CI						
SVR						
PVR						
SvO2						
CK						
CK-MB						
Troponin						
	ART	CS	ART	CS	ART	ART
GUK						
K ⁺						
L						
Hct						
pO ₂						
pCO ₂						
pH						
bikarb.						
ET-1						

PRILOG 3. Obrazac ispitanika (nastavak)

INOTROPI ☐ MEH. VENTILACIJA _____ h

KOMPLIKACIJE

Periop MI ☐ LCOS ☐ AFib ☐ Infekcija sternalne rane ☐ Krvarenje ☐

Infekcija rane noga ☐ Uroinfekt ☐ Septikemija ☐ CVI ☐ Delirij ☐

Produžena meh. ventilacija ☐ Bubrežno zatajenje ☐ Dijaliza ☐

Smrt ☐

Grupa KII – intraop. shema davanja inzulina*

- odrediti GUK po dolasku u salu
- prema vrijednostima dati inicijalnu dozu i.v inzulina (bolus) i otpočeti i.v infuziju do postizanja ciljane vrijednosti (4 – 6.9 mmol/L)

		doza (i.j/h)
preop GUK [#]	I.V. bolus	i.v.infuzija
<6.9 mmol/L	0 i.j	1
6.9 – 7.8 mmol/L	2 i.j	1
7.9 – 9.9 mmol/L	4 i.j	2
10 – 11.1 mmol/L	6 i.j	4
11.2 – 12.5 mmol/L	8 i.j	6
12.6 – 13.9 mmol/L	12 i.j	10
14 – 19.4 mmol/L	15 i.j	15

*složiti 50 IU Actrapid HM u 50 ML 0.9% NaCl (F.O)

- # - i.v bolus i infuziju dati prema preoperativnim vrijednostima GUK iz tablice.
Potom titrirati dozu prema vrijednostima GUK (samo i.v. infuziju)
- ukoliko se ne postignu ciljane vrijednosti GUK-a (<6.9 mmol/L) slijedeću dozu povišati 50%
npr. GUK 7 – 2 i.j. bolus + 1 i.j/h infuzija (po tablici), slijedeći GUK 7 – 3 i.j bolus + 1.5 i.j infuzija
- ukoliko je bilo koju dozu bilo potrebno povišati za 50%, nakon slijedećeg mjerenja, predviđenu dozu za izmjerenu vrijednost GUK-a, povišati za 50% (ako je predviđeno 0 i.j po tablici, aplicirati 1 i.j.)
- mjerenje svakih 20 min (perfuzija)

Grupa BOL – Intraop. kontrola glikemije[#]

- odrediti GUK po dolasku u salu
- inicijalna doza[§] i.v inzulina (bolus) do postizanja ciljne vrijednosti (≤ 10 mmol/L)

preop. GUK [*]	doza inzulina i.v.
6.9-7.8 mmol/L	0 i.j.
7.9 – 10 mmol/L	0 i.j.
10.1 – 11.1 mmol/L	5 i.j.
11.2 – 12.5 mmol/L	10 i.j.
12.6 – 13.9 mmol/L	15 i.j.
14 - 19.4 mmol/L	20 i.j.

- prema tablici aplicirati i.v bolus inzulina u navedenoj dozi.
- dodatne bolus doze prema potrebi (po vrijednostima iz tablice)
- ukoliko se ne postignu ciljanje vrijednosti <10 mmol/L slijedeću dozu povišati 50%
- ukoliko je bilo koju dozu bilo potrebno povišati za 50%, nakon slijedećeg mjerenja:
 - 1) GUK <10 mmol/L - aplicirati 2 i.j.
 - 2) GUK >10 mmol/L – predviđenu dozu za izmjerenu vrijednost i sve slijedeće doze povećati za 100% (aplicirati dvostruku dozu) (ako je predviđeno 0 i.j, aplicirati 4 i.j

[#] - Actrapid HM

[§] - prema kalkulaciji – 1 i.j inzulina smanjuje GUK za ~ 0.6 mmol/L

^{*} - mjerenje svakih 20 min (perfuzija)

Grupa KII – shema davanja inzulina*

GUK	I.V. bolus	doza (i.j/h)	
		NIDDM	IDDM
4.4 – 6.6 mmol/L	0 i.j	0.5	1
6.7 – 9.9 mmol/L	0 i.j	1	2
10 – 13.3 mmol/L	0 i.j	2	3.5
13.4 – 16.6 mmol/L	4 i.j	3.5	5
16.7 – 19.9 mmol/L	8 i.j	5	6.5
> 20 mmol/L	12 i.j	6.5	8

***složiti 50 IU Actrapid HM u 50 ML 0.9% NaCl (F.O)**

- mjerenje svakih 2 sata (trakica) – vrijednosti i dozu unijeti u priloženu tablicu
- Ukoliko se ne postignu ciljane vrijednosti GUK-a (<6.9 mmol/L), slijedeću dozu povišati za 50% primjer; NIDDM - GUK 7 mmol/L – 1 i.j/h, slijedeći GUK 7 mmol/L – 1.5 i.j/h
- ukoliko je bilo koju dozu bilo potrebno povišati za 50%, nakon slijedećeg mjerenja, predviđenu dozu za izmjerenu vrijednost GUK-a povišati za 50% i nastaviti sa tom dozom
- u poslijeoperacijsku infuziju 10% Glukozu dodati 30 mmol KCl i 16ij inzulina
- održavati vrijednosti K^+ 4.0-5.5 mmol/L

Grupa BOL – klizna skala doziranja inzulina[#]

GUK*	doza inzulina s.c.
< 4 mmol/L	tretirati hipoglikemiju
4.1 – 8 mmol/L	0 i.j.
8.1 – 10 mmol/L	0 i.j.
10.1 – 12 mmol/L	2 i.j.
12.1 – 14 mmol/L	4 i.j.
14.1 -16 mmol/L	6 i.j.
16.1 – 18 mmol/L	8 i.j.
18.1 – 20 mmol/L	10 i.j.
> 20 mmol/L	12 i.j. i obavijestiti liječnika

- Actrapid HM

- * - mjerenje svakih 4 sata (trakica) - vrijednosti i dozu unijeti u tablicu)
 - ukoliko se ne postigne ciljane vrijednosti GUK-a (<10 mmol/L) slijedeću dozu povisiti za 50%
 - ukoliko je bilo koju dozu bilo potrebno povisiti za 50%, nakon slijedećeg mjerenja:
 - 1) GUK <10 mmol/L - aplicirati 2 i.j.
 - 2) GUK >10 mmol/L – predviđenu dozu za izmjerenu vrijednost i sve slijedeće doze povećati za 100% (aplicirati dvostruku dozu) (ako je predviđeno 0 i.j., aplicirati 4 i.j)
 - u poslijeoperacijsku infuziju 10% Glukoze dodati 30 mmol KCl i 16ij inzulina

Grupa KII – tablica evidencije vrijednosti i doza inzulina

[illegible]

Grupa BOL – tablica evidencije vrijednosti i doza inzulina

[illegible]

12. ŽIVOTOPIS

- rođen 9. rujna 1975. godine u Zagrebu

Edukacija

- 1994. maturirao u XV. gimnaziji u Zagrebu
- 2000: diplomirao na Medicinskom fakultetu u Zagrebu
- 2002. položio državni ispit pred komisijom Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske
- 2002-2010 - poslijediplomski studij Fiziologija i imunologija na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu
- rujan 2008: položio specijalistički ispit iz opće kirurgije
- rujan 2012 : položio ispit uže specijalnosti iz kardijalne kirurgije
- 2011 – poslijediplomski studij Biomedicina i zdravstvo na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu

Radno iskustvo

- 2000 –2001: proveo obavezni pripravnički staž na Odjelu za kardijalnu kirurgiju KB “Dubrava”
- 2002 - odslužio civilni vojni rok radeći kao liječnik na Odjelu za kardijalnu kirurgiju KB “Dubrava”
- 2003: početak specijalizacije iz opće kirurgije za KB “Dubrava”
- 2003 - 2004 – znanstveno usavršavanje u kardiokirurškom laboratoriju Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, SAD
- 2008 – danas: kirurg na Odjelu za kardijalnu kirurgiju KB Dubrava

Znanstvena djelatnost

- autor i koautor 33 znanstvena rada (od čega 27 CC citiranih) i preko 80 publiciranih kongresnih sažetaka na domaćim i međunarodnim kongresima i preko 600 neovisnih citata
- 2010: stekao stupanj magistra znanosti na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, smjer Biologija, predmet Fiziologija i imunologija obranivši temu: "Utjecaj izvantjelesnog krvotoka na dinamiku lučenja endotelina-1 tijekom aortokoronarnog premoštenja"

Nastavna djelatnost

- predavač na kolegiju "Upravljanje rizicima" poslijediplomskog studija "Menadžment u zdravstvu", Medicinskog fakulteta i Škole narodnog zdravlja "A. Štampar"
- predavač na poslijediplomskom studiju "Menadžment u sestrinstvu" pri Zdravstvenom veleučilištu
- sudjeluje u izvođenju vježbi i seminara za studente Medicinskog fakulteta iz kolegija "Kirurgija" u KB Dubrava

Stručna djelatnost

- područja stručnog interesa:
 - transkateterske metode u kardijalnoj kirurgiji
 - endovaskularno liječenje bolesti aorte
 - stratifikacija rizika u kardijalnoj kirurgiji
- koautor poglavlja "Bolesti aortnog zaliska" i "Stratifikacija rizika u kardijalnoj kirurgiji" u udžbeniku "Kirurgija" (T. Šoša i suradnici, Naklada Ljevak, 2007) Medicinskog fakulteta u Zagrebu
- koautor poglavlja "Bolesti aortnog zaliska" u udžbeniku "Kirurgija" (A. Kvesić i suradnici, Medicinska naklada, 2016)

Ostalo

- govori engleski i njemački jezik
- hobi: golf

13. PUBLIKACIJE AUTORA

Poglavlja u udžbenicima

1. Tomislav Mihaljević, Daniel Unić. "Bolesti aortnog zaliska" u: T. Šoša i sur. Kirurgija. Zagreb, Naklada Ljevak 2007.
2. Željko Sutlić, Daniel Unić. "Stratifikacija rizika u kardijalnoj kirurgiji" u: T. Šoša i sur. Kirurgija. Zagreb, Naklada Ljevak 2007.
3. Daniel Unić. "Bolesti aortalnog zaliska" u: A. Kvesić i sur. Kirurgija. Zagreb, Školska knjiga 2016.

Publikacije u časopisima indeksiranim u Current Contents

1. Unić D, Planinc M, Baric D, Rudez I, Blazekovic R, Senjug P, Sutlic Z. Isolated Tricuspid Valve Libman-Sacks Endocarditis in Systemic Lupus Erythematosus with Secondary Antiphospholipid Syndrome. Tex Heart Inst J. 2017;44:147-9.
2. Unić D, Sutlić Ž, Starčević B, Bradić N, Barić D, Rudež I. Successful treatment of annular rupture during transcatheter aortic valve implantation. Wien Klin Wochenschr 2017;129:284-6
3. Gašparović H, Unić D, Svetina L, Samardžić J, Čikeš M, Baričević Z et al. Impact of reduced creatinine clearance on early heart transplantation outcomes: A propensity score adjusted analysis.. Int J Cardiol 2016;203:50-2
4. Sičaja M, Barić D, Unić D, Marušić S, Vincelj J, Sičaja MN et al. Ventricular tachycardia: ominous sign of devastating prosthetic aortic valve dehiscence.. Ann Saudi Med 2015;35:472-4
5. Kristovic D, Horvatic I, Husedzinovic I, Sutlic Z, Rudez I, Baric D, Unic D, Blazekovic R, Crnogorac M. Cardiac surgery-associated acute kidney injury: risk factors analysis and comparison of prediction models. Interact Cardiovasc Thorac Surg 2015; 21:366-73
6. Unić D, Barić D, Brkić K, Planinc M, Jonjić D, Rudež I et al. Off-pump myocardial revascularization attenuates endothelin-1 expression in systemic, pulmonary, and coronary circulation. Wien Klin Wochenschr 2014;126:710-717
7. Rudez I, Planinc M, Unic D, Baric D, Blazekovic R, Radolovic P et al. Concomitant heart transplantation and replacement of ascending aorta and proximal aortic arch. Journal of Cardiovascular Surgery 2013;54:661-2
8. Unic D, Starcevic B, Sicaja M, Baric D, Rudez I, Biocic S et al. Aortic Valve Endocarditis in a Transplanted Heart After Urethral Instrumentation. Ann Thorac

- Surg 2013;96:e61-2
9. Rudez I, Legac A, Baric D, Manojlović S, Unic D, Sutlic Z. Asymptomatic Calcifying Fibrous Pseudotumor Compressing Heart Cavities. *Ann Thorac Surg* 2011;91:291-293
 10. Fabijanic D, Rudez I, Radic M, Unic D, Baric D, Kardum D. Pulmonary embolism due to the right atrial thrombus mymicking atrial myxoma. *Chinese Medical Journal* 2010;123:2483-5.
 11. Unić D, Barić D, Sutlić Ž, Rudež I, Ivković M, Planinc M et al. Long-term results after reconstructive surgery for aneurysms of the left ventricle.. *Heart Surgery Forum* 2009;12:354-6
 12. Gašparović H, Unić D, Sutlić Ž, Husedžinović I, Biočina B, Rudež I et al. Off-pump coronary bypass surgery adversely affects alveolar gas exchange. *Coll Antropol* 2008;32:293-8
 13. Baric D, Biocina B, Unic D, Sutlic Z, Rudez I, Bacic-Vrca V et al. Topical use of antifibrinolytic agents reduces postoperative bleeding: a double-blind, prospective, randomized study. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007;31:366-371
 14. Rudež I, Unić D, Sutlić Ž, Biočina B, Barić D, Ivković M et al. Endoscopic radial artery harvesting reduces postoperative pain and neurologic complications. *Heart Surgery Forum* 2007;10:E363-5
 15. Brkić K, Unić D, Sutlić Ž, Biočina B, Rudež I, Barić D et al. Neopterin kinetics after cardiac surgery with or without cardiopulmonary bypass. *Coll Antropol* 2006;30:395-400
 16. Brinster DR, Unić D, D'Ambra MN, Nathan N, Cohn LH. Midterm Results of the Edge-to-Edge Technique for Complex Mitral Valve Repair. *Ann Thorac Surg* 2006;81:1612-17
 17. Leacche M, Winkelmayer WG, Paul S, Lin J, Unić D, Rawn JD et al. Predicting survival in patients requiring renal replacement therapy after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2006;81:1385-91
 18. Leacche M, Unić D, Goldhaber SZ, Rawn JD, Aranki SF, Couper GS et al. Modern surgical treatment of massive pulmonary embolism: results in 47 consecutive patients after rapid diagnosis and aggressive surgical approach. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2005;129:1018-23
 19. Byrne JG, Leacche M, Unić D, Rawn JD, Simon DI, Rogers CD et al. Staged initial percutaneous coronary intervention followed by valve surgery ("hybrid approach") for patients with complex coronary and valve disease. *J Am Coll Cardiol* 2005;41:14-8

20. Byrne JG, Karavas AN, Leacche M, Unić D, Rawn JD, Couper GS et al. Impact of concomitant coronary artery bypass grafting on hospital survival after aortic root replacement. *Ann Thorac Surg* 2005;79:511-16
21. Unić D, Leacche M, Paul S, Rawn JD, Aranki SF, Couper GS et al. Early and late results of isolated and combined heart valve surgery in patients > or =80 years of age. *Am J Cardiol.* 2005;95:1500-3
22. Gašparović H, Rybicki FJ, Millstine J, Unić D, Byrne JG, Yucel K et al. Three dimensional computed tomographic imaging in planning the surgical approach for redo cardiac surgery after coronary revascularization.. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005;28:244-9
23. Mihaljevic T, Unić D, Byrne JG, Cohn LH. Minimally invasive valve surgery: what the pathologist should know.. *Cardiovasc Pathol* 2004;13:176-81
24. Mihaljevic T, Cohn LH, Unić D, Aranki SF, Couper GS, Byrne JG. One thousand minimally invasive valve operations: early and late results. *Ann Surg*, 2004;240:529-34
25. Unić D, Mihaljevic T, Leacche M, Gašparović H, Albert MA, Byrne JG. Surgical treatment of a large left-main coronary artery aneurysm. *Thorac Cardiovasc Surg* 2004;52:230-1
26. Biočina B, Sutlić Ž, Rudež I, Barić D, Unić D, Štambuk B. Multiple Arterial Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting: A 5-Year Experience with Clinical Results. *The Heart Surgery Forum* 2003;6(Suppl. 3):132-4
27. Sutlic Z, Unic D, Rudez I, Biocina B, Baric D, Kontic M. Implantation of aortic stentless bioprosthesis: case series. *Croat Med J.* 2002;43:649-51