

Endotelna funkcija i fenotipska obilježja bolesnika s kroničnom opstrukcijskom plućnom bolesti sklonih čestim egzacerbacijama

Vukić Dugac, Andrea

Doctoral thesis / Disertacija

2015

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:105:394575>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-22**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Andrea Vukić Dugac

**Endotelna funkcija i fenotipska obilježja
bolesnika s kroničnom opstrukcijskom
plućnom bolesti sklonih čestim
egzacerbacijama**

DISERTACIJA



Zagreb, 2015.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Andrea Vukić Dugac

**Endotelna funkcija i fenotipska obilježja
bolesnika s kroničnom opstrukcijskom
plućnom bolešću sklonih čestim
egzacerbacijama**

DISERTACIJA

Zagreb, 2015.

Disertacija je izrađena u Kliničkom bolničkom centru (KBC Zagreb) – Klinici za plućne bolesti Jordanovac, Jordanovac 104

Voditelji rada:

Doc.dr.sc. Marko Jakopović, dr. med., specijalist interne medicine - pulmolog

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb – Klinika za plućne bolesti Jordanovac

Prof.dr.sc. Alen Ružić, dr. med., specijalist interne medicine - kardiolog

Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, KBC Rijeka – Odjel za kardiologiju

ZAHVALA

Zahvaljujem svojim mentorima, doc.dr.sc. Marku Jakopoviću i prof.dr.sc. Alenu Ružiću na uloženom trudu, vrijednim savjetima i nesebičnoj pomoći.

Veliko hvala i svim djelatnicima Kabineta za funkcijsku dijagnostiku respiracijskog sustava, Klinike za torakalnu radiologiju, Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku a osobito djelatnicima Ambulante za opstruktivne bolesti pluća, Klinike za plućne bolesti Jordanovac bez kojih ovo istraživanje ne bi bilo moguće.

Na kraju, hvala mojoj obitelji.

SADRŽAJ

1	UVOD I SVRHA RADA	1
1.1	Kronična opstrukcijska plućna bolest.....	1
1.2	Fenotipovi KOPB-a	4
1.3	Komorbiditeti	8
1.4	Sistemska upala	11
1.5	Biomarkeri	13
1.6	Endotelna funkcija.....	18
1.7	Svrha rada	33
2	HIPOTEZE	35
3	CILJEVI RADA	36
3.1	Opći ciljevi	36
3.2	Specifični ciljevi	36
4	MATERIJALI I METODE.....	38
4.1	Nacrt istraživanja.....	38
4.2	Ispitanici	39
4.3	Metode	41
4.4	Statistička analiza podataka.....	50
5	REZULTATI	52
5.1	Sudionici.....	52
5.2	Plućna funkcija s obzirom na zdravstveni status	58
5.3	Indikatori težine bolesti s obzirom na zdravstveni status	64
5.4	Biljezi sistemske upale s obzirom na zdravstveni status	68
5.5	Biljezi endotelne funkcije s obzirom na zdravstveni status.....	71
5.6	Povezanost biljega endotelne disfunkcije.....	76
5.7	Povezanost biljega endotelne funkcije s kliničkim karakteristikama.....	81
5.8	Neovisna povezanost biljega endotelne funkcije sa zdravstvenim statusom ...	102
6	RASPRAVA.....	104
7	ZAKLJUČAK.....	115
8	SAŽETAK.....	117
9	SUMMARY	119
10	LITERATURA	120
11	ŽIVOTOPIS	130
12	PRILOZI	131

POPIS OZNAKA I KRATICA

ACOS	sindrom preklapanja astme i KOPB-a (engl. asthma COPD overlap syndrom)
BMI	indeks tjelesne mase (engl. body mass index)
CAT	test za procjenu KOPB-a (engl. COPD Assessment Test)
CRP	C- reaktivni protein
DLCO	difuzijski kapacitet pluća
ED	endotelna disfunkcija
ET-1	endotelin - 1
ETRA	endotelinski receptor tip A (engl. endothelin receptor type A)
ETRB	endotelinski receptor tip B (engl. endothelin receptor type B)
FE	učestali egzacerbatori (engl. frequent exacerbator)
FEV1	forsirani ekspiracijski volumen u prvoj sekundi
FMD	protokom posredovana arterijska dilatacija (engl. flow mediated dilatation)
FVC	forsirani vitalni kapacitet
GOLD	Globalna inicijativa za kroničnu opstruktivnu bolest pluća (engl. The Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease)
IFE	bolesnici sa KOPB-om koji nemaju česte egzacerbacije (engl. infrequent exacerbator)
IL	interleukin
KOPB	kronična opstruktivna bolest pluća
KVB	kardiovaskularne bolesti

LDL	lipoprotein male gustoće (engl. low-density lipoprotein)
mMRC	modificirana Medical Research Council skala zaduhe
6-MTH	šest-minutni test hoda
NMD	dilatacija na nitroglicerinu (engl. nitroglycerine mediated dilatation)
NO	dušikov oksid
NOS	sintetaza dušičnog oksida (eng. nitric-oxide sintetase)
PAI-1	inhibitor aktivatora plazminogena-1 (engl. plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1)
pCO ₂	parcijalni tlak ugljičnog dioksida
pH	kiselost
pO ₂	parcijalni tlak kisika
P/Y	pušačke godine (engl. pack/years)
SGRQ	St. George respiratorni upitnik (engl. St. George's Respiratory Questionnaire)
TAFI	inhibitor fibrinolize aktiviran trombinom (engl. thrombin activated fibrinolysis inhibitor, TAFI)
TNF- α	faktor nekroze tumora alfa (engl. tumor necrosis factor – alfa)
t-PA	tkivni tip aktivator plazminogena (engl. tissue-type plasminogen activator, t-PA)
u-PA	urokinazni tip aktivator plazminogena (engl. urokinase-type plasminogen activator, u-PA)
vWF	von Willebrandov faktor
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija (engl. World Health Organization)

1 UVOD I SVRHA RADA

1.1 Kronična opstruktivska plućna bolest

Kronična opstruktivska plućna bolest (KOPB) bolest je koju karakterizira smanjenje protoka zraka kroz dišne puteve koje nije potpuno reverzibilno, obično je progresivno i povezano s neprimjerenim upalnim odgovorom pluća na štetne čestice ili plinove, a egzacerbacije i komorbiditeti doprinose ukupnoj težini bolesti (1).

Unatoč napretku u dijagnostici i liječenju, prevalencija i mortalitet od KOPB-a i dalje raste, te se predviđa da će do 2030. godine KOPB biti treći vodeći uzrok smrti u svijetu (2). Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) 65 milijuna ljudi u svijetu boluje od KOPB, što predstavlja velik ekonomski teret za zdravstveni sustav. Naime, u Europskoj uniji 56% cjelokupnih troškova respiratornih bolesti otpada na KOPB (38,6 milijardi eura) (3), pri čemu velik dio novca odlazi na liječenje akutnih egzacerbacija.

U prošlosti je KOPB percipirana kao izolirana plućna bolest, međutim, danas je prihvaćen stav da se radi o multikomponentnoj bolesti koju karakterizira upalni odgovor pluća na različite iritanse iz okoline, praćen infiltracijom neutrofila, makrofaga i limfocita, uz ekstrapulmonalne efekte koji pridonose težini bolesti (4,5). U plućima dolazi do pojačane sekrecije sluzi, disfunkcije ciliarnog aparata, ograničenja protoka zraka u ekspiriju uz hiperinflaciju pluća i poremećenu izmjenu plinova, što će se klinički manifestirati kroničnim kašljem i iskašljavanjem uz pojavu progresivne zaduhe, u početku u naporu, a kasnije i u mirovanju. U kasnijoj fazi bolesti javljaju se i simptomi pridruženih bolesti kao što su depresija, kaheksija i osteoporoza, simptomi kardiovaskularnih bolesti te metaboličkog sindroma.

Ograničenje protoka zraka u ekspiriju glavni je patofiziološki poremećaj u KOPB-u, koji se najbolje mjeri spirometrijski. Spirometrija predstavlja „zlatni standard“ za dijagnozu i procjenu težine KOPB-a, a osnovni pokazatelji procjene su forsirani ekspiracijski volumen u prvoj sekundi (FEV1) i postotak FEV1 u odnosu na forsirani vitalni kapacitet (FVC) – FEV1/FVC% tzv. Tiffeneau-ov indeks. Farmakodinamski test, odnosno bronhodilatacijski test reverzibilnosti bronhoopstrukcije ključan je u diferencijalnoj dijagnozi astme i KOPB-a, i sastavni je dio dijagnostičke obrade KOPB-a. U dijagnostici i praćenju bolesnika sa KOPB-om koristimo se i drugim dijagnostičkim postupcima kao što su difuzijski kapacitet pluća i plinska analiza arterijske krvi. Difuzijski kapacitet pluća (DLCO) najčešće se izvodi metodom jednog udaha u kojem se ugljični monoksid koristi kao pokazatelj uspješnosti prolaska respiracijskih plinova kroz alveokapilarnu membranu, te ima dijagnostičku vrijednost osobito kod emfizema pluća, a niske vrijednosti DLCO loš su prognostički znak. Plinska analiza arterijske krvi važna je za procjenu težine KOPB-a i dijagnozu respiracijske insuficijencije.

Sve donedavno klasifikacija KOPB-a bazirala se na određivanju stupnjeva težine bolesti prvenstveno na temelju testova plućnih funkcija, te je FEV1 smatran glavnim kriterijem u prosudbi težine KOPB-a, praćenju progresije bolesti kao i prilikom odluke o samom liječenju (Tablica 1). Danas, međutim, prevladava stav da je KOPB kompleksna bolest sa multiplim kliničkim manifestacijama te se bolesnici sa KOPB-om ne mogu opisati samo procjenom težine opstrukcije dišnih puteva, već treba uzeti u obzir i druge nezavisne pokazatelje kao što je progresija zaduhe, učestalost i težina egzacerbacija, malnutricija, depresija, te procjena kvalitete života (6). Nova revizija smjernica Globalne inicijative za kroničnu opstruktivnu plućnu bolest (GOLD) iz 2011. godine promovira upravo kombiniranu procjenu KOPB-a u četiri stupnja – A, B, C, D, na temelju procjene

simptoma, spirometrijskog mjerenja stupnja bronhoopstrukcije i procjene rizika egzacerbacija (Tablica 2).

Tablica 1. Klasifikacija KOPB-a prema težini bolesti

I Blagi KOPB	FEV1/FVC<70%	FEV1 $\geq$ 80%
II Umjereni KOPB	FEV1/FVC<70%	50% $\leq$ FEV1 $\leq$ 80%
III Teški KOPB	FEV1/FVC<70%	30% $\leq$ FEV1 $\leq$ 50%
IV Vrlo teški KOPB	FEV1/FVC<70%	FEV1<30%

Tablica 2. Kombinirana procjena KOPB-a

Rizik (GOLD klasifikacija bronhoopstrukcije)	C	D	Rizik (anamneza egzacerbacija)
	A	B	
mMRC 0-1 CAT<10		mMRC≥2 CAT≥10	
Simptomi (mMRC ili CAT)			

Dugi niz godina osobitosti bolesnika nisu uzimane u obzir prilikom preporuke liječenja, velikim djelom i zbog ograničenih terapijskih mogućnosti i bez dokaza o razlici u njihovoj učinkovitosti između različitih tipova bolesnika sa KOPB-om. Razvoj različitih opcija za farmakološko i ne farmakološko liječenje doveo je i do saznanja da klinički odgovor na provedeno liječenje može biti različit među bolesnicima sa KOPB-om ovisno o pojedinim karakteristikama njihove bolesti, te se na taj način i razvio koncept

fenotipova KOPB-a definiranih kao različiti tipovi bolesnika sa prognostičkim i terapijskim značenjem (7).

1.2 Fenotipovi KOPB-a

Identifikacija kliničkih fenotipova opisana je još ranih 50-tih godina kada je Dornhorst predložio distinkciju između „ružičastog puhaljka“ (engl. „pink puffer“), definiranog kao predominantno emfizem i „modrog napuhanka“ (engl. „blue bloater“), povezanog dominantno sa kroničnim bronhitisom, a čija se deskripcija prvenstveno bazirala na subjektivnoj procjeni (6,8). Ipak, oni predstavljaju samo dva ekstremna fenotipa između čitave raznolikosti kliničkih prezentacija KOPB-a.

Klinički gledano, KOPB bolesnike karakterizira značajna heterogenost u kliničkoj prezentaciji, terapijskom odgovoru, padu plućne funkcije, učestalosti egzacerbacija, kao i u preživljavanju (7,9).

Studije vođene u posljednjih nekoliko godina pokazale su da je FEV1 dobar, ali nedovoljan deskriptor kompleksnosti bolesti koji ne korelira uvijek s kliničkim pokazateljima kao što su zaduha i drugi simptomi, tjelesna sposobnost ili egzacerbacije (5). Kontinuirano izlaganje pušenju ili toksinima iz okoliša uzrokuje opstrukciju dišnih puteva, no sa razlikom u upalnom odgovoru i stupnju oštećenja u plućnom parenhimu i dišnim putevima, a to u konačnici rezultira razlikama u kliničkoj slici, odgovoru na liječenje te brzini progresije bolesti (10). Dokazi upućuju da bolesnici sa istim vrijednostima FEV1 mogu biti vrlo različiti u kliničkom i funkcionalnom smislu, kao i u radiološkim nalazima i tijeku bolesti a prva velika studija koja je pokazala različitosti

između pojedinih KOPB subtipova bila je ECLIPSE (Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate Endpoints) studija (11,12) .

KOPB je bolest koja nije određena samo plućnom funkcijom već i nizom drugih sustavnih poremećaja koji dovode do smanjenja tjelesne sposobnosti i kvalitete život bolesnika. Stoga danas i govorimo o kliničkim fenotipovima KOPB-a. Internacionalna grupa eksperata definirala je KOPB fenotipove kao jednu ili kombinaciju osobina koje opisuju razlike između pojedinaca sa KOPB-om, a odnose se na klinički značajne posljedice kao što su simptomi, egzacerbacije, odgovor na terapiju, brzina progresije bolesti ili smrt (9). U posljednjih nekoliko godina javio se niz studija koje su pokušale identificirati različite kliničke fenotipove KOPB-a, a u svijetu je danas svakako najprihvaćenija podjela na tri klinička fenotipa Miravittlesa i suradnika prema kojoj definiramo tri različita fenotipa sa kliničkim, prognostičkim i terapijskim posljedicama: fenotip preklapanja astme i KOPB (poznat i pod akronimom ACOS – Asthma COPD overlap syndrom), fenotip bolesnika sa KOPB-om sklonog čestim egzacerbacijama takozvanog „učestalog egzacerbatora“ (engl. frequent exacerbator) i fenotip emfizem-hiperinflacija (7). S obzirom na razlike prvenstveno u terapijskom pristupu između kroničnog bronhitisa i emfizema, Miravittles je u novim revidiranim španjolskim smjernicama predložio četiri klinička fenotipa: fenotip KOPB bolesnika bez čestih egzacerbacija sa kroničnim bronhitisom ili emfizemom, fenotip preklapanja astme i KOPB-a, fenotip „učestalog egzacerbatora“ sa dominantno emfizemom i fenotip „učestalog egzacerbatora“ dominantno sa kroničnim bronhitisom (13).

Među fenotipovima osobiti interes znanstvene zajednice zaokuplja upravo fenotip bolesnika sa KOPB-om sklonog čestim egzacerbacijama tzv. „učestalog egzacerbatora“.

1.2.1 Fenotip „učestalog egzacerbatora“

Fenotip „učestalog egzacerbatora“ definiramo kao skupinu bolesnika sa KOPB-om koji unutar godinu dana imaju dvije ili više egzacerbacija koje zahtijevaju primjenu antibiotika ili oralnih kortikosteroida (14,15).

Akutna egzacerbacija KOPB-a naglo je, novonastalo pogoršanje simptoma zaduhe, kašlja i/ili iskašljavanja koje odstupa od uobičajenih dnevnih varijacija te zahtijeva promjenu u medikamentoznom liječenju. Bolesnici sa KOPB-om u prosjeku imaju 1- 4 egzacerbacije na godinu (11), pri čemu valja razlikovati novonastale egzacerbacije od onih koje su nastale zbog prethodnog terapijskog neuspjeha. Egzacerbacijom KOPB-a smatra se svako pogoršanje koje je nastalo minimalno četiri tjedna nakon završetka liječenja, odnosno 6 tjedana od početka prethodnog pogoršanja KOPB-a ukoliko nije liječeno (14).

Velika prospektivna, opservacijska ECLIPSE studija u kojoj je 2138 bolesnika sa srednje teškim do teškim KOPB-om praćeno kroz tri godine, pokazala je da pojedini bolesnici uopće nemaju egzacerbacija, dočim drugi imaju učestale egzacerbacije, pri čemu su ove dvije grupe bolesnika sa KOPB-om pokazale određenu stabilnost u broju egzacerbacija; naime bolesnik koji je imao 2 ili više egzacerbacija godišnje tijekom prve godine praćenja, imao je oko 68% šanse da će ih imati 2 ili više i u trećoj godini (11). Dobivene rezultate autori interpretiraju kao dokaz da bolesnici koji imaju učestale egzacerbacije predstavljaju zaseban fenotip KOPB-a, implicirajući postojanje određenog podležecog genetskog, biološkog ili bihevioralnog mehanizma koji determinira osjetljivost ili otpornost na rekurentne egzacerbacije neovisno od težine same bolesti (11,16).

Iz dosadašnjih istraživanja, poznato je da tijekom akutnih egzacerbacija KOPB-a dolazi do porasta sistemske upale kao i upale dišnih puteva i plućnog parenhima mjerene markerima upale (17,18,19).

Perzistentna i jače izražena upala jedna je od karakteristika ove fenotipske skupine bolesnika. „Učestali egzacerbatori“ (FE, od engl. frequent exacerbator) imaju višu razinu medijatora upale interleukina 6 (IL-6) i interleukina 8 (IL-8) kao i C-reaktivnog proteina (CRP) u stabilnoj fazi bolesti (17) (18), u periodu oporavka nakon akutne egzacerbacije (20), ali isto tako i tijekom duljeg vremenskog perioda praćenja (21). Mišljenja smo da bi upravo ova perzistentna upala nakon akutnih egzacerbacija, mogla biti objašnjenje viših bazalnih vrijednosti markera upale u ovoj fenotipskoj skupini bolesnika sa KOPB-om (20), mada pojedina istraživanja upućuju na mogućnost genetske predispozicije (22), odnosno na ulogu bakterijskih i virusnih infekcija u razvoju FE (23).

U posljednjih petnaestak godina, važnost egzacerbacija KOPB-a na progresiju same bolesti postala je sve vidljivija (22,24). Postoji nekoliko studija koje su pokazale da česte egzacerbacije ubrzavaju pad plućne funkcije u bolesnika sa srednje teškim i teškim KOPB-om (21,25), pri čemu ta veza nije linearna, naime 40% teških i izrazito teških bolesnika sa KOPB-om uopće nema egzacerbacije, a 20% srednje teških bolesnika ima česte egzacerbacije (26,27).

Egzacerbacije značajno utječu na zdravstveni status i kvalitetu života bolesnika sa KOPB-om (15,26). Bolesnici sa učestalim egzacerbacijama imaju lošiju kvalitetu života procijenjenu SGRQ (St. George respiratorni upitnik, engl. St. George's Respiratory Questionnaire) (26) i CAT upitnikom (test za procjenu KOPB-a, engl. COPD Assessment Test) (28) a isto tako zahtijevaju i češće bolničko liječenje (11). U ovoj

skupini bolesnika sa KOPB-om, stoga je od izuzetne važnosti rana terapijska intervencija, budući da kašnjenje u terapiji povećava vjerojatnost hospitalizacije (18).

„Učestali egzacerbatori“ skupina su bolesnika sa visokim rizikom za morbiditet i mortalitet (7,26,29). Studija Soler-Cataluña i suradnika iz 2005.godine po prvi je puta pokazala povezanost ukupnog mortaliteta sa frekvencijom egzacerbacija kod bolesnika sa KOPB-om (29). Učestale egzacerbacije predstavljaju nezavisni faktor rizika za sve uzroke mortaliteta u KOPB-u (29), povećavajući rizik od smrti sa svakom ponovljenom hospitalizacijom (22).

U posljednjih nekoliko godina pojavio se stanovit broj studija koje upućuju na mogućnost povećanog kardiovaskularnog komorbiditeta u ovoj fenotipskoj skupini bolesnika sa KOPB-om (30) sugerirajući da egzacerbacije uzrokuju ili pokreću kardiovaskularne manifestacije putem različitih mehanizama kao što su sistemska upala, hipoksija ili endotelna disfunkcija.

FE predstavljaju skupinu bolesnika sa KOPB-om sa težom plućnom funkcijom, bržom progresijom bolesti, lošijom kvalitetom života, povećanim mortalitetom i brojnim komorbiditetima, te je izuzetno važno ovu fenotipsku skupinu bolesnika pravovremeno prepoznati i adekvatno liječiti.

1.3 Komorbiditeti

Kronične bolesti, kao što su kardiovaskularne bolesti (KVB), karcinomi, kronične respiratorne bolesti i metabolički sindrom, u stalnom su porastu u razvijenim zemljama svijeta, pri čemu predstavljaju značajan ekonomski i socijalni teret (1,31). Najčešće kronične bolesti nerijetko se javljaju skupa (32,33), pri čemu troškovi njihovog liječenja

eksponencijalno rastu (33). Danas je poznato da se KOPB vrlo rijetko javlja kao izolirana, samostalna bolest već je uglavnom dio kompleksnog multisistemskog sindroma sa velikim brojem povezanih komorbiditeta (5).

Tradicionalno komorbiditete definiramo kao bolesti koje koegzistiraju sa primarnom bolesti interesa, iako postoji čitav niz primjera gdje je ova definicija modificirana ili ignorirana. U KOPB-u, ovakva definicija postaje još zamršenija budući da određene, istodobno prisutne bolesti mogu biti i posljedica postojećeg KOPB-a. Primjer ovakvih „komorbiditeta“ uključuje kardiovaskularne bolesti, karcinom pluća i osteoporozu. Stoga komorbiditete kod KOPB-a možemo definirati kao prisutnost jedne ili više bolesti istovremeno sa KOPB-om, neovisno o tome da li su navedeni komorbiditeti direktno povezani sa KOPB ili se javljaju neovisno o prirodnom tijeku same bolesti (32).

Brojne su studije pokazale da bolesnici sa KOPB-om imaju značajno veći rizik od pojave komorbiditeta u odnosu na zdravih populaciju (34,35,36) a kao najčešći komorbiditeti spominju se osteoporoza, mišićna slabost, kaheksija, šećerna bolest, hipertenzija, KVB, karcinomi te plućna hipertenzija (33).

Poveznica između KOPB-a i komorbiditeta još uvijek je nepoznata, međutim, danas se smatra da sistemska upala ima ključnu ulogu u patogenezi KOPB-a i nekih njegovih komorbidnih stanja kao što su karcinom pluća, KVB i kaheksija (37,38). Osim upale, određenih anatomske, mehaničke i/ili patofiziološke veze sa pojedinim komorbiditetima, smatra se da bi i hipoksija i oksidativni stres mogli imati određenu ulogu u razvoju pojedinim komorbiditeta kod bolesnika sa KOPB-om (38,39).

Komorbiditeti, generalno gledajući, imaju značajan upliv na zdravstveni ishod, broj i duljinu hospitalizacija kao i na mortalitet u bolesnika sa KOPB-om (40). Bolesnici sa KOPB-om imaju veliku vjerojatnost da umru od komorbiditeta a ne od samog KOPB-a;

kardiovaskularne bolesti (25%) i karcinomi (karcinom pluća) vodeći su uzrok smrti kod blagog i srednje teškog KOPB-a, dočim je respiratorna insuficijencija glavni uzrok smrti samo kod bolesnika sa težim oblikom KOPB-a ($FEV_1 < 60\%$) (32,33,34).

Kardiovaskularne bolesti jedan su od najčešćih komorbiditeta kod bolesnika sa KOPB-om. Istraživanje Mannino i suradnika pokazalo je da je prevalencija KVB u bolesnika sa KOPB-om 20-22% u odnosu na 9% kod ispitanika koji ne boluju od KOPB-a (41), pri čemu je ishemijska bolest srca glavni kardiovaskularni komorbiditet (11). Bolesnici sa KOPB-om imaju statistički značajno viši rizik za razvoj kongestivnog zatajenja srca, aritmije i akutnog infarkta miokarda u odnosu na zdravu populaciju (42). U prospektivnim studijama stupanj opstrukcije dišnih puteva je nezavisan prediktor kardiovaskularnog događaja upućujući na uzročan odnos između opstrukcije dišnih puteva i KVB (43,44).

KVB su jedan od glavnih uzroka hospitalizacije u bolesnika sa KOPB-om; prema pojedinim studijama, kardiovaskularne bolesti uzrok su 42% prvih i 44% drugih hospitalizacija kod bolesnika sa blagim KOPB-om (44) pri čemu je srčana insuficijencija vodeći uzrok hospitalizacija (40).

KVB su, uz akutne egzacerbacije, vodeći uzrok mortaliteta i morbiditeta u bolesnika sa KOPB-om. Studija Sin i Man na 1861 ispitanika, pokazala je da na svakih 10% pada u FEV_1 , dolazi do porasta ukupnog mortaliteta za 14% , a kardiovaskularnog mortaliteta za 28% (43,45). Iako je pušenje etablirano kao faktor rizika za aterosklerozu i KOPB, epidemiološke studije pokazale su da je povećan kardiovaskularni rizik u KOPB bolesnika nezavisan od navike pušenja (32,42).

Mehanizmi koji leže ispod veze KOPB-a i KVB još uvijek nisu poznati, međutim smatra se da bi sistemska upala mogla imati ključnu ulogu. Kao rezultat prelijevanja upale

iz dišnih puteva i plućnog parenima dolazi do pojave sistemske upale u bolesnika sa KOPB-om. Sistemska upala mogla bi stvoriti vezu između KOPB i respiratornih simptoma s jedne strane, te ateroskleroze i povećanog kardiovaskularnog rizika s druge strane (poznato je da upala ima odlučujuću ulogu u patogenezi ateroskleroze) (38,39), a endotelna disfunkcija kao preteča aterosklerotskih zbivanja, mogla bi biti ključna veza između sistemske upale i KVB u bolesnika sa KOPB-om (46).

1.4 Sistemska upala

Podrijetlo sistemske upale u KOPB-u još uvijek je nepoznato te postoji čitav niz teorija koje pokušavaju objasniti mehanizme nastanka. Pojedini autori smatraju da je sistemska upala u KOPB-u rezultat „prelijevanja“ medijatora, citokina ili aktiviranih upalnih stanica iz pluća u sistemske cirkulaciju (37), međutim studije koje su rađene nisu uspjele utvrditi povezanost neutrofila u sputumu i u sistemskoj cirkulaciji a isto tako nije nađena niti slična međuzavisnost između upalnih markera u sputumu i sistemskoj cirkulaciji (47,48).

Dosadašnja istraživanja su pokazala da pušenje može biti jedan od uzroka sistemskih upalnih bolesti kao što su ateroskleroza i KVB (49), te se pojavio i određen broj studija o ulozi pušenja u razvoju sistemske upale u bolesnika sa KOPB-om (50). Istraživanja su utvrdila povezanost pušenja sa povećanom razinom oksidativnog stresa i vaskularnom endotelnom disfunkcijom u bolesnika sa KOPB-om, a pojedine studije pronašle su perzistentnu upalu i u bivših pušača, što upućuje da pušenje može pokrenuti upalu, ali ne može objasniti neprekidnu upalu karakterističnu za KOPB (51). Kao mogući mehanizmi spominju se i određene patofiziološke promjene koje nastaju u plućima kod KOPB-a a mogu voditi ka sistemskoj upali, a to se prije svega hipoksija i hiperinflacija (52). Nađena

je korelacija između razine faktora tumorske nekroze-alfa (engl. tumor necrosis factor - alfa, skr. TNF- α) i stupnja hipoksije u bolesnika sa KOPB-om (53), kao i povezanost dinamičke hiperinflacije sa porastom TNF- α , IL-6 i IL-8 (54). Neke od studija sugeriraju povezanost sistemske upale i KOPB-a u sklopu šireg procesa starenja kao i o KOPB-u kao pokretaču za van plućnu sintezu sistemskih medijatora upale (55).

Unatoč brojnim istraživanjima podrijetlo sistemske upale u bolesnika sa KOPB-om još uvijek je nepoznato, a najvjerojatnije je multifaktorijalno (5).

Sistemska upala u bolesnika sa KOPB-om pridonosi razvoju drugih sistemskih bolesti kao što su KVB, šećerna bolest, osteoporoza i karcinom pluća koji su ujedno i najčešći komorbiditeti u KOPB-u (33). Sve veći je broj epidemioloških dokaza veze sistemske upale sa aterosklerozom, ishemijskom bolesti srca, moždanim udarom i koronarnom smrću kod bolesnika sa KOPB-om (56,57). Sistemska upala zajedno sa aktivacijom upalnih stanica i porastom proinflammatoryh citokina mogla bi biti vodeći uzrok endotelne disfunkcije u KOPB-u i na taj način pridonositi razvoju kardiovaskularnih bolesti u bolesnika sa KOPB-om (45).

Brojne su studije demonstrirale porast upalnih citokina ne samo u plućima već i u sistemske cirkulaciji, pa je tako nađena povišena vrijednost TNF- α , IL-6 i IL-8, kao i upalnih markera kao što je CRP (18,58). Pinto-Plata i suradnici pronašli su povišenu razinu CRP-a u bolesnika sa stabilnim KOPB-om (21,59), a na njihovo se istraživanje nadovezao čitav niz studija koje su pokazale porast sistemske upale tijekom akutnih egzacerbacija (11,18) ali i tijekom određenog vremenskog perioda praćenja (21), govoreći u prilog perzistentne upale u bolesnika sa KOPB-om. Meta analizom identificirano je 14 studija koje su istraživale vezu između stabilnog KOPB-a, različitog

stupnja težine bolesti i različitih markera sistemske upale kao što su CRP, fibrinogen i cirkulirajući leukociti te TNF- α (18,45).

1.5 Biomarkeri

Američki nacionalni institut zdravlja definira biomarkere kao obilježja koja se objektivno mogu mjeriti i vrednovati kao pokazatelji normalnog biološkog procesa, patogenih procesa ili farmakološkog odgovora na provedeno liječenje (60). U medicini, biomarker označava najčešće protein izmjeran u cirkulaciji čija koncentracija ukazuje na normalan ili patološki odgovor u organizmu, kao i na farmakološki odgovor na primijenjenu terapiju.

U posljednjih nekoliko godina, različiti biomarkeri bili su predmetom istraživanja u KOPB-u (61) a za istaknuti je fibrinogen i CRP, i njihovu ulogu kao markera sistemske upale u bolesnika sa KOPB-om.

1.5.1 Fibrinogen

Fibrinogen je kompleksni solubilni glikoprotein, građen od dva identična molekularna dijela, od kojih se svaki sastoji od tri različite podjedinice polipeptida označene kao alfa, beta i gama lanac i koje su međusobno povezane multiplim disulfidnim mostovima. Alfa, beta i gama polipeptidni lanci fibrinogena kodirani su od strane tri različita gena smještena na kromosomu 4(q23-32) (62).

Sintetizira se prvenstveno u jetri, te manjim dijelom u megakariocitima a kao odgovor na upalni poticaj, moguća je produkcija fibrinogena i od strane epitela u plućima i crijevu

(63). Na produkciju fibrinogena utječu brojni citokini kao i drugi čimbenici, pa tako pušenje, pretilost, proces starenja te lučenje IL-1, IL-6 i TNF- α potiče, a konzumiranje alkohola i redovita umjerena fizička aktivnost, IL-4, IL-10 i IL-13 i vitamin E koče sintezu fibrinogena (64).

Najveći dio fibrinogena nalazi se u plazmi gdje ima brojne fiziološke funkcije. Fibrinogen ima ključnu funkciju u procesu koagulacije, prvenstveno u procesu stvaranja i razvoja tromba. Jedna je od glavnih determinanta u viskoznosti krvi i agregaciji trombocita, važan je u interakciji stanice i matriksa, u procesu cijeljenja, razvoju tumora i aterogenezi. Normalna razina fibrinogena može se značajno povećati tijekom akutne faze kao odgovor na povišen IL-6, te je fibrinogen jedan od najvažnijih reaktanata akutne faze.

Smatra se da je fibrinogen uključen u brojne bolesti bilo kao direktni patogeni faktor, prognostički faktor rizika ili kao medijator upale povezan sa patogeneзом bolesti. Povišene razine fibrinogena nađene su kod šećerne bolesti, kronične renalne insuficijencije kao i kod malignoma, osobito kod karcinoma želuca (65). Fibrinogen je čvrsto i nezavisno povezan sa rizikom od KVB, što je potvrđeno brojnim prospektivnim, epidemiološkim i kliničkim studijama, te meta analizama (60,65). Bolesnici sa KOPB-om često imaju komorbiditete kao što su ishemijska bolest srca, kardijalna dekompenzacija, šećerna bolest, kaheksija, karcinom pluća ili osteoporoza, a koji mogu biti posljedica sistemskog upalnog odgovora. Stoga kao upalni marker, fibrinogen može biti indikator takvih komorbiditeta u KOPB-u.

Fibrinogen u plazmi povezan je sa povećanim rizikom za razvoj KOPB-a, progresijom bolesti i mortalitetom, i nezavisan je od drugih faktora rizika, kao što su dob, pušenje i plućna funkcija (63). Povećana razina fibrinogena u plazmi povezana je sa bržim padom

FEV1 (21,63,66) te dobro korelira sa težinom bolesti mjerenom prema GOLD-u. Studija Donaldson i suradnika pokazala je da bolesnici sa KOPB-om koji imaju više vrijednosti fibrinogena imaju brži pad FEV1 u periodu praćenja, te bi fibrinogen mogao funkcionirati kao dobar marker aktivnosti bolesti (21). Neke od dosadašnjih studija upućuju na moguću ulogu fibrinogena u prognozi progresije bolesti (66). Velika meta analiza Danesh i suradnika pokazala je jasnu korelaciju između porasta fibrinogena u plazmi i povećanog mortaliteta u bolesnika sa KOPB-om (65).

Više vrijednosti fibrinogena karakteristika su stabilnog KOPB-a, nezavisno od pušačkog statusa, a porast se prati i tijekom akutnih egzacerbacija najvjerojatnije uslijed sistemske upale (18). Pojedine studije sugeriraju ulogu fibrinogena u predviđanju egzacerbacija; u ECLIPSE studiji, utvrđena je povezanost između povišenog fibrinogena u plazmi sa povećanim rizikom od egzacerbacija u bolesnika sa srednje teškim i teškim KOPB-om (11). Fibrinogen se pokazao osobito korisnim u razlikovanju „učestalih egzacerbatora“ od bolesnika sa KOPB koji nemaju česte egzacerbacije što se povezuje sa povećanim rizikom za hospitalizacije zbog akutnih egzacerbacija (18). Na temelju rezultata dosadašnjih studija može se zaključiti da je fibrinogen obećavajući biomarker u KOPB-u, osobito za probir bolesnika sa povećanim rizikom od egzacerbacija i mortaliteta, te kao marker za praćenje uspjeha liječenja (60).

1.5.2 CRP

C-reaktivni protein (CRP) pripada pentraksinskoj proteinskoj porodici. Po sastavu je glikoprotein molekularne mase 110 kD a prema obliku prstenasti pentamer čiju sintezu kodira gen koji se nalazi na kratkom kraku kromosoma 1 (67).

CRP u plazmi sintetizira se gotovo isključivo u jetri od strane hepatocita, dominantno pod kontrolom citokina IL-6, mada su i druga mjesta sinteze i moguće sekrecije pronađena (67). Brojni čimbenici utječu na vrijednosti CRP-a u plazmi kao što su fizički napor, starost, trudnoća, pušenje, hiperkolesterolemija ili pak uzimanje oralnih kontraceptiva (67).

CRP najpoznatiji je protein akutne faze. Odgovor akutne faze uključuje nespecifičan fiziološki i biokemijski odgovor na oštećenja tkiva, infekcije, upale i maligne neoplazme u kojem sudjeluje barem 40 proteina plazme koje definiramo kao proteine akutne faze a uključuje koagulacijske proteine, faktore komplementa, antiproteaze i transportne proteine (60).

Kada je otpušten u sistemska cirkulaciju, CRP može pojačati produkciju drugih upalnih citokina, aktivirati sustav komplementa, promovirati korištenje LDL od strane makrofaga, ubrzati adheziju leukocita za vaskularni endotel (ulaziti u interakciju sa endotelnim stanicama da stimulira produkciju IL-6 i ET-1), i na taj način pojednostaviti upalnu kaskadu (38,68).

C-reaktivni protein osjetljiv je marker sistemske upale, te postoji čitav niz studija koje su analizirale ulogu CRP-a u bolestima u kojima sistemska upala igra važnu ulogu kao što su KVB, šećerna bolest, hipertenzija, pa i KOPB (60,68).

Brojne kliničke i populacijske studije pokazale su da koncentracija CRP-a ima značajnu prediktivnu vrijednost u patogenezi KVB (68) čak i ako uzmemo u obzir i druge kardiovaskularne čimbenike rizika kao što su dob, pušenje, pretilost, dijabetes, hiperkolesterolemija i hipertenzija. CRP se pokazao kao najmoćniji upalni pokazatelj budućih kardiovaskularnih rizika (68) a koristan je i za praćenje učinkovitosti liječenja (56,67). C reaktivni protein igra važnu ulogu u procesima aterogeneze gdje između

ostaloga povećava otpuštanje ET-1 i na taj način doprinosi razvoju endotelne disfunkcije koja predstavlja prvi korak u razvoju aterosklerotskog plaka. Osim kod kardiovaskularnih bolesti, povišena razina CRP-a nađena je i kod šećerne bolesti i arterijske hipertenzije (67).

Budući da brojni dokazi upućuju da je KOPB kompleksna kronična upalna bolest koja uključuje različite upalne stanice i medijatore, CRP kao marker sistemske upale vrlo je rano postao objekt brojnih istraživanja. Nekoliko studija pokazalo je da bolesnici sa stabilnim KOPB-om imaju više koncentracije CRP-a od zdravih kontrola (69), pri čemu CRP može biti pokazatelj težine bolesti. Meta analiza Zhang i suradnika potvrdila je rezultate ovih studija što upućuje na postojanje perzistentne sistemske upale u KOPB bolesnika te se ističe važnost mjerenja CRP-a u bolesnika sa stabilnim KOPB-om (70). Više vrijednosti CRP-a nađene su kod težeg oblika KOPB-a u komparaciji sa srednje teškim, međutim nisu nađene značajne razlike između bolesnika sa blagim i srednje teškim KOPB-om sugerirajući da bi upalni proces mogao biti samo limitirajući i reverzibilan u ranim stadijima bolesti (18). Kako bolest napreduje upala postaje perzistentna i producira ekstrapulmonalne manifestacije koje mogu voditi ka većem porastu CRP-a u bolesnika sa KOPB-om koji ujedno imaju i jače izraženu opstrukciju dišnih puteva.

Rezultati epidemioloških studija također su pokazali inverzni odnos između sistemske koncentracije CRP-a i FEV1 (59). Nedavna istraživanja utvrdila su povezanost viših vrijednosti CRP-a s ubrzanim padom FEV1 i porastom smrtnosti u bolesnika s blagim do umjerenim KOPB (69), što upućuje na moguću ulogu CRP-a kao markera progresije bolesti (71) (mjerenje CRP-a na taj način omogućilo bi identifikaciju bolesnika s visokim rizikom od razvoja bolesti i smrtnosti).

Velika studija Thomsen i suradnika na 6574 bolesnika sa KOPB-om u kojoj su praćena sva tri najvažnija markera sistemske upale (CRP, fibrinogen i leukociti), pokazala je povezanost između porasta vrijednosti markera u plazmi i učestalosti egzacerbacija, tako da bi CRP mogao biti i dobar marker fenotipa FE (72).

Današnja primjena CRP-a isključivo u dijagnostici akutnih egzacerbacija vjerujemo da će se promijeniti u budućnosti, te da će se CRP pozicionirati kao koristan biomarker u praćenju bolesnika sa KOPB-a kao i otkrivanju fenotipa „učestalih egzacerbatora“.

1.6 Endotelna funkcija

Endotel je najveći organ u tijelu, izgrađen od 1 do 6×10^{13} endotelnih stanica, koje u sloju debljine 0,5 do 1 μm , prekrivaju unutarnje stijenke svih cirkulacijskih šupljina površine od 4.000 do 7.000 m^2 (73). Dugo se smatralo da zdravi endotel ima funkciju malo veću od polupropusne membrane ocrtavajući vaskulaturu, međutim danas je uz brojne druge funkcije, endotel prepoznat kao ključni regulator vaskularne homeostaze (74).

Osim tradicionalno prihvaćene uloge endotela u selektivnoj kontroli prometa tvari, proizvodnji strome međustaničnog matriksa i prevenciji zgrušavanja, endotelne stanice imaju i čitav niz drugih važnih funkcija. One prepoznaju humoralne, mehaničke i hemodinamičke događaje, te se na njih prilagođavaju akutnim i kroničnim promjenama. Zdrav endotel ima ulogu moćne enzimske barijere, igra ključnu ulogu u regulaciji vaskularnog tonusa i proliferaciji glatkih mišićnih stanica, kao i u stvaranju adhezijskih molekula i izlučivanju citokina. U endotelnim se stanicama odvija i niz drugih važnih bioloških procesa – sintetiziraju se čimbenici rasta i agregacijsko-koagulacijskog puta,

nastaju receptori za lipoproteine i inzulin, održavaju aktivnosti lipoproteinske lipaze i angiotenzin - konvertaze, metaboliziraju noradrenalin i serotonin, te stvaraju produkti arahidonske kiseline. Endotelne stanice tako posjeduju značajne mehaničke, metaboličke i sintetske funkcije. Svojim autokrinim, parakrinim i endokrinim lučenjem, one djeluju na niz staničnih linija – trombocite, leukocite i glatke mišićne stanice, ali i na druga, različito udaljena tkiva (75).

Sposobnost izazivanja vazodilatacije u odgovoru na naglu promjenu protoka (žilni stres) jedna je od glavnih odlika prikladne endotelne funkcije. Krv u lumenu djeluje na stjenku žile dvjema ortogonalnim silama. Prva je frikcijska sila koja je još poznata i kao sila smicanja (engl. shear stress) i koja djeluje tangencijalno na jedinicu površine stjenke. Druga, izravna distenzijska sila, djeluje okomito i izravno, i u biti odgovara krvnom tlaku. Učinak hemodinamskih sila stvara trenje sa stjenkom, a pritiskom na luminalnu površinu i rastezanje bazalne membrane. Endotelne strukture prepoznaju nastale hemodinamske promjene i reagiraju gotovo trenutačnim promjenama u strukturi staničnih membrana, staničnoj organizaciji i biokemijskim procesima u samim endotelnim stanicama (76). Ta međusobno povezana zbivanja dio su jedinstvene i nespecifične reakcije kojom započinje niz akutnih i kroničnih adaptacijskih odgovora endotela na izravne podražaje.

Regulacija vaskularnog tonusa rezultat je balansiranja između vazodilatacijskih i vazokonstriksijskih tvari koje luči endotel kao odgovor na različite mehaničke podražaje (shear stres, rastezanje), metaboličke situacije (npr. parcijalni tlak kisika), trombocitne i koagulacijske produkte (npr. trombin), receptorske agoniste (npr. acetilkolin, bradikinin, serotonin, P supstanca). Endotelni čimbenici koji djeluju vazokonstriksijski jesu brojni, a najvažnijima se smatraju angiotenzin II, endotelin-1 (ET-1), faktor aktivacije trombocita (engl. platelet activating factor), endotelni kontraktilni čimbenici ovisni o

ciklooksigenazi (engl. endothelium-derived cyclooxygenase-dependent contracting factors), tromboksan A₂, superoksid anion i prostaglandin H₂. Osim izravnog vazokonstriktivnog učinka, ET-1 povećava učinke drugih vazoaktivnih peptida, poput angiotenzina II, noradrenalina i serotoninina, te sudjeluje u leukocitnoj i trombocitnoj aktivaciji. Među vazodilatacijskim efektorima ističe se dušikov oksid (NO), a valja spomenuti i sekundarne vazodilatatore u koje ubrajamo prostaciklin i endotelni hiperpolarizirajući čimbenik (engl. endothelium derived hyperpolarizing factor). NO proizveden i otpušten u endotelu snažan je vazodilatator i ima ključnu ulogu za normalnu funkciju endotela, odnosno za održavanje tonusa krvnih žila. Dušični oksid sintetizira se od aminokiseline arginina u procesu koji katalizira sintetaza dušičnog oksida (eng. nitric-oxide sintetase NOS), a poluživot mu je vrlo kratak, nekoliko sekundi. Reagira sa slobodnim radikalima, koji utječu na njegovu degradaciju i na taj način remete endotelnu funkciju. Njegova uloga u homeostazi vaskularnog tonusa od izuzetne je važnosti. Normalna produkcija, kao i brzina degradacije moraju biti u ravnoteži (76,77).

Možemo reći da je regulacija vaskularnog tonusa endotelom, uglavnom, balansirana s NO, kao glavnim vazodilatatorom i ET-1 i angiotenzinom II kao glavnim vazokonstriktorima (77).

Ovo stanje balansirane endotelne regulacije funkcije krvne žile mijenja se pod utjecajem niza stanja. Fenotip neaktivirane, „mirne“ endotelne stanice je antikoagulantni i vazodilatacijski, međutim kao odgovor na različite štetne stimuluse, endotel prolazi fenotipsku modulaciju u neprilagodljivo stanje najčešće znano kao endotelna disfunkcija, koje je karakterizirano gubitkom ili disregulacijom homeostatskih mehanizama efikasnim u zdravoj endotelnoj stanici. Endotelna disfunkcija (ED) se razvija pod djelovanjem mehaničkih podražaja, brojnih bioloških medijatora poput endotoksina, histamina,

leukotriena, IL-1, IL-2, TNF- α , prostaglandina I₂ i E₂, te angiotenzina II, ali i kao izravni odgovor na većinu poznatih kardiovaskularnih rizičnih čimbenika (73,78,79). Endotel različitim mehanizmima prilagodbe nastoji kompenzirati mehanička i kemijska oštećenja žilnih stjenki. Gubitak kontrole nad tim reparacijskim procesima vodi nastanku trajne, neprikladne endotelne aktivacije poznate pod nazivom endotelna disfunkcija (78). Ovo patofiziološko stanje povezano je sa pojačanom ekspresijom adhezijskih molekula, pojačanom sintezom proinflammatoryh i prokoagulantnih faktora, povećanim oksidativnim stresom kao i poremećajem u regulaciji vaskularnog tonusa (74,79).

Endotelna disfunkcija ključni je mehanizam kronične progresije ateroskleroze, jasno definiran faktor akutne destabilizacije aterosklerotskog plaka, te perzistentni poremećaj u sindromu kroničnog srčanog zatajivanja (80). Svi dobro poznati faktori rizika za aterosklerozu kao što su dob, pušenje, hipertenzija, hiperlipidemija, šećerna bolest i hiperhomocistemija pridonose kardiovaskularnom mortalitetu i morbiditetu upravo oštećenjem normalne endotelne funkcije (81). Niz studija pokazao je vezu endotelne disfunkcije sa stanjima sa sistemskom upalom kao što su reumatoidni artritis (82), šećerna bolest i policistični ovariji (83), a postoji i određen broj radova koji upućuju na postojanje endotelne disfunkcije i kod bolesnika sa KOPB-om (84,85). Neke od recentnih studija sugeriraju da je moguća veza između povećanog kardiovaskularnog mortaliteta i sistemske upale kod bolesnika sa KOPB-om upravo endotelna disfunkcija (86,87,88) i izravno upućuju na potrebu daljnjeg istraživanja ove pretpostavljene povezanosti.

1.6.1 FMD- Neinvazivna procjena endotelne funkcije visokorezolucijskim ultrazvukom – protokom posredovana arterijska dilatacija (FMD)

Endotelna disfunkcija karakterizirana je smanjenom sposobnošću oslobađanja NO. Kako je riječ o difuzibilnoj molekuli iznimno kratkog poluvijeka života, sposobnost žilnog endotela da oslobađa NO procjenjuje se posredno, procjenjujući sposobnost arterijske dilatacije na stres izazvan naglom promjenom protoka. U navedenom je smislu danas iznimno dobro atribuirana metoda protokom posredovane arterijske dilatacije (engl. flow mediated dilatation – FMD).

Visokorezolucijski ultrazvučni test protokom posredovane arterijske dilatacije, ili dilatacije ovisne o protoku ispituje razliku između bazalnog promjera perifernih arterija i promjera za vrijeme dilatacije. Arterijska vazodilatacija, ovisna o endotelu, može se potaknuti lokalnom primjenom biološki aktivnih tvari (kao što su acetil - kolin, adenozin i papaverin) ili pak primjenom fizikalnih metoda izazivanja žilnog stresa s naglim povećanjem protoka (manipulacije izazivanja lokalizirane reaktivne ishemije, nagli fizički napor ili izlaganje hladnoći). Poticanje žilne reakcije služi procjeni endotelnog učinka koji se može kvantificirati promjenom žilnog promjera, protoka ili tkivne perfuzije.

Zlatni standard za procjenu endotelne funkcije su invazivni testovi s intraarterijskom aplikacijom vazoaktivnih tvari (acetil - kolina), međutim upravo zbog svoje invazivnosti vrlo se rijetko koriste. Osim invazivnih testova postoji još čitav niz testova kao što su protonska emisiona tomografija, kontrastna ehokardiografija i magnetska rezonancija s faznim kontrastom (89). FMD najučestalija je neinvazivna metoda koja je validirana u mnogobrojnim, velikim, prospektivnim studijama i smatra se pouzdanom,

reproducibilnom te dovoljno osjetljivom i specifičnom (90). Neinvazivnu metodu u određivanju endotelne disfunkcije uz pomoć visokorezolucijskog ultrazvuka uveo je David Celermajer 1992. godine (91), a ovaj dvokomponentni test koristi fizikalne metode izazivanja reaktivne hiperemije kao poticaj lučenju endogenih vazodilatatora. On uspoređuje dobivene rezultate s kontrolnim učincima egzogenih vazodilatatora apliciranih obično u formi nitroglicerina. Protokom posredovana dilatacija ovisna je o lučenju endotelnog NO, dok je dilatacija na nitroglicerina (engl. nitroglycerine mediated dilatation, NMD) neovisna o protoku i funkciji endotela, već izravnim učinkom na mišićnicu služi za određivanje maksimalnog vazodilatacijskog kapaciteta ispitivane arterije.

Kompresija ispitivane arterije manšetom sfingomanometra određenog trajanja i doziranog tlaka koristi se za izazivanje kontrolirane reaktivne hiperemije u testu dilatacije ovisne o protoku. Odabire se krvni tlak koji je najmanje 50 mmHg viši od sistoličkog tlaka ispitanika kako bi se prekinuo protok kroz arteriju u trajanju od 5 minuta. Test je ograničen za ispitivanje velikih i srednje velikih površinskih arterija kao što su brahijalna, femoralna i radijalna; a u ovom istraživanju mjerenje je rađeno na brahijalnoj arteriji. U literaturi se opisuju dvije mogućnosti izvedbe testa na brahijalnoj arteriji; podlaktična i nadlaktična kompresija. Test sa nadlaktičnom kompresijom koji smo koristili u našem istraživanju, tehnički je zahtjevniji zbog kolapsa ispitivane arterije, međutim reaktivna hiperemija daje veću postotnu promjenu promjera što se objašnjava većim relativnim porastom protoka, odnosno izravnim ishemijskim učinkom na arteriju. Da bi testirali endotel i sposobnost dilatacije ovisno o glatkoj muskulaturi, dijametar brahijalne arterije mjeri se u bazalnim uvjetima i tijekom reaktivne hiperemije (90).

Ultrazvučni pregled izvodi se visokorezolucijskim (7-15 MHz) linearnim ultrazvučnim prikazom kombiniranim s pulsni Doplerskim signalom. Koristi se longitudinalni prikaz s vizualizacijom strukturalne granice lumena i intime krvne žile (opcionalno granica medija-adventicija) na bližoj (prednjoj) i udaljenijoj (stražnjoj) stjenki. Njihova jasna vizualizacija pokazuje da je ravnina prikaza u ispravnom longitudinalnom presjeku, te time potvrđuje relevantnost procjene dijametra. Po odabiru prikaza, elektroničkim se kaliperima manualno mjeri udaljenost ispitivanih struktura. Glavna prednost dvodimenzionalnog prikaza je u mogućnosti multiplih mjerenja duž ispitivanog segmenta žile i iskazivanja njihovog prosječnog rezultata, dok se u M-prikazu mjeri samo jedno mjesto presjeka.

Nakon mjerenja dijametra u bazalnim uvjetima, pristupa se mjerenju stimulirane promjene. Reaktivna hiperemija postiže se brzim otpuštanjem manšete sfingomanometra, te se drugo mjerenje ponavlja u kontinuitetu od 30 sekundi prije, do 2 minute nakon otpuštanja kompresije. Očekivana maksimalna promjena lumena vremenski je locirana u razdoblje 45-60 sekundi nakon maksimalnog reaktivnog hiperemičnog protoka ili 60 sekundi nakon popuštanja manšete kako bi se procijenila endotel zavisna vazodilatacija brahijalne arterije (FMD). U testu se također bilježe i maksimalne hiperemijske brzine koje su najviše 15 sekundi nakon kompresije.

Za vrijeme reaktivne hiperemije povećava se protok i žilni stres što stimulira lučenje NO iz endotela. Ako nema čimbenika koji remete endotelnu funkciju, normalno je lučenje NO, kao i vazodilacijska reakcija. Ukoliko su prisutni čimbenici rizika kardiovaskularnih bolesti, poremećeni su metabolizam i lučenje NO u endotelu, a FMD je smanjen. Gubitak vazodilatacije sugerira smanjeno otpuštanje endogenih vazodilatatora i samim time ED.

Razlika između bazalnog promjera arterije i promjera za vrijeme reaktivne hiperemije odnosno stimulirane vazodilatacije predstavlja dilataciju ovisnu o protoku koja se izražava u postotku kao FMD-indeks i predstavlja funkciju endotela (76). Utjecaj egzogenog nitroglicerina izračunava se na isti način i iskazuje također postotnom mjerom relativne promjene (NMD-indeks). Normalnim nalazom smatra se hiperemijom izazvano povećanje dijametra veće od 6% (5-15%), mada kod pojedinih autora postoje značajna odstupanja od raspona nađenog kod zdravih ispitanika kod Celermajera i suradnika (91). Kompariranje promjena unutar pojedinačnih kliničkih pokusa ne iskazuje značajnu ovisnost o usporedbi s jednim od referentnih raspona.

Preciznost u izvođenju FMD-a ovisi o sposobnosti otkrivanja submilimetarskih razlika u serijskim mjerenjima dijametra, a korištenjem arterijskih fantoma promjera 2-5 mm, na 7 MHz ultrazvučnom B-prikazu, utvrđena je mogućnost bilježenja razlika od 0,1 do 0,2 mm (90).

Brojni čimbenici mogu značajno promijeniti rezultate FMD/NMD testa. Krvne žile većeg promjera imaju manju sposobnost dilatacije u odnosu na krvne žile manjeg promjera, pa se arterije dijametra većeg od 6 mm šire minimalno na podražaj reaktivne hiperemije, što predstavlja glavni razlog zbog kojega se karotidne arterije i zajednička femoralna arterija ne koriste u testiranju odraslih. Brahijalna arterija je lako pristupačna u nadlaktici, pa je uzeta kao standard. Kako se promjene dijametra krvnih žila užih od 2,5 mm teško pouzdano procjenjuju, postaje jasno zašto su za provedbu ove metode pogodne upravo brahijalna, radijalna, aksilarna, te površna femoralna arterija (76,90). Tranzitorno smanjenje vrijednosti FMD-indeksa opisivano je nakon većih i masnih obroka, a tijekom progesteronskog dijela menstrualnog ciklusa kao i tijekom submaksimalnog fizičkog opterećenja zabilježene su povišene vrijednosti FMD-indeksa (76).

Pravilno izvedeno FMD-ispitivanje predstavlja reprezentativnu mjeru endotelne funkcije koja se, neinvazivnošću, dostupnošću, niskom cijenom i mogućnošću neograničenog ponavljanja, nametnula vodećom metodom u istraživanju predmetnog područja. Iako se uglavnom izvodi na brahijalnoj ili radijalnoj arteriji, ova posredna kvantifikacija sposobnosti indukcije oslobađanja NO predstavlja reprezentativnu procjenu ukupne, funkcionalno jedinstvene i sveobuhvatne tjelesne endotelne funkcije koja onda jasno korelira i s koronarnim endotelnim statusom (79). Prisutnost reduciranog FMD-indeksa predstavlja posredni iskaz apsolutnog ili relativnog manjka raspoloživosti NO. Smanjen FMD povezan je s nizom poznatih rizičnih činitelja – hiperlipidemijom, hipertenzijom, dijabetesom, pušenjem i hiperhomocisteinemijom, kao i s pojavnošću i kliničkim tijekom niza kardiovaskularnih stanja (76,79), a prema nekim pokazateljima i sa KOPB-om.

1.6.2 Endotelna funkcija i KOPB

Brojne studije pokazale su povezanost endotelne disfunkcije sa stanjima sa sistemskom upalom kao što su reumatoidni artritis, šećerna bolest i policistični ovariji (82,83), a postoji i određen broj radova koji upućuju na postojanje endotelne disfunkcije i kod bolesnika sa KOPB-om (84,86).

Dosadašnja istraživanja otkrila su povezanost endotelne disfunkcije sa stupnjem težine bolesti u bolesnika sa KOPB-om (86,92). Karoli i suradnici proučavali se endotelnu funkciju kod 60 muških bolesnika sa KOPB-om koristeći FMD/NMD test te su utvrdili da bolesnici sa KOPB-om imaju veći broj cirkulirajućih endotelnih stanica i signifikantno niže vrijednosti FMD-indeksa u komparaciji sa kontrolom, osobito kod bolesnika sa

teškim KOPB-om (92). Povezanost FMD-a sa težinom opstrukcije u bolesnika sa stabilnim KOPB-om potvrđena je u nekoliko studija (84,93), rađena su ispitivanja i u teškom KOPB-u (30) a nedavno objavljena studija Barra i suradnika sugerira vezu između FMD, FEV1 i težine emfizema (94). Pojačan sistemski upalni proces sa aktiviranim upalnim stanicama, povišene vrijednosti proinflammatoryh citokina u plazmi, hipoksija, i povišen oksidativni stres mogli bi biti vodeći uzroci ED u ovoj skupini bolesnika.

Neke od recentnih studija sugeriraju da je moguća veza između povećanog kardiovaskularnog mortaliteta i sistemske upale kod bolesnika sa KOPB-om upravo endotelna disfunkcija i izravno upućuju na potrebu daljnjeg istraživanja ove pretpostavljene povezanosti (94,95,96).

Sve veći je broj dokaza koji sugeriraju da ozljede endotela nastaju tijekom egzacerbacija, odnosno da egzacerbacije KOPB-a pogoršavaju endotelnu disfunkciju (97). Postoji određen broj studija koje su pokazale oporavak endotelne funkcije nakon akutnih egzacerbacija KOPB-a, pri čemu su za procjenu endotelne funkcije uglavnom korišteni FMD ili markeri endotelne funkcije kao što su von Willebrandov faktor (vWF) ili endotelin-1 (97,98). Sustavno istraživanje ED u bolesnika sa KOPB-om istovremenom procjenom endotelne funkcije mjerenjem FMD indeksa i plazmatskih markera do sada nije rađeno.

Rezultati dosadašnjih istraživanja upućuju da je upravo sistemska upala jedan od ključnih uzroka pogoršanja endotelne funkcije tijekom egzacerbacija KOPB-a. Naime, poznato je da tijekom akutnih egzacerbacija dolazi do porasta brojnih markera sistemske upale, citokina i IL-6 (11,97,99,100) uz jače izražen stupanj oksidativnog stresa (18,22,93,97). Stoga većina publiciranih epidemioloških i kliničkih podataka sugerira da

sistemska ED nastaje rano u KOPB i prvenstveno kod emfizema iako direktna relevantnost za plućnu cirkulaciju, mehanizme, direkciju i kliničke posljedice ove poveznice trebaju se tek definirati (101).

1.6.3 Markeri endotelne funkcije

Veliki je broj studija potvrdio prikladnost uporabe plazmatskih vrijednosti endotelnih markera u procjeni funkcionalnog statusa endotela. U navedenom smislu najčešće se koriste von Willebrandov faktor (vWF), inhibitor aktivatora plazminogena – 1 (engl. plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1), inhibitor fibrinolize aktiviran trombinom (engl. thrombin activated fibrinolysis inhibitor, TAFI), tkivni i urokinazni tip aktivatora plazminogena (engl. tissue-type plasminogen activator, t-PA; urokinase-type plasminogen activator, u-PA), te endotelin-1 (ET-1).

1.6.3.1 Faktor von Willebrand (vWF)

Faktor von Willebrand (vWF) multimerni je glikoprotein kodiran genom na kromosomu 12, koji se pretežito sintetizira u endotelnim stanicama, a u manjoj količini i u trombocitima i megakariocitima. VWF sintetizira se u obliku veće molekule, propeptida, i pohranjuje u specifičnim Weibel-Paladeovim tjelešcima iz kojih vrlo brzo mobilizira na podražaj trombinom, histaminom, fibrinom, mehaničkim stresom ili upalnim medijatorima. Proces sekrecije vWF je reguliran i poluvrijeme života cirkulirajućeg vWF je 18 sati (102), pri čemu se razina vWF-a u plazmi normalno povećava tijekom većeg fizičkog napora 2-3 puta (102,103).

VWF ima važnu ulogu u procesima zgrušavanja krvi i hemostaze. Multimeri vWF cirkuliraju u plazmi, u kojoj formiraju komplekse sa faktorom koagulacije VII, te ga na taj način stabiliziraju i štite od proteolitičke aktivnosti. Druga važna funkcija vWF u fiziološkoj hemostazi je koordinacija formacije tromba na mjestu ozljede endotela (102,104). Budući da je otpuštanje vWF povećano prilikom oštećenja endotelних stanica koje su ujedno i glavni izvor ovog faktora, von Willebrandov faktor se danas smatra korisnim markerom ED (105) te je razina vWF predložena da bude indikator endotelne disfunkcije (46). Brojna eksperimentalna i klinička izvješća ukazuju da je visoka razina vWF odraz oštećenja endotela ili njegove disfunkcije. Povišene razine vWF u plazmi povezane su s utvrđenim kardiovaskularnim faktorima rizika, kao što su dob, hipertenzija, šećerna bolest i druge endokrine bolesti, hiperlipidemija, pušenje, i plućna hipertenzija (102) i imaju prognostičku vrijednost u bolesnika sa ishemijskom bolesti srca, perifernom vaskularnom bolesti, te upalnim bolestima krvnih žila (102). Sukladno tome, mnoge su studije proučavale povezanost povišene razine vWF sa razvojem kardiovaskularnih bolesti (105).

VWF je koristan klinički marker rizika povezanih s aterosklerozom, naime povišene vrijednosti vWF nađene su u okruženju aterosklerotske kardiovaskularne bolesti. VWF služi kao prognostički faktor rizika budućih kardiovaskularnih događaja u općoj populaciji, u asimptomatskih bolesnika s utvrđenom koronarnom bolesti, a osobito u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom (106).

Relativno je mali broj studija sa KOPB-om u kojima je vWF određivan kao marker ED. Poznato je da bolesnici sa KOPB-om imaju viši rizik za endotelnu ozljedu i konsekvantnu KVB. Dosadašnjim istraživanjima nađena je povećana aktivnost vWF u pušača (107), kao i više razine vWF u bolesnika sa KOPB-om u odnosu na zdrave

pojedince, međutim pušači bez opstrukcije nisu bili uključeni u ovo ispitivanje (108). Valja također spomenuti istraživanje Polosa i suradnika koji su pokazali porast vWF u serumu tijekom egzacerbacija KOPB-a (109,110). S obzirom na sve veći broj studija koje govore u prilog važnosti endotelne disfunkcije u bolesnika sa KOPB-om, osobito tijekom akutnih egzacerbacija, za očekivati je u budućnosti veći broj studija vWF u KOPB bolesnika.

1.6.3.2 Endotelin-1 (ET-1)

Endotelin 1 (ET-1) član je obitelji malih peptida sastavljenih od 21 aminokiseline koji imaju ulogu medijatora u različitim fiziološkim procesima mitogeneza, popravka, i diferencijacije tkiva (111). Razlikuju se tri različita izopeptida, endotelin-1 (ET-1), endotelin-2 i endotelin-3 koji su derivirani iz tri različita gena, a ET-1 najpotentniji je vazokonstriktor od navedena tri. Sintezom ET-1 upravlja gen na kromosomu 6 (6p23-p24), čija aktivacija dovodi do formacije preproendotelina, iz kojeg će djelovanjem specifičnih endopeptidaza, nastati proendotelin-1 ili tzv. veliki endotelin (engl. big endothelin) i u konačnici aktivni ET-1, peptid građen od 21 aminokiseline koji cirkulira u plazmi (111).

Sva tri endotelina vežu sa za dva tipa receptora: vazokonstriktorski endotelinski receptor tip A (ETRA engl. endothelin receptor type A) i vazodilatacijski endotelinski receptor tip B (ETRB engl. endothelin receptor type B). Tip receptora ETRA dominantno je zastupljen u glatkim mišićnim stanicama žila i miokardu, i medijator je vazokonstrikcije (111), dok su ETRB receptori najviše prisutni na endotelnim stanicama, a manje na glatkim mišićnim stanicama krvnih žila i njihova aktivacija dovodi do

vazodilatacije. Različit raspored ovih receptora u tkivima dovodi ujedno i do različitog učinka u pojedinim organima.

Endotelin-1 je jedini koji se stvara u endotelnim stanicama, a djelomično i u glatkim mišićnim stanicama krvnih žila. Biosinteza endotelina nije ograničena samo na vaskularni endotel, već ga stvaraju i druge stanice i tkiva, npr. stanice pluća, bubrega, gušterače i crijeva. Cirkulirajuće stanice (npr. makrofazi) također izlučuju ET-1, a neutrofili pretvaraju egzogeni proendotelin u bioaktivni endotelin te time omogućavaju porast lokalne koncentracije endotelina na mjestu upale (111).

Stvaranje ET-1 potiče hipoksija, pretilost, životna dob, prokoagulantni faktori, visoka koncentracija LDL i glukoze kao i čimbenici rasta, citokini (IL-1, IL-6) te stres i mehanička stimulacija, a dušični oksid, atrijski natriuretski peptid i prostaglandini koče sintezu ET-1 (112,113).

ET-1 ima dvije funkcije: prvo, kao cirkulirajući hormon, i drugo kao parakrini faktor uglavnom uključen u regulaciju vaskularnog tonusa i sistemskog tlaka (113). Zbog svoje funkcije u regulaciji tonusa krvnih žila, ET-1 ima važnu ulogu u patogenezi stanja karakteriziranih snažnom vazokonstrikcijom i staničnom proliferacijom, kao npr. u arterijskoj i plućnoj hipertenziji, kongestivnom zatajenju srca, aterosklerozi i koronarnoj arterijskoj bolesti. Cirkulirajuće razine ET-1 povišene su u različitim bolestima povezanim sa ishemijskim procesima kao što je infarkt miokarda, akutna renalna insuficijencija i moždani udar (113) ali isto tako i u bolesnika sa aterosklerozom. Lermanova opservacijska studija pokazala je da ET-1 ne samo da je rani marker ED već također i ključni učesnik u ranoj fazi aterogeneze (112).

ET-1 potentni je vazokonstriktivni i bronhokonstriktivni peptid koji ima određenu ulogu u patofiziologiji astme (114). ET-1 je povišen u dišnim putevima astmatičara,

dokazano stimulira sekreciju mukusa, edem dišnih puteva, mitogenezu glatke muskulature i bronhalnu hiperreaktivnost, te se smatra da ima važan proupalni efekt u dišnim putevima (52,114,115). Kod bolesnika sa astmom i KOPB-om nađena je produkcija ET-1 i u stanicama bronhalnog epitela, plućnog endotela te alveolarnih makrofaga što upućuje na moguću ulogu endotelne funkcije u patogenezi ovih bolesti (23,115).

Do sada se pojavilo svega nekoliko limitiranih radova o ulozi ET-1 u KOPB-u (116). Poznato je iz prethodnih istraživanja da hipoksija inducira produkciju ET-1 u dišnim putevima što upućuje na moguću ulogu ET 1 u patofiziologiji stabilnog KOPB (114). Nađene su povišene vrijednosti ET-1 u sputumu KOPB bolesnika (99) kao i u 24-satom urinu (117). Na animalnim modelima pokazalo se da virusi induciraju produkciju ET-1 u dišnim putevima što sugerira da ET-1 može imati važnu ulogu u patofiziologiji egzacerbacija KOPB-a (26). Izuzetno značajno istraživanje Roland-a i suradnika detektiralo je porast ET-1 u sputumu tijekom egzacerbacije KOPB (23).

ET-1 kao marker endotelne funkcije ima ključnu ulogu u istraživanjima endotelne disfunkcije u KOPB-u. Objavljeno je nekoliko radova koji su se bavili endotelnom disfunkcijom u bolesnika sa KOPB-om u kojima su nađene povišene vrijednosti ET-1 kao markera ED u ovoj skupini bolesnika (100). Međutim do sada nije rađeno niti jedno sustavno istraživanje i određivanje ET-1 u fenotipski različitim skupinama bolesnika sa KOPB-om.

1.7 Svrha rada

Endotelna disfunkcija, kao moguća spona između sistemske upale i kardiovaskularnog mortaliteta u bolesnika sa KOPB-om bila je predmet istraživanja određenog broja studija, međutim pretraživanjem dostupne literature nije nađena studija koja bi sveobuhvatno proučavala endotelnu disfunkciju, sistemske upalu, plućnu funkciju i tjelesnu sposobnost u fenotipski različitim skupinama bolesnika sa KOPB-om.

KOPB multisistemska je bolest, u čijoj patogenezi važnu ulogu igra sistemska upala i brojni komorbiditeti, a akutne egzacerbacije KOPB-a i kardiovaskularne bolesti glavni su uzroci mortaliteta i morbiditeta. Fenotip „učestalih egzacerbatora“ karakterizira teža klinička slika, brži pad plućne funkcije a prema nekim pokazateljima i povećan rizik za kardiovaskularni mortalitet.

Dosadašnja istraživanja prvenstveno su se bazirala se na procjeni endotelne funkcije kod bolesnika sa KOPB-om u stabilnoj fazi bolesti. Rezultati nedavnih relevantnih studija upućuju na moguću povezanost akutnih egzacerbacija KOPB-a i pogoršanja endotelne funkcije, međutim za sada nema sustavnog istraživanja endotelne disfunkcije u dvije fenotipski različite skupine bolesnika sa KOPB-om, podijeljene prema kriteriju učestalosti egzacerbacija. Isto tako, dosadašnja istraživanja uglavnom su se zasnivala na procjeni endotelne funkcije kod bolesnika određivanjem FMD-indeksa ili plazmatskih biljega, međutim učinak akutne egzacerbacije na endotelnu funkciju istodobnim određivanjem FMD-indeksa i plazmatskih biljega nije nikada proučavan.

Svrha ovog rada je po prvi puta provesti sustavno istraživanje endotelne funkcije u dvije fenotipski različite skupine bolesnika sa KOPB-om, podijeljene prema kriteriju

učestalosti egzacerbacija, te utvrdi da li postoji razlika u endotelnoj funkciji, stupnju sistemske upale, plućnim funkcijama i tjelesnoj sposobnosti.

Trajno prisutna ED mogla bi predstavljati vrlo važan dio ukupne patofiziologije posebnog fenotipa bolesnika sa KOPB-om, FE, a pojedini markeri endotelne disfunkcije mogli bi imati određenu ulogu u ranom prepoznavanju i otkrivanju upravo ove fenotipske skupine bolesnika sa KOPB-om. Potvrda ovih pretpostavki mogla bi predstavljati značajan doprinos daljnjem razvoju personaliziranog terapijskog pristupa s mogućim utjecajem na sam tijek bolesti, razvoj komorbiditeta i ukupan ishod u skupine „učestalih egzacerbatora“.

Dobiveni rezultati će se preporučiti kao relevantni za ranu dijagnostiku i praćenje fenotipski različitih skupina KOPB-bolesnika, osobito fenotipa „učestalih egzacerbatora“ te time upotpuniti i proširi znanje o KOPB-u.

2 HIPOTEZE

- Endotelna disfunkcija izraženija je u bolesnika s KOPB-om nego kod pušača bez KOPB-a.
- Endotelna disfunkcija izraženija je u skupini „učestalih egzacerbatora“ nego u skupini KOPB bolesnika bez učestalih egzacerbacija.
- Poremećaj plućne funkcije i poremećaj funkcionalnog kliničkog statusa izraženiji su u skupini „učestalih egzacerbatora“ u odnosu na skupinu KOPB bolesnika bez učestalih egzacerbacija.
- Proupalni status značajno se razlikuje između skupine zdravih pušača i KOPB bolesnika, kao i između skupina KOPB-bolesnika prema kriteriju učestalosti egzacerbacija bolesti.

3 CILJEVI RADA

3.1 Opći ciljevi

Cilj ovog rada je procijeniti endotelnu funkciju u bolesnika s KOPB-om i zdravih pušača, te utvrditi da li postoji statistički značajna razlika u javljanju endotelne disfunkcije prema kriteriju razvijenog KOPB-a i učestalosti njegovih egzacerbacija. Rad također uključuje utvrđivanje postojanja značajnih razlika između bolesnika s učestalim egzacerbacijama KOPB-a i bez njih u plućnim funkcionalnim testovima, kliničkom funkcionalnom status, te razinama upalnih biljega.

3.2 Specifični ciljevi

- odrediti biljege endotelne funkcije (ET-1, vWF, FMD-indeks) u zdravih pušača, u skupini „učestalih egzacerbatora“ i skupini bolesnika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija te istražiti da li postoji razlika između skupina
- utvrditi da li postoji razlika u plućnoj funkciji između skupine “učestalih egzacerbatora” i skupine KOPB bolesnika bez učestalih egzacerbacija
- utvrditi da li postoji razlika između skupine “učestalih egzacerbatora” i bolesnika bez učestalih egzacerbacija u težini bolesti prema CAT-upitniku, mMRC skali i BODE indeksu

- utvrditi da li postoji razlike između “učestalih egzacerbatora” i bolesnika bez učestalih egzacerbacija u biljezima sistemske upale (CRP, leukociti, fibrinogen)
- ispitati da li postoji povezanosti endotelne disfunkcije sa biljezima sistemske upale i stupnjem težine KOPB-a

4 MATERIJALI I METODE

4.1 Nacrt istraživanja

U ovom istraživanju po prvi puta provedeno je sustavno istraživanje endotelne disfunkcije u dvije fenotipski različite skupine KOPB bolesnika, istovremenom procjenom endotelne funkcije FMD indeksom i plazmatskim biljezima (ET-1, vWF), te uz korelaciju dobivenih rezultata sa biljezima sistemske upale i plućnim funkcijama.

Istraživanje je provedeno u Kliničkom bolničkom centru (KBC Zagreb), Klinici za plućne bolesti Jordanovac, Jordanovac 104, u trajanju od 5 mjeseci od svibnja do listopada 2013. godine. Klinički dio istraživanja proveden je u Ambulanti za opstruktivne bolesti pluća, 6-minutni test hoda i ispitivanje plućne funkcije u Kabinetu za funkcijsku dijagnostiku respiracijskog sustava Klinike, a FMD/NMD u ultrazvučnom kabinetu Klinike za torakalnu radiologiju. U Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku obavljeno je određivanje markera sistemske upale i endotelne funkcije.

Radi se o presječnom istraživanju (engl. cross-sectional study) u koje su ispitanici uključeni slijedom dolaska u Kliniku za plućne bolesti Jordanovac i samo su jednokratno sudjelovali u istraživanju.

U provedbi ovog istraživanja poštivani su svi profesionalni standardi, hrvatski zakoni i međunarodne konvencije, te pravilnik o zaštiti ispitanika. Etičko Povjerenstvo KBC-a Zagreb, Klinike za plućne bolesti Jordanovac izdalo je dopusnicu za provođenje ovog istraživanja. Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u razmatranju načela etičnosti donijelo je zaključak da je prikazano istraživanje etički prihvatljivo.

4.2 Ispitanici

U istraživanje je uključeno ukupno 117 sudionika; od toga 82 bolesnika sa dijagnozom KOPB-a i 35 zdravih sudionika koji su činili kontrolnu skupinu.

Svi ispitanici uključeni u istraživanje bili su detaljno informirani o svim planiranim postupcima i mogućim neželjenim događajima, te su u ispitivanje biti uključeni po potpisivanju informiranog pristanka.

4.2.1 Kriteriji za uključivanje ispitanika

Primijenjeni su sljedeći kriteriji za uključivanje ispitanika:

1. muškarci i žene
2. dob > 40 godina života
3. pušači – sadašnji ili bivši, čiji su pokazatelj intenziteta pušenja pušačke godine (pack-years) ≥ 10
4. dijagnoza KOPB-a prema GOLD-u (1)
5. klinički stabilna bolest, bez egzacerbacije bolesti u zadnjih mjesec dana koja bi zahtijevala antimikrobnu terapiju, korekciju dosadašnje terapije ili posjetu hitnoj ambulanti
6. bolesnici koji dobivaju adekvatnu terapiju za KOPB koja nije mijenjana u posljednjih mjesec dana

4.2.2 Kriteriji za neuključivanje ispitanika

Za neuključivanje ispitanika primijenjeni su slijedeći kriteriji:

1. egzacerbacija KOPB koja je zahtijevala antimikrobnu terapiju, korekciju dosadašnje terapije ili posjetu hitnoj ambulanti mjesec dana prije uključivanja
2. promjena terapije za KOPB mjesec dana prije uključivanja
3. maligne bolesti
4. klinički manifestna kardiovaskularna bolest
5. neregulirana arterijska hipertenzija (sistolički tlak >180 mmHg, dijastolički tlak >100 mmHg)
6. šećerna bolest sa razvijenim kasnim komplikacijama
7. druga specifična ili nespecifična akutna upalna stanja
8. fertilna dob u žena

Kontrolnu skupinu čine aktivni pušači za koje vrijede isti kriteriji uključivanja i neuključivanja kao i za skupinu bolesnika sa KOPB-om, osim što ne zadovoljavaju kriterije za dijagnozu KOPB-a; odnosno ne boluju od ove bolesti.

Ispitanici sa dijagnosticiranim KOPB-om na temelju broja egzacerbacija u posljednjih godinu dana podijeljeni su u dvije skupine: u skupinu „učestalih egzacerbatora“ (bolesnici sa KOPB-om koji imaju dvije i više egzacerbacija unatrag godinu dana) te skupinu bolesnika sa KOPB-om bez čestih egzacerbacija.

4.2.3 Kriteriji isključivanja ispitanika

1. akutno kardiovaskularno zbivanje

4.3 Metode

Ukupno je bilo uključeno 117 ispitanika, a trajanje istraživanja bilo je 5 mjeseci. Kod svih ispitanika, po uključivanju u istraživanje, je učinjen klinički pregled uz procjenu stupnja zaduhe prema modificiranoj skali zaduhe (mMRC) (118) te je ispunjen test za procjenu KOPB-a (CAT upitnik) (119).

Utvrđen je pušački status te izračunat indeks ukupne izloženosti duhanskom dimu ili pušačke godine ($\text{pack-years} = \text{broj godina pušenja} \times \text{broj cigareta dnevno} / 20$). Na temelju podataka o tjelesnoj težini i visini ispitanika izračunat je indeks tjelesne mase (BMI engl. *body mass index*). Kod svih ispitanika dobiveni su podaci o pojedinim komorbiditetima (arterijska hipertenzija, kardiovaskularne bolesti i šećerna bolest).

Kod bolesnika sa KOPB-om prikupljeni su i podaci o duljini liječenja, medikamentoznoj terapiji KOPB-a kao i o oksigenoterapiji. Također su dobiveni i podaci o broju egzacerbacija u posljednjih godinu dana.

Mjerenje tjelesne sposobnosti vršeno je 6 minutnim testom hoda (6-MTH), prije i poslije kojeg je procijenjen stupanj zaduhe i stupanj umora prema Borgovoj skali (120). Procjena plućne funkcije vršena je određivanjem pokazatelja dobivenih spirometrijom s krivuljom protok-volumen, CO difuzijom i plinskom analizom arterijske krvi. Bolesnici sa KOPB-om klasificirani su prema GOLD-u (I-IV) i (A,B,C,D), te je za svakog ispitanika izračunat BODE indeks.

Kod svih ispitanika su uzeti uzorci krvi za daljnju laboratorijsku obradu, odnosno za određivanje markera sistemske upale: leukocita, CRP-a i fibrinogena te markera endotelne disfunkcije ET-1 i vWF. Korištene biokemijske metode su standardne i preporučene (metode s ligandima) uz korištenje komercijalnih kompleta reagensa i uz pridržavanje pravila dobre laboratorijske prakse.

Kod ispitanika je potom učinjen FMD/NMD test za procjenu endotelne disfunkcije. Radi se o neinvazivnoj metodi određivanja endotelne disfunkcije uz pomoć visokorezolucijskog ultrazvuka, a radi se na velikim i srednje velikim površinskim arterijama kao što su brahijalna, femoralna i radijalna (u ovom ispitivanju na brahijalnoj arteriji). Svrha testa je ispitivanje funkcionalnog stanja endotela i reverzibilnosti promjena, a sam test je bez neželjenih posljedica za ispitanika.

4.3.1 Procjena zaduhe (MRC skala)

Procjena stupnja zaduhe vršena je tijekom kliničkog pregleda ispitanika prema modificiranoj MRC skali zaduhe (118) u kojoj je osjećaj zaduhe opisan riječima kojima je pridružen broj od 0 do 4 (u prilogu). Odabirom broja, ispitanici su procjenjivali stupanj zaduhe tijekom aktivnosti u svakodnevnom životu.

4.3.2 Test za procjenu KOPB-a (CAT)

Svi ispitanici ispunili su test za procjenu KOPB-a (CAT, engl. COPD Assessment Test) koji sadrži osam kratkih i jednostavnih pitanja (svaki na skali od 0 do 5, s ukupnim rezultatom raspona 0-40) (u prilogu) (119). Pitanja pokrivaju različite domene

respiratornog zdravstvenog statusa (kašalj, iskašljavanje, osjećaj stezanja u prsima, osjećaj nedostatka zraka prilikom penjanja po stepenicama, ograničenja aktivnosti kod kuće, sigurnost prilikom odlaska od kuće, spavanje i energija).

Radi se o upitniku za procjenu cjelokupnog utjecaja KOPB na zdravstveno stanje bolesnika, odnosno kao nadopuna informacijama dobivenim iz testova plućnih funkcija. CAT nije dijagnostička alatka i ne smije se koristiti za dijagnozu KOPB-a, ali ima važnu ulogu u praćenju bolesnika i procjeni rizika za akutne egzacerbacije (30).

4.3.3 Šest-minutni test hoda (6-MTH)

Mjerenje tjelesne sposobnosti vršeno je 6-MTH prema standardiziranom protokolu (smjernice Američkog torakalnog društva/ATS) (120). Ispitanici su dobili upute da hodaju tijekom 6 minuta tempom koji odrede sami po 30 metara dugom, ravnom hodniku. Ispitanici sami određuju koliko će se opteretiti, a zamoljeni su da izdrže koliko najviše mogu. Ispitanici su se smjeli zaustaviti u slučaju pojave simptoma kao što su bolovi u grudnom košu, jaka zaduha, bolovi i grčevi u nogama, vrtoglavica, te nastaviti hodati nakon odmora. Za vrijeme izvođenja testa prisutne su dvije medicinske sestre koje nadziru izvođenje testa.

Prije početka i na kraju testa, nakon isteka 6 minuta, ispitanicima je izmjerena frekvencija pulsa, tlak te saturacija hemoglobina kisikom (sat.O₂) pulsni oksimetrom. Puls i saturacija O₂ mjereni su istim pulsni oksimetrom sve vrijeme trajanja 6-MTH. Također je određen i stupanj zaduhe i stupanj umora prema Borgovoj skali od 0 do 10 prije i neposredno nakon izvođenja 6-MTH. Za sve navedene pokazatelje koji su mjereni tijekom 6-MTH iskazane su vrijednosti prije i nakon testa kao i razlika vrijednosti.

Određena je apsolutna udaljenost, odnosno dužina hodne staze u metrima koju su ispitanici prehodali tijekom šest minuta.

Izračunat je normativ hodne staze za svakog pojedinog ispitanika prema standardiziranoj formuli s obzirom na dob, spol, visinu i težinu ispitanika (121) te je potom izračunat postotak od očekivane udaljenosti za svakog ispitanika.

U našem istraživanju koristili smo dužinu hodne pruge u metrima i promjenu u saturaciji O₂ kao pokazatelje funkcionalnog statusa ispitanika.

4.3.4 Spirometrija

Spirometrija i krivulja protok-volumen izvršene su na aparatu MasterScreen Pneumo (Jaeger, Njemačka) prema smjernicama Američkog torakalnog društva / Europskog respiratornog društva (122). Svaki ispitanik je izvršio najmanje tri mjerenja standardnom tehnikom uz prethodnu pouku. Kao vrijednost promatranog pokazatelja uzimana je najviša vrijednost izražena kao postotak od očekivane vrijednosti, za FVC i FEV₁ prema Smjernicama Europske zajednice za ugljen i čelik – CECA II (123), a za forsirane ekspiracijske protoke prema Cherniacku i Raberu (124).

Svim ispitanicima učinjen je farmakodinamski (bronhodilatacijski) test salbutamolom (Ventolin® , Pliva). Spirometrija je ponovljena 20 minuta nakon udisaja 400 mcg salbutamola (4 udaha). Reverzibilnost bronhoopstrukcije procijenjena je na FEV₁, koji u slučaju pozitivnog bronhodilatacijskog testa poraste za 12% ili 200 ml u odnosu na početnu vrijednost (125). Ispitanici sa pozitivnim bronhodilatacijskim testom, nisu uključeni u ovo istraživanje.

Procijenjeni su slijedeći pokazatelji plućne funkcije: FEV1, FVC, FEV1/FVC %, PEF. Uzimane su postbronhodilatacijske vrijednosti svih navedenih spirometrijskih pokazatelja a dobivene vrijednosti izražene su u postocima od očekivanih vrijednosti.

4.3.5 CO difuzija

Pokazatelj CO difuzije – difuzijski kapacitet (transfer faktor) pluća za ugljični monoksid (DLCO) mjereno je metodom „jednog udaha“ (single breath) na aparatu MasterScreen Diffusion (Jaeger, Njemačka). Pomoću dilucije helija određen je alveolarni volumen (VA) i izračunat transfer koeficijent za ugljični monoksid (KCO) – DLCO/VA kao pokazatelj jedinične difuzije.

Izvršena je korelacija rezultata mjerenja prema ispitanikovim vrijednostima hemoglobina. Svaki je ispitanik izvršio tri mjerenja. Prediktivne vrijednosti procijenjene su prema Cotesu (126).

4.3.6 Plinska analiza arterijske krvi

Plinska analiza arterijske krvi s određivanjem acidobaznog statusa vršena je u mirovanju u sjedećem položaju ispitanika. Arterijska krv uzimana je punkcijom arterije radialis. Uzorci su analizirani na aparatu Radiometer ABL 5, Danska. Mjereni su parcijalni tlakovi respiracijskih plinova – parcijalni tlak kisika, (pO₂) i parcijalni tlak ugljičnog dioksida (pCO₂), saturacija hemoglobina kisikom (sat.O₂) i kiselost (pH) arterijske krvi.

4.3.7 BODE indeks

BODE (**B**ody mass index, **O** airflow **O**bstruction, **D**yspnea and **E**xercise capacity) je jednostavan multidimenzionalni indeks bodovanja osmišljen za procjenu kliničkog rizika u osoba s kroničnom opstrukcijskom bolesti pluća. On kombinira četiri važne varijable u pojedinačnim bodovima: (B) indeks tjelesne mase; (O) stupanj opstrukcije (FEV1); (D) stupanj zaduhe mjeren mMRC i (E) tolerancija napora mjerena 6-MTH.

BODE indeks nastaje kao zbroj bodova dodijeljen svakoj od varijabli označenih slovom u akronimu BODE te se izražava numerički rasponom vrijednosti od 0 do 10.

BODE indeks bolji je prediktor KOPB mortaliteta od samog FEV1, odnosno viši BODE indeks korelira sa povećanim mortalitetom.

Rutinski se koristi u praćenju, medikamentoznom i kirurškom liječenju, te prognozi bolesnika sa KOPB-om. Osim što ima prognostičko značenje BODE indeks dobro definira sustavne učinke KOPB-a na bolesnike i daje sveobuhvatnu evaluaciju težine bolesti.

4.3.8 Markeri sistemske upale

4.3.8.1 Leukociti

Broj leukocita određivan je rutinskom metodom pomoću hematološkog analizatora DxH 800, Beckman Coulter, USA, koristeći načelo promjene otpora ili impedancije kojom se precizno određuje broj i veličina stanica. Mjeri se promjena električnog otpora

prilikom prolaza stanica suspendiranih u provodljivoj tekućini kroz malen otvor. Broj zabilježenih električnih impulsa odgovara broju stanica u određenom volumenu krvi.

4.3.8.2 CRP

Koncentracija C- reaktivnog proteina u serumu mjerena je preporučenom metodom, imunoturbidimetrijom na biokemijskom analizatoru Cobas c501, Roche. Anti-CRP protutijela vezana na lateks mikročestice, reagiraju s antigenom u uzorku i stvaraju kompleks antigen-protutijelo. Aglutinacija koja slijedi mjeri se turbidimetrijski. Osjetljivost testa je 0,3 mg/L.

4.3.8.3 Fibrinogen

Aktivnost fibrinogena koja odgovara funkcionalnoj koncentraciji fibrinogena određena je modificiranom metodom po Claussu, uporabom reagensa Multifibren U (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Njemačka) na automatiziranom koagulometru Sysmex CA-660. Metoda se temelji na pretvorbi fibrinogena iz nerazrijeđene citratne plazme u netopljivi fibrin nakon dodatka standardizirane otopine trombina koja se nalazi u velikom suvišku. Izmjereno vrijeme zgrušavanja izraženo je u sekundama, a razmjerno je koncentraciji fibrinogena izraženoj u g/L dobivenoj iz baždarne krivulje. Referentni interval iznosi 1,8 – 4,1 g/L, a granica otkrivanja je 0,3 g/L.

4.3.9 Markeri endotelne funkcije

4.3.9.1 Faktor von Willebrand

Koncentracije von Willebrandovog faktora (VWF:Ag) u citratnoj plazmi izmjerene su automatiziranim lateks-imunoturbidimetrijskim metodom, uporabom reagensa vWF Ag (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Njemačka) na koagulometru Behring Coagulation System (BCS-XP). Metoda se temelji na imunokemijskoj reakciji između VWF iz uzorka citratne plazme i specifičnih antitijela na VWF, koja su kovalentno vezana na malim polistirenskim česticama lateksa u reagensu. Nastali agregati kompleksa VWF:Ag sa specifičnim antitijelima na VWF dovode do porasti zamućenja i mjere se turbidimetrijski. Intenzitet zamućenja razmjernan je koncentraciji VWF:Ag u uzorku citratne plazme ispitanika, a rezultati se izražavaju u %. Referentni interval iznosi 50-160%, a granica otkrivanja je 4%.

4.3.9.2 Endotelin-1

Za mjerenje ET-1 u plazmi korišten je Endothelin-1 Quantikine ELISA Kit tvrtke R&D Systems, Inc.USA, koji se koristi za određivanje endotelina-1 u serumu, plazmi, urinu te supernatantu staničnih kultura. Postupak mjerenja temelji se na "sendvič" načelu. Monoklonska protutijela na stjenkama mikrotitarskih pločica vežu ET-1 iz uzorka, standarda te kontrolnih uzoraka. Nakon ispiranja nevezanih supstanci dodaje se sekundarno monoklonsko protutijelo konjugirano s enzimom – peroksidazom. Višak nevezanih protutijela ispiru se nakon inkubacije. Nakon dodatka supstrata (kromogena),

razvija se obojenje čiji je intenzitet proporcionalan koncentraciji ET-1. Apsorbancije su mjerene na fotometru za mikrotitarske pločice Tecan, Sunrise. Osjetljivost testa iznosila je 0,087 pg/ml.

4.3.10 FMD/NMD

Po uključivanju u studiju, vršilo se testiranje endotelne funkcije protok posredovane dilatacije brahijalne arterije visokorezolucijskim ultrazvukom, tj. FMD-testom prema hrvatskim i vodećim svjetskim smjernicama.

Procjena endogene funkcije FMD/NMD testom rađena je u Kabinetu za ultrazvučnu dijagnostiku, Kliničke jedinice za torakalnu radiologiju, KBC Zagreb. Ispitivanje se provodilo na ultrazvučnom sustavu Sonoline 650, Siemens, multifrekventnom linearnom sondom pri frekvenciji od 13,5 MHz, uz simultani elektrokardiografski zapis na integriranom EKG-modulu. Sva mjerenja rađena su između 13 i 15 sati, u mirnoj i zamračenoj prostoriji, nakon prethodne pripreme koja je obuhvaćala izostanak masnog obroka 12 sati prije testa, vazoaktivnih lijekova barem kroz razdoblje njihovog vremena poluraspada i zabranu fizičke aktivnosti tijekom prethodna 24 sata.

Mjerenje se vršilo na brahijalnoj arteriji nedominantne ruke, u B-prikazu tijekom dijastole srčanog ciklusa, nad R zupcem elektrokardiograma. Prvo se pristupilo procjeni protokom uvjetovane dilatacije ovisne o endotelu. Nakon mjerenja dijametra brahijalne arterije u bazalnim uvjetima i bilježenja pozicije ultrazvučne sonde na koži zbog kasnijeg ponavljanja mjerenja, manšeta sfingomanometra na nadlaktici ispitivane ruke napuhala se na vrijednost tlaka 50 mmHg iznad izmjerene sistoličke vrijednosti. Takva kompresija zadržavala se kroz 5 minuta. Longitudinalni prikaz arterije se ispitivao tijekom 2 minute

nakon otpuštanja, čime se ponavljano mjerio promjer arterije u uvjetima reaktivne hiperemije. Pri drugoj fazi testa, nakon najmanje 10 minuta odmora, određivala se vazodilatacija neovisna o endotelu, a koja se izazvala aplikacijom nitroglicerina (NMD). Ponovno se mjerio bazalni promjer brahijalne arterije, te potom apliciralo sublingvalno 400 µg gliceriltrinitrata u spreju. Poslije navedenog se kontinuirano ispitivala promjena promjera tijekom treće i četvrte minute. Ispitivana ruka nije tijekom testa mijenjala položaj.

Za svako mjerenje računata je srednja vrijednost dobivena iz najmanje tri srčana ciklusa. FMD i NMD su računati kao postotak promjene promjera brahijalne arterije u odnosu na bazalni promjer. Primjer ovakvog izraza je dilatacija promjera u testu od 4,5 mm na npr. 5,0 mm, pri čemu se FMD/NMD indeks iskazuje kao omjer razlike stimuliranog i bazalnog promjera, u navedenom primjeru $0,5/4,5 = 0,11$ tj. 11%.

4.4 Statistička analiza podataka

Razina statističke značajnosti određena je na $p < 0,05$ te su u svim slučajevima korišteni dvosmjerni (engl. two-tailed) testovi statističke značajnosti. Normalnost raspodjela kontinuiranih varijabli testirana je Shapiro-Wilk testom te ukoliko raspodjele rezultata nisu statistički značajno odstupale od normalne raspodjele aritmetička sredina i standardna devijacija korištene su kao mjere centralne tendencije i raspršenja, dok su u slučaju statistički značajnog odstupanja raspodjela od normalnosti korišteni medijan i interkvartilni raspon. Skupine su s obzirom na vrijednosti normalno raspodijeljenih kontinuiranih varijabli uspoređene putem jednosmjerne analize varijance te, u slučaju utvrđivanja statistički značajne razlike, putem Games Howellovog post hoc testa. U

slučajevima statistički značajnog odstupanja raspodjela rezultata od normalne raspodjele, skupine su uspoređene putem Kruskal-Wallisovog testa. Ukoliko je navedenim testom utvrđena statistički značajna razlika između skupina, one su dodatno uspoređene serijom Mann-Whitneyevih U testova uz Bonferronijevu korekciju razine statističke značajnosti.

Povezanosti između pojedinog indikatora endotelne funkcije te ostalih varijabli uključenih u istraživanje u pojedinoj skupini sudionika određene su putem Pearsonovog koeficijenta korelacije. Multivarijatno predviđanje razine indikatora endotelne funkcije u pojedinoj skupini sudionika napravljeno je putem multiple linearne regresije, pri čemu je za kategorijalne varijable korišteno *dummy* kodiranje. Budući da je postojao velik broj varijabli u odnosu na veličinu uzoraka sudionika u pojedinoj skupini, korištena je selekcijska metoda odabira varijabli unaprijed (engl. forward selection), pri čemu je, zbog odnosa broja prediktora i veličine uzorka kriterij za ulazak varijabli u prediktivni model bila razina statističke značajnosti $p=0,150$ (Bendel i Afifi, 1977). Pri tome su spol i dob činili kontrolne varijable, stoga je rađena hijerarhijska analiza u kojoj su u prvom koraku u regresijski model uneseni spol i dob, dok se preostale varijable u model unesene u drugom koraku analize selekcijskim putem. Za analizu je korišten programski paket R, verzija 3.0.1 (R Development Core Team).

5 REZULTATI

5.1 Sudionici

U istraživanju su sudjelovala ukupno 117 sudionika, pri čemu ih je 35/117 (29,9%) činilo skupinu zdravih pušača, 41/117 (35.0%) skupinu bolesnika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija, 41/117 (35,0%) skupinu bolesnika s KOPB-om s učestalim egzacerbacijama.

Tablica 3. Sudionici s obzirom na sociodemografske i antropometrijske parametre, pušačke karakteristike te popratne bolesti (n=117)

	n (%)	Zdravi pušači (n=35)	KOPB, bez učestalih egzacerbacija (n=41)	KOPB, učestale egzacerbacije (n=41)	P	Učinak
Dob u godinama*		58 (52-62)	66 (61-76)	67 (59-76)	<0,001	0,21
Spol						
muški		19 (54,3)	28 (68,3)	31 (75,6)	0,140	0,18
ženski		16 (45,7)	13 (31,7)	10 (24,4)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		
Pušenje						
pušač		35 (100,0)	17 (41,5)	15 (36,6)	<0,001	0,57
bivši pušač		0 (0,0)	24 (58,5)	26 (63,4)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		
Efektivne godine pušenja*		30 (22-40)	30 (20-43)	35 (25-54)	0,216	0,03
Sistolički krvni tlak*		130 (120-140)	130 (120-140)	130 (120-140)	0,807	0,00
Dijastolički krvni tlak*		80 (75-80)	80 (73-80)	80 (70-80)	0,247	0,02
BMI*		26 (24-31)	26 (24-31)	25 (22-27)	0,046	0,05
BMI						
pothranjenost (BMI<18,5)		1 (2,9)	0 (0,0)	5 (12,2)	0,046	0,31
normalna težina (18,5≤BMI<25,0)		12 (34,3)	16 (39,0)	14 (34,1)		
prekomjerna težina (25,0≤BMI<30,0)		9 (25,7)	14 (34,1)	17 (41,5)		
pretilost (BMI≥30,0)		13 (37,1)	11 (26,8)	5 (12,2)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		
Arterijska hipertenzija						
ne		29 (82,9)	16 (39,0)	16 (39,0)	<0,001	0,40
da		6 (17,1)	25 (61,0)	25 (61,0)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		
Dijabetes						
ne		33 (94,3)	36 (87,8)	36 (87,8)	0,571	0,10
da		2 (5,7)	5 (12,2)	5 (12,2)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		
KV bolesti						
ne		34 (97,1)	34 (82,9)	26 (63,4)	<0,001	0,34
da		1 (2,9)	7 (17,1)	15 (36,6)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		

* Medijan (interkvartilni raspon)

P = Dvosmjerni Kurskal Wallis test statističke značajnosti razlika za kontinuirane i Hi-kvadrat (X^2) test za nominalne varijable; Učinak = standardizirana mjera veličine učinka: koeficijent kontingencije C za nominalne varijable s više kategorija; Phi koeficijent asocijacije za binarne varijable; η^2 koeficijent za kontinuirane varijable

Tablica 4. Sudionici s obzirom na vrijednosti laboratorijskih parametara (n=117)

	Medijan (IQR)	Zdravi pušači (n=35)	KOPB, bez učestalih egzacerbacija (n=41)	KOPB, učestale egzacerbacije (n=41)	P	Učinak
Eritrociti		4,5 (4,3-4,8)	4,7 (4,3-4,9)	4,8 (4,6-5,2)	0,008	
Hemoglobin		141 (135-148)	146 (135-154)	146 (138-156)	0,179	0,03
Hematokrit		0,41 (0,40-0,44)	0,44 (0,41-0,46)	0,45 (0,42-0,47)	0,005	0,09
Trombociti		230 (194-261)	227 (185-275)	245 (188-288)	0,600	0,01
MPV		8,5 (8,1-9,1)	8,8 (7,9-10,2)	8,7 (7,9-9,3)	0,405	0,02
GUK		5,4 (5,1-6,6)	5,5 (5,1-6,5)	5,4 (4,8-6,8)	0,715	0,01
GGT		21 (16-31)	24 (19-46)	20 (16-30)	0,255	0,02
Urea		5,0 (3,7-6,5)	5,9 (4,9-7,5)	4,9 (4,2-6,0)	0,01	0,008
Kreatinin		96 (87-107)	102 (91-113)	99 (88-108)	0,239	0,02

IQR = interkvartilni raspon

P = Dvosmjerni Kurskal Wallis test statističke značajnosti razlika; Učinak = standardizirana mjera veličine učinka: η^2 koeficijent

Tablica 5. Sudionici s obzirom na vrijednosti laboratorijskih parametara grupirane prema referentnim vrijednostima (n=117)

	n (%)	Zdravi pušači (n=35)	KOPB, bez učestalih egzacerbacija (n=41)	KOPB, učestale egzacerbacije (n=41)	P	Učinak
Eritrociti						
snižena		4 (11,4)	4 (9,8)	3 (7,3)	0,763	0,13
normalna (m: 4,34-5,72; ž: 3,86-5,08)		30 (85,7)	34 (82,9)	37 (90,2)		
povišena		1 (2,9)	3 (7,3)	1 (2,4)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		
Hemoglobin						
snižena		3 (8,6)	5 (12,2)	4 (9,8)	0,880	0,10
normalna (m: 138-175; ž: 119-157)		32 (91,4)	35 (85,4)	36 (87,8)		
povišena		0 (0,0)	1 (2,4)	1 (2,4)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		
Hematokrit						
snižena		6 (17,1)	5 (12,2)	3 (7,3)	0,777	0,12
normalna (m: 0,415-0,530; ž: 0,356-0,470)		28 (80,0)	35 (85,4)	37 (90,2)		
povišena		1 (2,9)	1 (2,4)	1 (2,4)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		
Trombociti						
snižena		4 (11,4)	2 (4,9)	4 (9,8)	0,549	0,16
normalna (158-424)		31 (88,6)	39 (95,1)	36 (87,8)		
povišena		0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,4)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		
MPV						
snižena		0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,4)	0,137	0,24
normalna (6,8-10,4)		35 (100,0)	36 (87,8)	38 (92,7)		
povišena		0 (0,0)	5 (12,2)	2 (4,9)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		
GUK						
snižena		2 (5,7)	1 (2,4)	5 (12,2)	0,485	0,17
normalna (4,4-6,4)		24 (68,6)	30 (73,2)	25 (61,0)		
povišena		9 (25,7)	10 (24,4)	11 (26,8)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		

P = Hi-kvadrat (X^2) test statističke značajnosti razlika; Učinak = standardizirana mjera veličine učinka: koeficijent kontingencije C

Tablica 6. Sudionici s obzirom na vrijednosti GGT, uree te kreatinina (n=117)

	n (%)	Zdravi pušači (n=35)	KOPB, bez učestalih egzacerbacija (n=41)	KOPB, učestale egzacerbacije (n=41)	P	Učinak
GGT						
snižena vrijednost		0 (0,0)	1 (2,4)	0 (0,0)	0,185	0,22
normalna vrijednost (m: 11-55 ; ž: 9-35)		34 (97,1)	33 (80,5)	37 (90,2)		
povišena vrijednost		1 (2,9)	7 (17,1)	4 (9,8)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		
Urea						
snižena vrijednost		0 (0,0)	0 (0,0)	3 (7,3)	0,09	0,25
normalna vrijednost (2,8-8,3)		34 (97,1)	36 (87,8)	35 (85,4)		
povišena vrijednost		1 (2,9)	5 (12,2)	3 (7,3)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		
Kreatinin						
snižena vrijednost		0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,4)	0,157	0,23
normalna vrijednost (m: 79-125; ž: 63-107)		34 (97,1)	34 (82,9)	37 (90,2)		
povišena vrijednost		1 (2,9)	7 (17,1)	3 (7,3)		
ukupno		35 (100,0)	41 (100,0)	41 (100,0)		

P = Hi-kvadrat (X^2) test statističke značajnosti razlika; Učinak = standardizirana mjera veličine učinka: koeficijent kontingencije C

Tablica 7. Oboljeli od KOPB-a s obzirom na karakteristike bolesti i terapiju (n=82)

	n (%)	KOPB, bez učestalih egzacerbacija (n=41)	KOPB, učestale egzacerbacije (n=41)	P	Učinak
Težina KOPB prema spirometriji					
I		1 (2,4)	0 (0,0)	0,03	0,31
II		19 (46,3)	8 (19,5)		
III		17 (41,5)	23 (56,1)		
IV		4 (9,8)	10 (24,4)		
ukupno		41 (100,0)	41 (100,0)		
Težina KOPB prema GOLD smjernicama					
A		11 (26,8)	0 (0,0)	<0,001	0,64
B		18 (43,9)	0 (0,0)		
C		9 (22,0)	5 (12,2)		
D		3 (7,3)	36 (87,8)		
ukupno		41 (100,0)	41 (100,0)		
Trajanje liječenja KOPB*		6 (3-10)	8 (5-11)	0,111	0,02
Broj egzacerbacija u posljednjih 12 mjeseci*		0 (0-1)	3 (2-4)	<0,001	0,55
Terapija					
LABA					
ne		37 (90,2)	41 (100,0)	0,022	0,25
da		4 (9,8)	0 (0,0)		
ukupno		41 (100,0)	41 (100,0)		
LAMA					
ne		4 (9,8)	1 (2,4)	<0,001	0,67
da		37 (90,2)	40 (97,6)		
ukupno		41 (100,0)	41 (100,0)		
ICS + LABA					
ne		14 (34,1)	0 (0,0)	<0,001	0,64
da		27 (65,9)	41 (100,0)		
ukupno		41 (100,0)	41 (100,0)		
Teofilin					
ne		33 (80,5)	12 (29,3)	<0,001	0,54
da		7 (17,1)	26 (63,4)		
Daxas		1 (2,4)	3 (7,3)		
ukupno		41 (100,0)	41 (100,0)		
Oksigenoterapija					
ne		39 (95,1)	35 (85,4)	0,035	0,23
da		2 (4,9)	6 (14,6)		
ukupno		41 (100,0)	41 (100,0)		

*Medijan (interkvartilni raspon)

P = Dvosmjerni Kurskal Wallis test statističke značajnosti razlika za kontinuirane i Hi-kvadrat (X^2) test za nominalne varijable; Učinak = standardizirana mjera veličine učinka: koeficijent kontingencije C za nominalne varijable s više kategorija; Phi koeficijent asocijacije za binarne varijable; η^2 koeficijent za kontinuirane varijable

5.2 Plućna funkcija s obzirom na zdravstveni status

5.2.1 Spirometrijski parametri

FEV1

Raspodjela FEV1 u niti jednoj skupini nije statistički značajno odstupala od normalne raspodjele, stoga su kao mjere centralne tendencije i raspršenja korištene aritmetička sredina i standardna devijacija, a skupine su uspoređene putem analize varijance.

Tablica 8. FEV1 u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	M (SD)
Zdravi pušači	35	61,7	136,1	98,5 (18,09)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	21,4	86,2	51,8 (15,12)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	16,6	63,5	38,6 (12,29)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; M = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija

Levenovim testom utvrđeno je da varijance skupina nisu statistički značajno različite ($F=2,84$; $df_1=2$, $df_2=114$; $p=0,088$), čime je zadovoljen preduvjet za analizu varijance kojom je utvrđeno da između skupina postoji statistički značajna razlika s obzirom na FEV1 ($F=158,58$; $df_1=2$, $df_2=114$; $p<0,001$; parcijalna $\eta^2=0,74$). Games-Howellovim post hoc testom utvrđeno je da je FEV1 bio statistički značajno viši u skupini zdravih pušača u odnosu na bolesnike s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija ($p<0,001$), u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama ($p<0,001$). Također, FEV1 je bio statistički značajno viši u skupini bez učestalih egzacerbacija u odnosu na skupinu s učestalim egzacerbacijama ($p<0,001$).

FVC

Raspodjela FVC također u niti jednoj skupini nije statistički značajno odstupala od normalne, stoga su aritmetička sredina i standardna devijacija korištene kao mjere centralne tendencije i raspršenja.

Tablica 9. FVC u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	M (SD)
Zdravi pušači	35	71,7	145,8	107,2 (16,65)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	49,2	118,1	79,9 (16,98)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	35,1	100,0	66,2 (15,08)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; M = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija

Levenovim testom utvrđeno je da su varijance skupina homogene ($F=0,31$; $df_1=2$, $df_2=114$; $p=0,738$), a provedenom analizom varijance utvrđena je statistički značajna razlika između skupina s obzirom na FVC ($F=61,6$; $df_1=2$, $df_2=114$; $p<0,001$; parcijalna $\eta^2=0,52$). Games-Howellovim post hoc testom utvrđeno je da je FVC bio statistički značajno viši u skupini zdravih pušača u odnosu na skupinu KOPB bolesnika bez učestalih egzacerbacija ($p<0,001$), u odnosu na onu s učestalim egzacerbacijama ($p<0,001$). Također, FVC je bio statistički značajno viši u skupini bolesnika bez učestalih egzacerbacija u odnosu na skupinu s učestalim egzacerbacijama ($p=0,001$).

FEV1/FVC

Raspodjela FEV1/FVC je u skupini KOPB bolesnika bez učestalih egzacerbacija statistički značajno odstupala od normalne, stoga su u svim skupinama kao mjere centralne tendencije i raspršenja korišteni medijan i interkvartilni raspon.

Tablica 10. FEV1/FVC u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	35	79,4	109,4	90,6 (84,7-101,2)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	36,0	80,0	61,8 (47,4-67,8)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	26,4	68,3	46,5 (39,8-54,6)

KRATICE: n= broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Kruskal-Walisovim testom utvrđeno je da se skupine statistički značajno razlikuju s obzirom na FEV1/FVC ($\chi^2=79,38$; $df=2$; $p<0,001$; $\eta^2=0,69$). Pri tome je FEV1/FVC bio statistički značajno viši u skupini zdravih pušača u odnosu na KOPB bolesnike bez učestalih egzacerbacija (Mann-Whitney $U=3,00$; $p<0,001$; $r=-0,85$), u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U=0,00$; $p<0,001$; $r=-0,86$). Bolesnici bez učestalih egzacerbacija imali su statistički značajno viši FEV1/FVC od bolesnika s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U=444,0$; $p<0,001$; $r=-0,41$).

PEF

Iako Kolmogorov-Smirnov test u niti jednoj skupini nije indicirao statistički značajno odstupanje raspodjele PEF od normalne, postojalo je nekoliko ekstremnih rezultata, stoga su kao mjere centralne tendencije i raspršenja korišteni medijan i interkvartilni raspon, a skupine su međusobno uspoređene neparametrijskim testovima.

Tablica 11. PEF u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	35	63,6	147,1	92,2 (84,3-105,8)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	13,8	122,9	59,8 (41,8-66,5)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	21,6	111,5	40,5 (30,9-53,75)

KRATICE: n= broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Između skupina je utvrđena statistički značajna razlika s obzirom na PEF ($\chi^2=68,89$; $df=2$; $p<0,001$; $\eta^2=0,60$). Daljnjim testiranjem utvrđeno je da je vrijednost PEF bila statistički značajno viša u skupini zdravih pušača u odnosu na KOPB bolesnike bez učestalih egzacerbacija (Mann-Whitney $U=99,5$; $p<0,001$; $r=-0,74$), u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U=30,0$; $p<0,001$; $r=-0,82$). Također, vrijednost PEF je bila statistički značajno viša u skupini KPB bolesnika bez učestalih egzacerbacija u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U=427,5$; $p<0,001$; $r=-0,42$).

5.2.2 CO difuzija

U skupini zdravih pušača je raspodjela CO difuzije statistički značajno odstupala od normalne, stoga su medijan i interkvartilni raspon korišteni kao mjere centralne tendencije i raspršenja u svim skupinama.

Tablica 12. CO difuzija u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	35	53	117	80 (72-85)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	40	28	110	61 (45-71)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	10	89	47 (29-61)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Kruskal-Wallisovim testom utvrđeno je da se skupine statistički značajno razlikuju s obzirom na CO difuziju ($\chi^2=45,1$; $df=2$; $p<0,001$; $\eta^2=0,39$). Daljnjim testiranjima utvrđeno je da je CO difuzija bila statistički značajno viša u skupini zdravih pušača u odnosu na KOPB bolesnike bez učestalih egzacerbacija (Mann-Whitney $U=225,5$;

$p < 0,001$; $r = -0,58$), u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U = 136,0$; $p < 0,001$; $r = -0,70$). Bolesnici bez učestalih egzacerbacija imali su statistički značajno višu CO difuziju u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U = 537,0$; Bonferroni korigirani $p = 0,48$; $r = -0,30$).

5.2.3 Plinska analiza arterijske krvi

pO₂

Raspodjela pO₂ u niti jednoj skupini sudionika nije statistički značajno odstupala od normalne, stoga su kao mjere centralne tendencije i raspršenja korištene aritmetička sredina i standardna devijacija.

Tablica 13. pO₂ u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	M (SD)
Zdravi pušači	35	63	97	81,7 (6,18)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	51	87	70,5 (8,08)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	35	80	62,8 (8,69)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; M = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija

Levenov test nije indicirao heterogenost varijanci skupina ($F = 1,68$; $df_1 = 2$, $df_2 = 114$; $p = 0,191$), a provedenom analizom varijance utvrđeno je da se skupine statistički značajno razlikuju s obzirom na pO₂ ($F = 55,96$; $df_1 = 2$, $df_2 = 114$; $p < 0,001$; parcijalna $\eta^2 = 0,50$). Games-Howellovim post hoc testom utvrđeno je da je pO₂ u skupini zdravih pušača bio statistički značajno viši u odnosu na skupinu KOPB bolesnika bez učestalih egzacerbacija ($p < 0,001$), u odnosu na skupinu bolesnika s učestalim egzacerbacijama ($p < 0,001$). Nadalje, pO₂ je bio statistički značajno viši u skupini bolesnika bez učestalih egzacerbacija u odnosu na one s učestalim egzacerbacijama ($p < 0,001$).

pCO₂

Raspodjela pCO₂ je u svim skupinama izuzev zdravih pušača statistički značajno odstupala od normalne, stoga su medijan i interkvartilni raspon korišteni kao mjere centralne tendencije i raspršenja.

Tablica 14. pCO₂ u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	35	33	46	38 (37-41)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	29	48	39 (38-42)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	33	58	42 (38-45)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Kruskal-Wallisovim testom utvrđeno je da se skupine statistički značajno razlikuju s obzirom na razinu pCO₂ ($\chi^2=10,26$; $df=2$; $p=0,006$; $\eta^2=0,09$). Daljnjim testiranjem nije utvrđena statistički značajna razlika u razini pCO₂ između zdravih pušača i KOPB bolesnika bez učestalih egzacerbacija (Mann-Whitney $U=630,0$; Bonferroni korigirani $p>0,999$). Međutim, zdravi pušači su imali statistički značajno nižu razinu pCO₂ u odnosu na KOPB bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U=430,5$; Bonferroni korigirani $p=0,018$; $r=-0,34$). Između bolesnika bez učestalih egzacerbacija te onih s učestalim egzacerbacijama nije utvrđena statistički značajna razlika u razini pCO₂ (Mann-Whitney $U=589,5$; Bonferroni korigirani $p=0,120$).

pH

Budući da raspodjela pH nije statistički značajno odstupala od normalne jedino u skupini KOPB bolesnika bez učestalih egzacerbacija, u svim skupinama su kao mjere centralne tendencije i raspršenja korišteni medijan i interkvartilni raspon.

Tablica 15. pH u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	35	7,40	7,47	7,42 (7,42-7,44)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	7,35	7,48	7,42 (7,41-7,44)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	7,35	7,46	7,42 (7,41-7,45)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Kruskal-Wallisovim testom nije utvrđena statistički značajna razlika između skupina s obzirom na pH ($\chi^2=0,92$; $df=2$; $p=0,631$).

5.3 Indikatori težine bolesti s obzirom na zdravstveni status

5.3.1 Šestominutni test hoda

Budući da raspodjela rezultata u niti jednoj skupini nije statistički značajno odstupala od normalne, aritmetička sredina i standardna devijacija korištene su kao mjere centralne tendencije i raspršenja.

Tablica 16. Rezultati šestominutnog testa hoda u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	M (SD)
Zdravi pušači	35	330	580	449,3 (75,72)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	120	490	329,4 (78,78)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	170	540	319,4 (83,70)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; M = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija

Levenovim testom utvrđeno je da su varijance skupina homogene ($F=0,19$; $df_1=2$, $df_2=114$; $p=0,830$), čime je zadovoljen preduvjet za provedbu analize varijance. Provedenom analizom utvrđeno je da se rezultati skupina na šestominutnom testu hoda statistički značajno razlikuju ($F=30,30$; $df_1=2$, $df_2=114$; $p<0,001$; parcijalna $\eta^2=0,35$). Games-Howellovim post hoc testom utvrđeno je da su zdravi pušači postigli statistički značajno viši rezultat na šestominutnom testu hoda u odnosu na KOPB bolesnike bez učestalih egzacerbacija ($p<0,001$) te u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama ($p<0,001$). Međutim, između dvije skupine bolesnika nije utvrđena statistički značajna razlika s obzirom na rezultat na šestominutnom testu hoda ($p=0,842$).

Pad saturacije

Vrijednosti saturacije su u svim skupinama statistički značajno odstupale od normalnih, stoga su medijan i interkvartilni raspon korišteni kao mjere centralne tendencije i raspršenja, a skupine su međusobno uspoređene neparametrijskim statističkim testovima.

Tablica 17. Saturacija u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	35	-3%	4%	-1% (-1%-0%)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	-20%	0%	-3% (-5%-(-1%))
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	-24%	0%	-4% (-7%-(-2%))

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Između skupina je utvrđena statistički značajna razlika u padu saturacije ($\chi^2=41,65$; $df=2$; $p<0,001$; $\eta^2=0,20$). Daljnjim usporedbama utvrđeno je da je pad saturacije bio statistički značajno manji u skupini zdravih pušača u odnosu na KOPB bolesnike bez učestalih egzacerbacija (Mann-Whitney $U=208,5$; $p<0,001$; $r=-0,62$) te u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U=170,0$; $p<0,001$; $r=-0,66$). Između dviju skupina bolesnika nije utvrđena statistički značajna razlika u padu saturacije (Mann-Whitney $U=687,5$; Bonferroni korigirani $p=0,459$).

5.3.2 BODE indeks

Tablica 18. BODE indeks u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	35	0	1	0 (0-0)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	0	8	2 (1-4)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	1	8	5 (3-6)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Kruskal-Wallisovim testom utvrđena je statistički značajna razlika između tri skupine sudionika s obzirom na BODE indeks ($\chi^2=77,14$; $df=2$; $p<0,001$; $\eta^2=0,67$). Daljnjim testiranjima utvrđeno je da su zdravi pušači imali statistički značajno niži BODE indeks u odnosu na bolesnike s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija (Mann-Whitney $U=74,5$;

$p < 0,001$; $r = -0,81$) te u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U = 2,0$; $p < 0,001$; $r = -0,89$). Također, BODE indeks je bio statistički značajno niži u skupini bolesnika bez učestalih egzacerbacija u odnosu na onu s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U = 410,0$; $p < 0,001$; $r = -0,45$).

5.3.3 CAT upitnik

Budući da su raspodjele rezultata u skupini zdravih pušača te KOPB bolesnika bez učestalih egzacerbacija statistički značajno odstupale od normalnih u svim skupinama su kao mjere centralne tendencije i raspršenja korišteni medijan i interkvartilni raspon.

Tablica 19. Rezultati CAT upitnika u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	35	0	3	0 (0-1)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	7	28	14 (11-19)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	12	32	24 (20-28)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Kruskal-Wallisovim testom je utvrđena statistički značajna razlika između skupina s obzirom na rezultate CAT upitnika ($\chi^2 = 90,05$; $df = 2$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,78$). Daljnjim testiranjima utvrđeno je da su zdravi pušači imali statistički značajno niži rezultat na CAT upitniku u odnosu na KOPB bolesnike bez učestalih egzacerbacija (Mann-Whitney $U = 0,00$; $p < 0,001$; $r = -0,87$), u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U = 0,00$; $p < 0,001$; $r = -0,87$). Nadalje, KOPB bolesnici bez učestalih egzacerbacija imali su statistički značajno niži rezultat u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U = 218,5$; $p < 0,001$; $r = -0,64$).

5.3.4 Skala zaduhe (MMRC skala)

Tablica 20. Rezultati MMRC skale u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	35	0	1	0 (0-0)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	0	3	2 (1-2)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	1	4	2 (2-3)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Između skupina je utvrđena statistički značajna razlika s obzirom na rezultat na MMRC skali ($\chi^2=72,04$; $df=2$; $p<0,001$; $\eta^2=0,63$). Pri tome su zdravi pušači imali statistički značajno niži rezultat u odnosu na bolesnike s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija (Mann-Whitney $U=102,5$; $p<0,001$; $r=-0,78$), u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U=20,0$; $p<0,001$; $r=-0,87$). Bolesnici s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija su imali statistički značajno niži rezultat u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U=500,0$; Bonferroni korigirani $p=0,006$; $r=-0,37$).

5.4 Biljezi sistemske upale s obzirom na zdravstveni status

5.4.1 C-reaktivni protein

Raspodjela razine CRP-a je u svim skupinama statistički značajno odstupala od normalne, stoga su kao mjere centralne tendencije i raspršenja korišteni medijan i interkvartilni raspon, dok su skupine uspoređene neparametrijskim testovima.

Tablica 21. CRP u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	35	0,4	12,3	1,7 (0,8-3,4)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	0,4	28,6	2,7 (1,6-4,1)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	0,4	90,5	5,6 (2,5-14,8)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Kruskal-Wallisovim testom utvrđeno je da se skupine statistički značajno razlikuju s obzirom na razinu CRP-a ($\chi^2=19,43$; $df=2$; $p<0,001$; $\eta^2=0,17$). Daljnjim testiranjem nije utvrđena statistički značajna razlika između zdravih pušača i bolesnika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija (Mann-Whitney $U=544,0$; Bonferroni korigirani $p=0,420$), no zdravi pušači imali su statistički značajno nižu razinu CRP-a u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U=319,0$; $p<0,001$; $r=-0,48$). Također, bolesnici bez učestalih egzacerbacija imali su statistički značajno nižu razinu CRP-a u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U=523,5$; Bonferroni korigirani $p=0,018$; $r=-0,32$).

5.4.2 Fibrinogen

U skupini bolesnika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija je raspodjela vrijednosti fibrinogena statistički značajno odstupala od normalne, stoga su u svim skupinama kao mjere centralne tendencije i raspršenja korišteni medijan i interkvartilni raspon.

Tablica 22. Fibrinogen u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	35	2,0	5,8	3,7 (3,2-4,7)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	2,6	8,0	4,1 (3,7-4,9)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	2,1	8,5	4,8 (3,8-6,1)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Između skupina je utvrđena statistički značajna razlika u vrijednostima fibrinogena ($\chi^2=13,67$; $df=2$; $p=0,001$; $\eta^2=0,12$), stoga su one međusobno uspoređene serijom Mann-Whitneyevih U testova. Pri tome između zdravih pušača i bolesnika bez učestalih egzacerbacija nije utvrđena statistički značajna razlika (Mann-Whitney $U=552,0$; Bonferroni korigirani $p=0,504$), no zdravi pušači su imali statistički značajno nižu razinu fibrinogena u odnosu na učestale egzacerbatore (Mann-Whitney $U=390,5$; Bonferroni korigirani $p=0,006$; $r=-0,39$). Između bolesnika bez učestalih egzacerbacija te onih s učestalim egzacerbacijama nije utvrđena statistički značajna razlika (Mann-Whitney $U=576,0$; Bonferroni korigirani $p=0,084$).

5.4.3 Leukociti

Tablica 23. Leukociti u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	35	4,8	14,0	7,9 (6,7-9,2)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	4,5	12,3	7,8 (6,6-8,8)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	4,6	13,6	8,0 (6,9-9,6)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Kruskal-Wallisovim testom nije utvrđena statistički značajna razlika između skupina s obzirom na razinu leukocita ($\chi^2=1,01$; $df=2$; $p=0,605$; $\eta^2=0,01$)

5.5 Biljezi endotelne funkcije s obzirom na zdravstveni status

5.5.1 Endotelin-1

Raspodjela endotelina-1 u niti jednoj skupini nije statistički značajno odstupala od normalne, stoga su kao mjere centralne tendencije i raspršenja korištene aritmetička sredina i standardna devijacija, a skupine su međusobno uspoređene putem analize varijance.

Tablica 24. Razina endotelina-1 u pojedinoj skupini sudionika

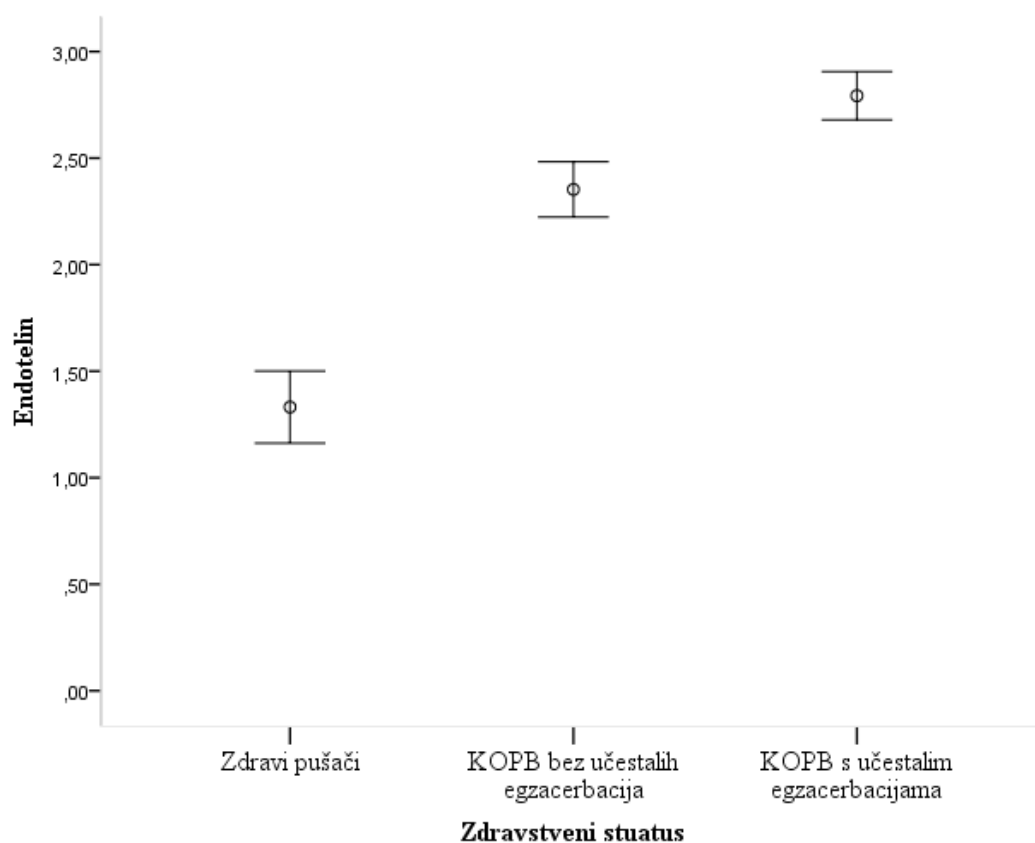
	n	min	max	M (SD)
Zdravi pušači	35	0,48	2,69	1,33 (0,492)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	1,63	3,16	2,35 (0,411)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	2,08	3,82	2,79 (0,359)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; M = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija

Levenov test nije indicirao heterogene varijance (Levenov statistik=1,531; $df_1=2$, $df_2=114$; $p=0,221$). Provedenom analizom varijance utvrđeno je da između skupina postoji statistički značajna razlika u razini ET-1 ($F=118,14$; $df_1=2$; $df_2=114$; $p<0,001$; parcijalna $\eta^2=0,68$). Games-Howellovim post hoc testom utvrđeno je da u skupini zdravih sudionika razina ET-1 bila statistički značajno niža u odnosu na skupinu bolesnika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija ($p<0,001$), bolesnika s učestalim egzacerbacijama ($p<0,001$). Nadalje, skupina bolesnika bez učestalih egzacerbacija

imala je statistički značajno nižu razinu ET-1 u odnosu na učestale egzacerbatore ($p < 0,001$).

Slika 1. Aritmetičke sredine i 95%-tni intervali pouzdanosti razine endotelina prema zdravstvenom statusu



Von Willebrand faktor

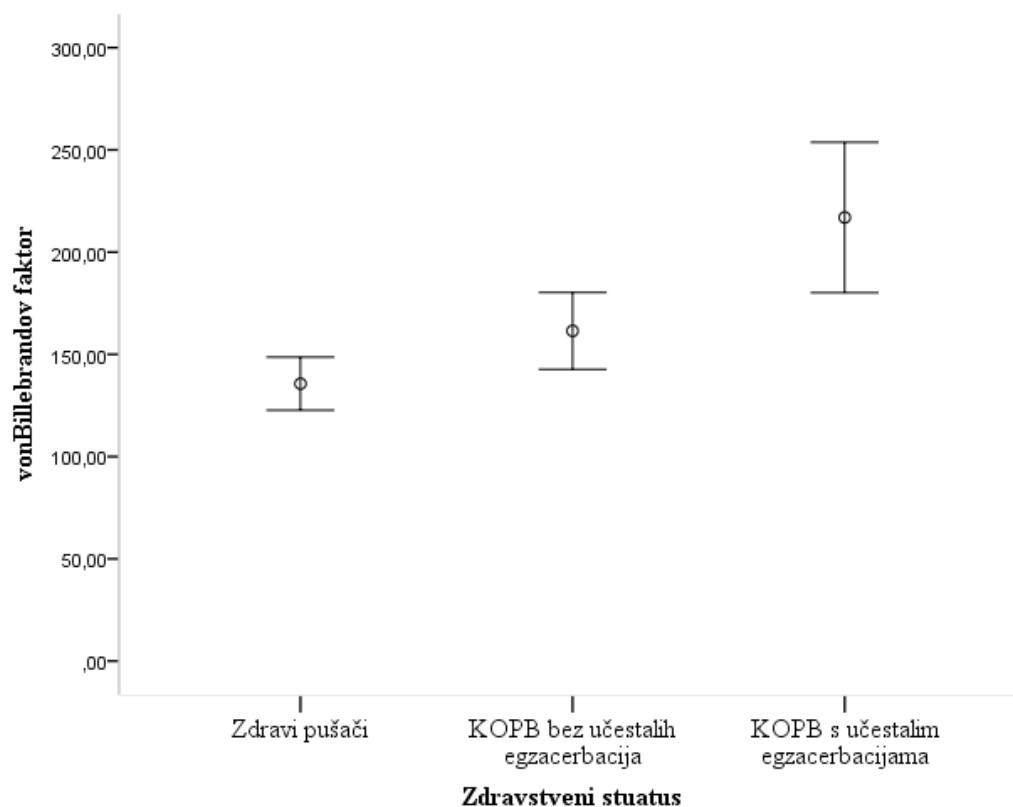
U skupini bolesnika s KOPB-om i učestalim egzacerbacijama Kolmogorov-Smirnov test je indicirao statistički značajno odstupanje vrijednosti vWF od normalne raspodjele, stoga su u svim skupinama kao mjere centralne tendencije i raspršenja korišteni medijan i interkvartilni raspon, a skupine su uspoređene neparametrijskim testovima.

Tablica 25. Von Willebrand faktor u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	34	66,2	212,0	132,1 (105,7-168,0)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	41	81,1	415,6	157,5 (120,5-193,5)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	41	93,6	600,0	181,0 (147,8-269,8)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Kruskal-Wallisovim testom utvrđeno je da između skupina postoji statistički značajna razlika s obzirom na vWF ($\chi^2=17,94$; $df=2$; $p<0,001$; $\eta^2=0,16$), stoga su skupine dodatno uspoređene serijom Mann-Whitneyevih U testova uz Bonferronijevu korekciju razine statističke značajnosti. Provedenom analizom nije utvrđena statistički značajna razlika između zdravih sudionika te oboljelih od KOPB-a bez učestalih egzacerbacija (Mann-Whitney $U=512,0$; Bonferroni korigirani $p=0,294$). No, zdravi sudionici imali su statistički značajno nižu razinu vWF u odnosu na KOPB bolesnike s učestalim egzacerbacijama (Mann-Whitney $U=315,0$; $p<0,001$; $r=-0,47$).. Bolesnici s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija imali su marginalno statistički značajno nižu razinu vWF od učestalih egzacerbatora (Mann-Whitney $U=562,5$; Bonferroni korigirani $p=0,060$).



Slika 2. Aritmetičke sredine i 95%-tni intervali pouzdanosti razine vonWillebrandovog faktora prema zdravstvenom statusu

5.5.2 NMD i FMD indeksi

U skupini KOPB bolesnika s učestalim egzacerbacijama raspodjela NMD indeksa je statistički značajno odstupala do normalne, stoga su u svim skupinama kao mjere centralne tendencije i raspršenja korišteni medijan i interkvartilni raspon.

Tablica 26. NMD indeks u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	Medijan (IQR)
Zdravi pušači	35	10,9%	23,3%	13,7% (12,5%-16,1%)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	39	9,3%	19,5%	13,3% (11,9%-14,7%)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	40	10,0%	19,1%	12,8% (11,6%-14,8%)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; IQR = interkvartilni raspon

Između tri skupine sudionika nije u utvrđena statistički značajna razlika u NMD indeksu ($\chi^2=4,06$; $df=2$; $p=0,131$).

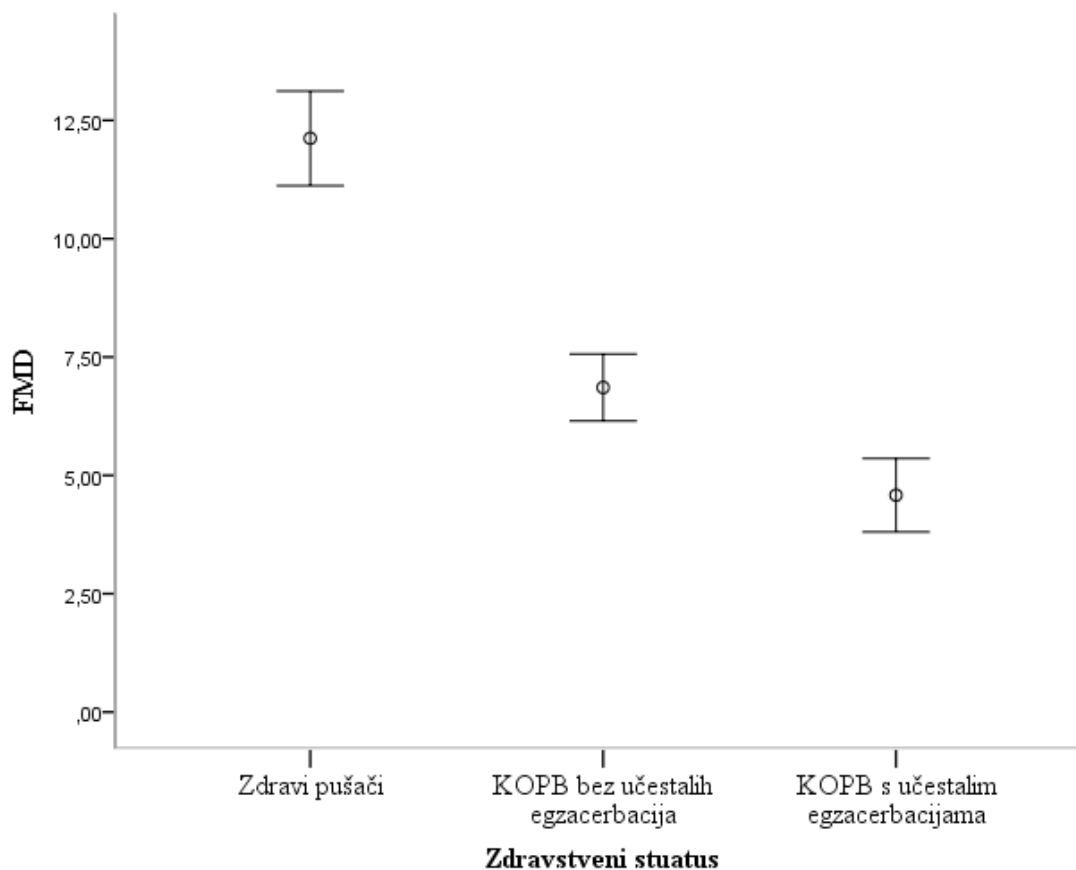
Kad je riječ o FMD indeksu, raspodjela rezultata u niti jednoj skupini nije statistički značajno odstupala od normalne, stoga su kao mjere centralne tendencije i raspršenja korištene aritmetička sredina i standardna devijacija.

Tablica 27. FMD indeks u pojedinoj skupini sudionika

	n	min	max	M (SD)
Zdravi pušači	35	6,4%	21,8%	12,1% (2,91)
KOPB bez učestalih egzacerbacija	39	2,2%	10,8%	6,9% (2,18)
KOPB s učestalim egzacerbacijama	40	0,0%	10,9%	4,6% (2,43)

KRATICE: n = broj sudionika; min = minimalna vrijednost; max = maksimalna vrijednost; M = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija

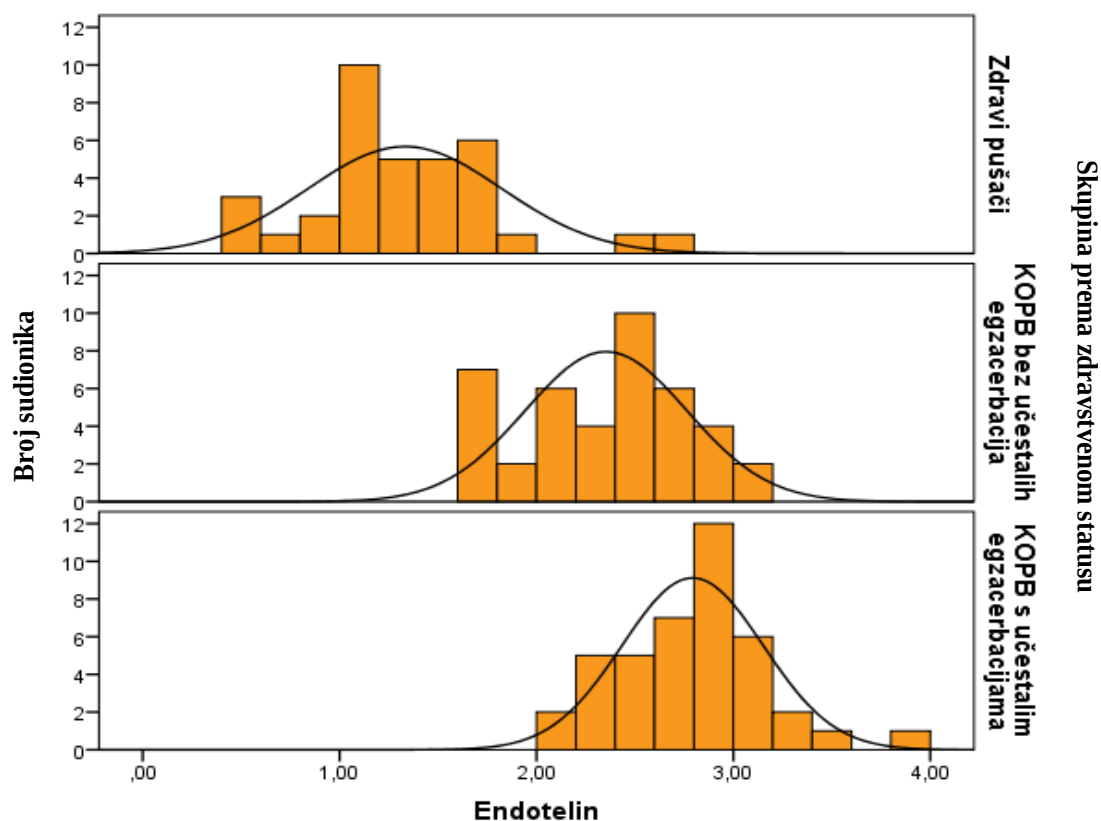
Levenovim testom utvrđeno je da su varijance skupina homogene ($F=0,49$; $df1=2$, $df2=111$; $p=0,616$), čime je zadovoljen preduvjet za analizu varijance. Provedenom analizom utvrđeno je da između skupina postoji statistički značajna razlika u FMD indeksu ($F=87,37$; $df1=2$, $df2=111$; $p<0,001$; parcijalna $\eta^2=0,61$). Games-Howellovim post hoc testom utvrđeno je da je FMD indeks u skupini zdravih pušača bio statistički značajno viši u odnosu na skupinu bolesnika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija ($p<0,001$) te u odnosu na skupinu bolesnika s učestalim egzacerbacijama ($p<0,001$). Također, bolesnici bez učestalih egzacerbacija imali su statistički značajno viši FMD indeks u odnosu na bolesnike s učestalim egzacerbacijama ($p<0,001$).



Slika 3. Aritmetičke sredine i 95%-tni intervali pouzdanosti razine FMD prema zdravstvenom statusu

5.6 Povezanost biljega endotelne disfunkcije

Raspodjela sva tri biljega endotelne disfunkcije nije se statistički značajno razlikovala od teorijski očekivane normalne raspodjele (Slika 4). Nisu postojali ni rezultati koji bi izrazito odstupali od aritmetičkih sredina (engl. outliers). Zato smo analizu povezanosti biljega endotelne disfunkcije istražili Pearsonovim koeficijentom korelacije (r) (Tablica 28).



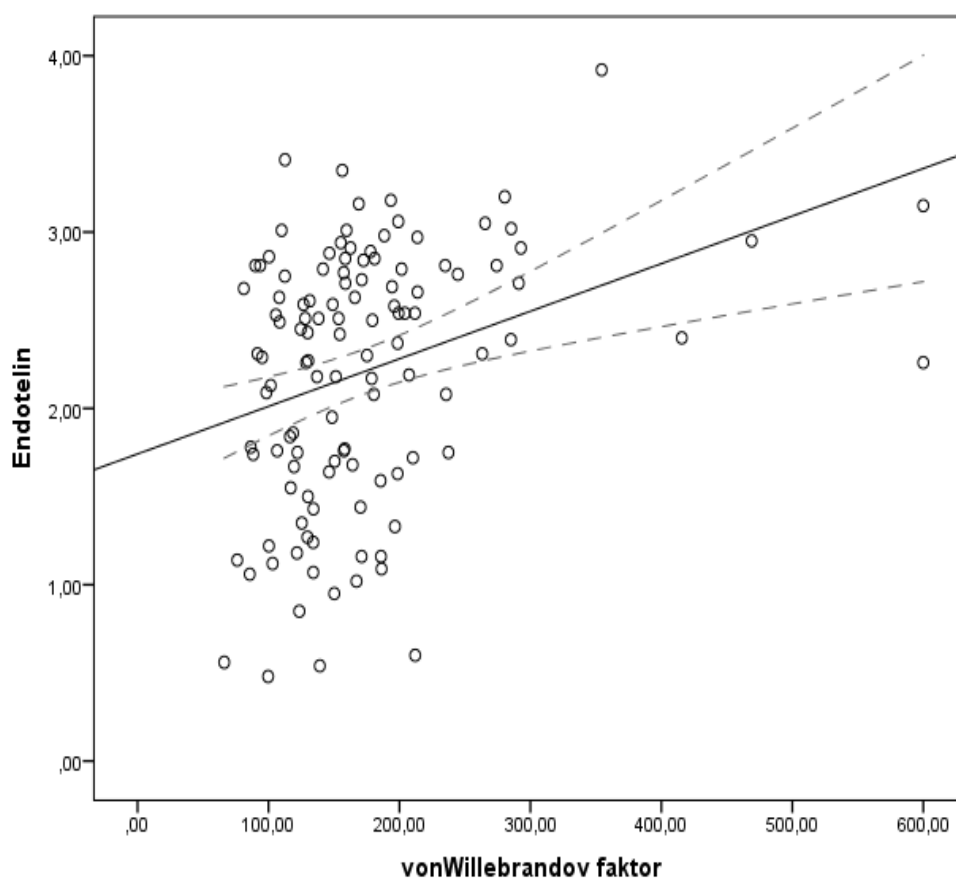
Slika 4. Raspodjele biljega endotelne disfunkcije prema zdravstvenom statusu

U cijelom uzorku, dakle, neovisno o zdravstvenom statusu sva tri biljega endotelne disfunkcije bili su međusobno statistički značajno povezani (Tablica 28). Niti u jednom slučaju odstupanja od linearne povezanosti nisu bila statistički značajna. Endotelin i von Willebrandov faktor bili su umjereno povezani ($R^2=0,10$). Oko 10% njihove varijance bilo je povezano. Endotelin i FMD bili su visoko negativno povezani ($R^2=0,44$). Oko 44% njihove varijance bilo je negativno povezano. Između von Willebrandova faktora i FMD dobivena je najmanja i negativna korelacija ($R^2=0,07$). Oko 7% njihove varijance bilo je povezano.

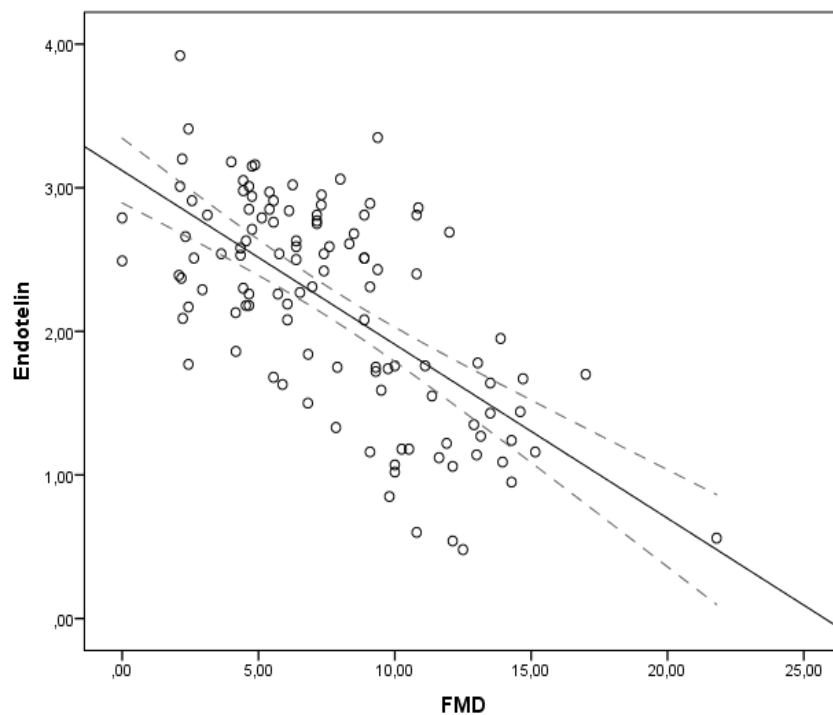
Tablica 28. Korelacija biljega endotelne disfunkcije, cijeli uzorak (n=117)

	Endotelin	Von Willebrandov faktor	FMD
	r P	r P	r P
Endotelin	1	0,32 <0,001	-0,66 <0,001
Von Willebrandov faktor	0,32 <0,001	1	-0,27 0,004
FMD	-0,66 <0,001	-0,27 0,004	1

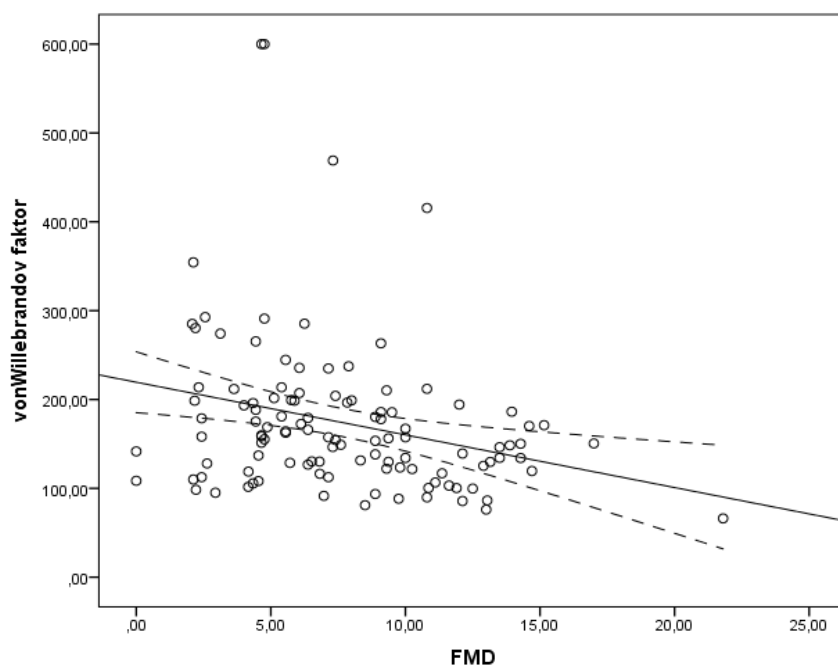
r = Pearsonov koeficijent korelacije; P = statistička značajnost koeficijenta korelacije



Slika 5. Korelacija endotelina i von Willebrandovog faktora. Puna crta predstavlja crtu najmanjih kvadrata odstupanja, a isprekidane crte 95%-tni interval pouzdanosti



Slika 6. Korelacija endotelina i FMD. Puna crta predstavlja crtu najmanjih kvadrata odstupanja, a isprekidane crte 95%-tni interval pouzdanosti



Slika 7. Korelacija von Willebrandovog faktora i FMD. Puna crta predstavlja crtu najmanjih kvadrata odstupanja, a isprekidane crte 95%-tni interval pouzdanosti

Tablica 29. Korelacije biljega endotelne disfunkcije prema zdravstvenom statusu

		Endotelin	vonWillebrandov faktor	FMD
		r P	r P	r P
Zdravi pušači	Endotelin	1	0,11 0,552	-0,23 0,191
	vW faktor	0,11 0,552	1	-0,23 0,199
	FMD	-0,23 0,191	-0,23 0,199	1
KOPB bez učestalih egzacerbacija	Endotelin	1	0,00 >0,999	0,10 0,545
	vW faktor	0,00 >0,999	1	0,33 0,040
	FMD	0,10 0,545	0,33 0,040	1
KOPB s učestalim egzacerbacijama	Endotelin	1	0,10 0,525	0,09 0,600
	vW faktor	0,10 0,525	1	-0,05 0,774
	FMD	0,09 0,600	-0,05 0,774	1

vW faktor = von Willebrandov faktor; r = Pearsonov koeficijent korelacije; P = statistička značajnost

koeficijenta korelacije

5.7 Povezanost biljega endotelne funkcije s kliničkim karakteristikama

5.7.1 Endotelin-1

Iako je u slučaju nekih subuzoraka utvrđeno statistički značajno odstupanje rezultata od normalne raspodjele, aritmetička sredina i standardna devijacija su korištene kao mjere centralne tendencije i raspršenja, a za analizu razlika je korišten t-test kako bi rezultati bili usporedivi s rezultatima linearne regresije.

Tablica 30. Endotelin-1 s obzirom na spol, pušenje i prateće bolesti u pojedinoj skupini sudionika

	Zdravi pušači		KOPB, bez učestalih egzacerbacija		KOPB, učestale egzacerbacije	
	M (SD)	P	M (SD)	P	M (SD)	P
Spol						
muški	1,35 (0,483)	0,844	2,33 (0,405)	0,670	2,82 (0,375)	0,343
ženski	1,31 (0,518)		2,39 (0,439)		2,70 (0,300)	
Pušenje						
bivši pušač	1,33 (0,492)	-	2,28 (0,450)	0,207	2,80 (0,364)	0,908
pušač	- -		2,45 (0,338)		2,78 (0,361)	
Arterijska hipertenzija						
ne	1,32 (0,446)	0,802	2,42 (0,310)	0,397	2,75 (0,361)	0,579
da	1,38 (0,728)		2,31 (0,466)		2,82 (0,362)	
Dijabetes						
ne	1,29 (0,454)	-	2,39 (0,399)	0,092	2,80 (0,369)	0,731
da	- -		2,06 (0,423)		2,74 (0,305)	
KV bolesti						
ne	1,36 (0,483)	-	2,43 (0,388)	0,005	2,73 (0,365)	0,131
da	- -		1,97 (0,302)		2,90 (0,330)	

KRATICE: M = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija; P = razina statističke značajnosti; rezultat t-testa

U skupini oboljelih od KPPB-a s učestalim egzacerbacijama sudionici bez KV bolesti imali su statistički značajno višu razinu endotelina-1 u odnosu na sudionike s KV bolestima ($t=2,98$; $df=39$; $p=0,005$)

Tablica 31. Endotelin-1 s obzirom na težinu bolesti i terapiju

	KOPB, bez učestalih egzacerbacija		KOPB, učestale egzacerbacije	
	M (SD)	P	M (SD)	P; učinak
Težina KOPB prema spirometriji				
I ili II	2,27 (0,449)	0,209	2,77 (0,372)	0,811
III ili IV	2,43 (0,364)		2,80 (0,361)	
Težina KOPB prema GOLD				
A ili B	2,34 (0,399)	0,685	--	-
C ili D	2,39 (0,455)		--	
Težina KOPB prema GOLD				
C	--	-	2,60 (0,236)	0,194
D	--		2,82 (0,367)	
ICS + LABA				
ne	2,40 (0,462)	0,637	--	-
da	2,33 (0,390)		--	
Teofilin ili Daxas				
ne	2,33 (0,436)	0,470	2,78 (0,302)	0,916
da	2,45 (0,287)		2,80 (0,385)	
Oksigenoterapija				
ne	--	-	2,77 (0,332)	0,341
da	--		2,92 (0,504)	

KRATICE: M = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija; P = razina statističke značajnosti; rezultat t-testa

Tablica 32. Povezanost endotelina-1 sa antropometrijskim i biokemijskim parametrima u pojedinoj skupini sudionika

	Zdravi pušači		KOPB, bez učestalih egzacerbacija		KOPB, učestale egzacerbacije	
	r	P	r	P	r	P
Dob	0,13	0,467	-0,47	0,002	-0,01	0,972
Efektivne godine pušenja	-0,16	0,372	0,06	0,710	-0,14	0,396
Sistolički krvni tlak	0,06	0,743	-0,17	0,277	-0,04	0,809
Dijastolički krvni tlak	-0,04	0,804	0,27	0,092	0,26	0,106
BMI	0,06	0,754	-0,11	0,496	0,14	0,401
Eritrociti	0,11	0,540	0,11	0,509	0,23	0,150
Hemoglobin	0,16	0,352	0,04	0,802	0,06	0,728
Hematokrit	0,13	0,475	-0,02	0,922	0,11	0,502
Trombociti	-0,21	0,238	0,03	0,873	0,11	0,503
MPV	-0,09	0,596	-0,07	0,685	0,05	0,772
GUK	0,38	0,025	-0,22	0,177	-0,16	0,316
GGT	-0,20	0,245	0,06	0,723	0,34	0,032
Urea	0,05	0,757	-0,26	0,103	-0,12	0,464
Kreatinin	0,21	0,233	-0,13	0,403	-0,003	0,986

KRATICE: r = Pearsonov koeficijent korelacije; P = razina statističke značajnosti

U skupini zdravih pušača utvrđena je statistički značajna pozitivna povezanost između glukoze i endotelina-1 ($r=0,38$; $p=0,25$). Drugim riječima, u ovoj skupini sudionika su više razine glukoze bile povezane s višim razinama endotelina-1. Dob je u skupini oboljelih od KOPB-a bez učestalih egzacerbacija bila statistički značajno negativno povezana s razinom endotelina-1 ($r=-0,47$; $p=0,002$), dok je u skupini oboljelih od KOPB-a s učestalim egzacerbacijama utvrđena statistički značajna pozitivna povezanost između endotelina-1 i GGT ($r=0,34$; $p=0,032$).

Tablica 33. Povezanost endotelina-1 s trajanjem liječenja, biljezima sistemske upale, plućnom funkcijom, karakteristikama bolesti te endotelnom funkcijom u pojedinoj skupini sudionika

	Zdravi pušači		KOPB, bez učestalih egzacerbacija		KOPB, učestale egzacerbacije	
	r	P	r	P	r	P
Trajanje liječenja KOPB	-	-	-0,01	0,935	0,13	0,420
Biljezi sistemske upale						
CRP	0,05	0,797	-0,08	0,616	0,13	0,408
fibrinogen	-0,05	0,778	0,26	0,106	-0,06	0,701
leukociti	-0,02	0,933	-0,06	0,708	-0,04	0,784
Plućna funkcija						
FEV1	-0,11	0,523	-0,25	0,121	-0,03	0,853
FVC	-0,12	0,501	-0,07	0,675	-0,16	0,306
FEV1/FVC	-0,05	0,764	-0,17	0,277	0,03	0,840
PEF	0,14	0,425	-0,20	0,220	0,23	0,153
CO difuzija	-0,32	0,065	-0,20	0,219	-0,09	0,594
pO ₂	0,17	0,333	-0,03	0,849	-0,09	0,566
pCO ₂	-0,20	0,254	0,07	0,662	0,04	0,811
pH	0,19	0,289	-0,03	0,864	0,02	0,894
Karakteristike bolesti						
Šestominutni test hoda	-0,25	0,150	0,15	0,337	-0,10	0,525
Saturacija	-0,08	0,637	-0,06	0,700	0,14	0,382
BODE indeks	0,29	0,089	0,05	0,776	0,03	0,852
CAT upitnik	-0,13	0,462	0,16	0,311	0,23	0,153
Skala zaduhe (MMRC)	-0,02	0,895	0,19	0,233	0,18	0,270
Endotelna funkcija						
von Willebrand faktor	0,11	0,552	0,00	>0,999	0,10	0,525
FMD indeks	-0,23	0,191	0,10	0,545	0,09	0,600

KRATICE: r = Pearsonov koeficijent korelacije; P = razina statističke značajnosti

Kako bi se odredio samostalni doprinos pojedine varijable pri predikciji endotelina-1, napravljeno je multivarijatno predviđanje njegove razine u pojedinoj skupini sudionika. No, budući da je postojao velik broj varijabli te su uzorci bili relativno mali, korištena je selekcijska metoda odabira varijabli unaprijed (engl. forward selection), pri čemu je, zbog odnosa broja prediktora i veličine uzorka kriterij za ulazak varijabli u prediktivni model bila razina statističke značajnosti $p=0,150$ (Bendel i Afifi, 1977). Također, spol i dob su činili kontrolne varijable, stoga je rađena hijerarhijska analiza u kojoj su u prvom koraku u regresijski model uneseni spol i dob, dok se preostale varijable u model unesene u drugom koraku analize selekcijskim putem.

Tablica 34. Multivarijatno predviđanje razine endotelina-1 u pojedinoj skupini

sudionika

	b	β	P
Zdravi pušači			
Spol	0,83	0,84	0,005
Dob	0,01	0,11	0,497
GUK	0,22	0,49	0,002
CO difuzija	-0,01	-0,43	0,003
BODE indeks	0,59	0,38	0,014
Hemoglobin	0,02	0,45	0,008
pO ₂	0,03	0,43	0,007
FEV ₁ /FVC	-0,03	-0,46	0,019
Fibrinogen	0,14	0,28	0,066
Kreatinin	0,01	0,30	0,147
KOPB, bez učestalih egzacerbacija			
Spol	-0,01	-0,02	0,922
Dob	-0,01	-0,34	0,043
KV bolesti	-0,31	-0,29	0,080
KOPB, učestale egzacerbacije			
Spol	-0,20	-0,24	0,041
Dob	-0,01	-0,32	0,019
GGT	0,01	0,38	0,001
Dijastolički tlak	0,02	0,33	0,005
Saturacija	0,05	0,56	<0,001
KV bolesti	0,22	0,30	0,017
pO ₂	0,002	0,04	0,742
Eritrociti	0,32	0,43	0,001
PEF	0,02	0,77	<0,001
CO difuzija	-0,01	-0,53	0,004
Težina KOPB prema spirometriji	0,39	0,41	0,004
BODE indeks	-0,19	-0,88	<0,001
6 minutni test hoda (m)	-0,002	-0,57	0,002
Skala zaduhe (MMRC)	0,30	0,71	0,001
MPV	-0,08	-0,35	0,007
CAT upitnik	-0,02	-0,25	0,074
Efektivne godine pušenja	-0,004	-0,19	0,104

KRATICE: b = nestandardizirani (sirovi) parcijalni regresijski koeficijent; β = standardizirani parcijalizirani regresijski koeficijent; P = razina statističke značajnosti

Ukupan prediktivni model objašnjavao je 64,6% varijance endotelina-1 u kontrolnoj skupini ($R^2=0,646$; $p=0,002$), dok je u skupini sudionika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija objašnjavao 27,2% varijance endotelina-1 ($R^2=0,272$; $p=0,012$). U skupini sudionika s KOPB-om s učestalim egzacerbacijama varijablama zadržanim u modelu objašnjen je najveći udio varijance endotelina-1; 84,2% ($R^2=0,842$; $p<0,001$).

U skupini zdravih pušača, uz kontrolu drugih varijabli, spol je bio statistički značajan prediktor razine ET-1. Budući da su sudionici muškog spola bili referentna grupa, a regresijski koeficijent se odnosi na razliku između dane i referentne grupe (pr. Cohen i Cohen, 1983), na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da su žene imale statistički značajno višu razinu endotelina-1 u odnosu na muškarce ($b=0,83$; $p=0,005$).

Multivarijantnim predviđanjem također je utvrđeno da su u ovoj skupini sudionika više razine glukoze ($b=0,22$; $p=0,002$), viši BODE indeks ($b=0,59$; $p=0,014$) te više razine hemoglobina ($b=0,02$; $p=0,008$) i pO_2 ($b=0,03$; $p=0,007$) bile statistički značajno povezane s višom razinom endotelina-1. S druge strane, više razine CO difuzije ($b=-0,01$; $p=0,003$) te niži FEV1/FVC ($b=-0,03$; $p=0,019$) bili su statistički značajno povezani s nižim razinama endotelina-1.

U skupini sudionika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija jedini statistički značajan prediktor bila je dob sudionika, pri čemu je niža dob bila povezana s višom razinom ET-1 ($b=-0,01$; $p=0,043$).

U skupini sudionika s KOPB-om s učestalim egzacerbacijama, muški sudionici su imali statistički značajno višu razinu ET-1 u odnosu na sudionice ($b=-0,20$; $p=0,041$). Sudionici s KV bolestima imali su statistički značajno višu razinu ET-1 u odnosu na one bez KV bolesti ($b=0,22$; $p=0,017$) te su sudionici sa III ili IV stupanjem težine KOPB-a

prema spirometriji imali statistički značajno višu razinu ET-1 u odnosu na sudionike sa stupnjem I ili II ($b=0,39$; $p=0,04$).

Također, više razine GGT ($b=0,01$; $p=0,001$), dijastoličkog krvnog tlaka ($b=0,02$; $p=0,005$), saturacije ($b=0,05$; $p<0,001$), eritrocita ($b=0,32$; $p=0,001$), PEF-a ($b=0,02$; $p<0,001$) te viši rezultat na MMRC skali ($b=0,30$; $p=0,001$) bili su statistički značajno povezani s višom razinom ET-1. S druge strane, viša dob ($b=-0,01$; $p=0,019$), CO difuzija ($b=-0,01$; $p=0,004$) te MPV ($b=-0,08$; $p=0,07$) bili su statistički značajno povezani s nižim razinama ET-1. Statistički značajna negativna povezanost s razinom ET-1 u ovoj skupini je utvrđena i kad je riječ o BODE indeksu ($b=-0,19$; $p<0,001$) te rezultatu na šestominutnom testu hoda ($b=-0,002$; $p=0,002$).

Von Willebrand faktor

Tablica 35. Von Willebrand faktor s obzirom na spol, pušenje i prateće bolesti u pojedinoj skupini sudionika

	Zdravi pušači		KOPB, bez učestalih egzacerbacija		KOPB, učestale egzacerbacije	
	M (SD)	P	M (SD)	P	M (SD)	P
Spol						
muški	136,2 (38,61)	0,924	155,6 (45,26)	0,363	228,1 (126,37)	0,287
ženski	135,0 (36,90)		174,1 (83,49)		182,5 (72,96)	
Pušenje						
bivši pušač	135,7 (37,30)	-	156,3 (43,02)	0,513	231,7 (128,29)	0,291
pušač	- -		168,8 (78,19)		191,3 (90,93)	
Arterijska hipertenzija						
ne	135,9 (37,58)	0,940	144,5 (46,35)	0,147	190,7 (121,40)	0,254
da	134,5 (39,88)		172,3 (65,25)		233,7 (112,48)	
Dijabetes						
ne	134,9 (37,94)	-	159,8 (61,65)	0,623	218,8 (123,31)	0,788
da	- -		174,0 (44,85)		203,5 (48,68)	
KV bolesti						
ne	133,3 (35,32)	-	161,1 (62,97)	0,928	220,5 (135,84)	0,798
da	- -		163,4 (42,97)		210,7 (75,82)	

KRATICE: M = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija

Tablica 36. Von Willebrand faktor s obzirom na težinu bolesti i terapiju

	KOPB, bez učestalih egzacerbacija		KOPB, učestale egzacerbacije	
	M (SD)	P	M (SD)	P; učinak
Težina KOPB prema spirometriji				
I ili II	172,3 (74,76)	0,262	279,3 (169,32)	0,247
III ili IV	151,2 (39,49)		201,8 (97,36)	
Težina KOPB prema GOLD				
A ili B	160,6 (65,53)	0,881	--	-
C ili D	163,7 (44,37)		--	
Težina KOPB prema GOLD				
C	--	-	211,3 (150,13)	0,909
D	--		217,7 (113,69)	
ICS + LABA				
ne	175,9 (81,80)	0,271	--	-
da	154,0 (44,10)		--	
Teofilin ili Daxas				
ne	164,2 (63,83)	0,562	227,6 (103,05)	0,713
da	150,4 (38,44)		212,5 (123,05)	
Oksigenoterapija				
ne	--	-	213,1 (122,13)	0,613
da	--		239,6 (79,98)	

KRATICE: M = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija; P = razina statističke značajnosti; rezultat t-testa

Tablica 37. Povezanost von Willebrand faktora sa antropometrijskim i biokemijskim parametrima u pojedinoj skupini sudionika

	Zdravi pušači		KOPB, bez učestalih egzacerbacija		KOPB, učestale egzacerbacije	
	r	P	r	P	r	P
Dob	0,17	0,350	0,05	0,763	0,18	0,272
Efektivne godine pušenja	0,16	0,380	0,45	0,003	0,25	0,118
Sistolički krvni tlak	0,15	0,412	0,35	0,026	0,16	0,334
Dijastolički krvni tlak	0,07	0,685	0,16	0,326	0,23	0,156
BMI	0,05	0,788	0,05	0,779	0,16	0,312
Eritrociti	-0,05	0,773	0,19	0,247	-0,31	0,051
Hemoglobin	-0,004	0,983	0,16	0,307	-0,24	0,134
Hematokrit	-0,05	0,790	0,17	0,301	-0,30	0,061
Trombociti	-0,17	0,324	0,002	0,992	0,16	0,331
MPV	-0,06	0,732	-0,08	0,621	-0,06	0,701
GUK	-0,09	0,606	0,07	0,650	0,01	0,949
GGT	0,37	0,032	-0,08	0,618	0,13	0,417
Urea	0,14	0,448	0,02	0,887	-0,18	0,262
Kreatinin	0,16	0,380	0,04	0,806	-0,03	0,840

KRATICE: r = Pearsonov koeficijent korelacije; P = razina statističke značajnosti

U skupini zdravih pušača utvrđena je statistički značajna pozitivna povezanost između razine GGT i vWF ($r=0,37$; $p=0,032$). Drugim riječima, više razine GGT bile su povezane s višim razinama vWF. U skupini sudionika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija utvrđena je statistički značajna pozitivna povezanost između vWF i efektivnih godina pušenja ($r=0,45$; $p=0,003$) te sistoličkog krvnog tlaka ($r=0,35$; $p=0,026$).

Tablica 38. Povezanost von Willebrand faktora s trajanjem liječenja, biljezima

sistemske upale, plućnom funkcijom, karakteristikama bolesti te endotelnom funkcijom u pojedinoj skupini sudionika

	Zdravi pušači		KOPB, bez učestalih egzacerbacija		KOPB, učestale egzacerbacije	
	r	P	r	P	r	P
Trajanje liječenja KOPB	-	-	0,01	0,948	0,34	0,029
Biljezi sistemske upale						
CRP	0,04	0,822	-0,15	0,354	0,30	0,058
fibrinogen	0,21	0,231	0,02	0,925	0,49	0,001
leukociti	0,13	0,461	-0,17	0,281	0,15	0,335
Plućna funkcija						
FEV1	0,29	0,095	-0,04	0,798	0,15	0,363
FVC	0,29	0,091	-0,03	0,858	0,11	0,478
FEV1/FVC	-0,04	0,833	-0,06	0,735	-0,08	0,623
PEF	0,26	0,140	0,09	0,574	0,01	0,977
CO difuzija	0,03	0,876	-0,03	0,842	-0,09	0,591
pO ₂	0,04	0,824	-0,01	0,937	-0,01	0,935
pCO ₂	-0,37	0,030	-0,20	0,211	-0,25	0,114
pH	0,24	0,165	0,05	0,769	0,20	0,217
Karakteristike bolesti						
Šestominutni test hoda	-0,05	0,802	-0,09	0,588	-0,11	0,491
Saturacija	0,10	0,573	0,09	0,581	0,07	0,664
BODE indeks	0,10	0,587	0,02	0,899	-0,05	0,782
CAT upitnik	0,19	0,292	0,24	0,136	0,09	0,599
Skala zaduhe (MMRC)	0,16	0,363	0,07	0,651	0,20	0,219
Endotelna funkcija						
Endotelin-1	0,11	0,552	0,00	>0,999	0,10	0,525
FMD indeks	-0,23	0,199	0,33	0,040	-0,05	0,774

KRATICE: r = Pearsonov koeficijent korelacije; P = razina statističke značajnosti

U skupini zdravih pušača više razine pCO₂ bile su statistički značajno povezane s nižim razinama vWF ($r=-0,37$; $p=0,030$), dok je u skupini sudionika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija viši FMD indeks bio statistički značajno povezan s višom razinom vWF ($r=0,33$; $p=0,040$). U skupini sudionika s KOPB-om s učestalim egzacerbacijama dulje trajanje liječenja bolesti ($r=0,34$; $p=0,029$) te viša razina fibrinogena ($r=0,49$; $p=0,001$) bili su statistički značajno povezano s višim razinama.

Tablica 39. Multivarijatno predviđanje razine von Willebrandovog faktora u pojedinoj skupini sudionika

	b	β	P
Zdravi pušači			
Spol	15,66	0,21	0,108
Dob	-0,69	-0,13	0,287
GGT	2,18	1,08	<0,001
Fibrinogen	19,13	0,53	<0,001
pC02	-2,65	-0,22	0,034
CAT upitnik	20,61	0,47	<0,001
FVC	1,59	0,72	<0,001
CO difuzija	-1,67	-0,65	<0,001
GUK	14,79	0,45	0,001
BODE indeks	47,03	0,41	0,003
CRP	-6,49	-0,48	0,001
Skala zaduhe (MMRC)	32,45	0,31	0,025
BMI	1,65	0,23	0,073
Efektivne godine pušenja (pack/years)	-0,39	-0,20	0,141
KOPB, bez učestalih egzacerbacija			
Spol	4,08	0,03	0,795
Dob	-0,31	-0,05	0,698
Efektivne godine pušenja (pack/years)	1,27	0,43	0,001
Sistolički tlak	2,59	0,55	<0,001
FMD	13,56	0,49	0,001
6 minutni test hoda (m)	-0,21	-0,28	0,045
KOPB, učestale egzacerbacije			
Spol	-42,53	-0,15	0,187
Dob	-0,83	-0,07	0,620
Fibrinogen	41,93	0,52	<0,001
Trajanje liječenja KOPB	13,10	0,42	0,002
Dijastolički tlak	4,62	0,25	0,031
Težina KOPB prema spirometriji	-156,97	-0,51	<0,001
PEF	-2,60	-0,37	0,007
Trombociti	0,33	0,20	0,096
Arterijska hipertenzija	41,71	0,18	0,130

KRATICE: b = nestandardizirani (sirovi) parcijalni regresijski koeficijent; β = standardizirani parcijalizirani regresijski koeficijent; P = razina statističke značajnosti

U skupini zdravih pušača ukupni prediktivni model objašnjavao je 85,6% varijance vWF ($R^2=0,856$; $p<0,001$), u skupini sudionika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija objašnjavao je 62,9% varijance ($R^2=0,629$; $p<0,001$), dok je u skupini bolesnika s učestalim egzacerbacijama objašnjavao 68,6% varijance vWF ($R^2=0,686$; $p<0,001$).

U skupini zdravih pušača multivarijatnim predviđanjem utvrđeno je da su, uz kontrolu drugih varijabli, više razine GGT ($b=2,18$; $p<0,001$), fibrinogena ($b=19,13$; $p<0,001$), FVC ($b=1,59$; $p<0,001$) te glukoze ($b=14,79$; $p=0,001$) bile statistički značajno povezane s višom razinom vWF. Statistički značajna pozitivna povezanost utvrđena je i kad je riječ o CAT upitniku ($b=20,61$; $p<0,001$), BODE indeksu ($b=47,03$; $p=0,003$) te MMRC ($b=32,45$; $p=0,025$) skali. S druge strane, više razine pCO₂ ($b=-2,65$; $p=0,034$), CO difuzije ($b=-1,67$; $p<0,001$) te CRP-a ($b=-6,49$; $p=0,001$) bile su statistički značajno povezane s nižom razinom vWF-a.

U skupini sudionika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija utvrđeno je da je, uz kontrolu drugih varijabli, veći broj efektivnih godina pušenja statistički značajno pozitivno povezan s višom razinom vWF ($b=1,27$; $p=0,001$). Viši sistolički krvni tlak ($b=2,59$; $p<0,001$) i višim FMD indeks ($b=13,56$; $p=0,001$) također su bili statistički značajno pozitivno povezani s vWF u ovoj skupini sudionika, dok su viši rezultati na šestominutnom testu hoda bili statistički značajno povezani s nižim razinama vWF ($b=-0,21$; $p=0,045$).

U skupini sudionika s KOPB-om s učestalim egzacerbacijama, uz kontrolu drugih varijabli, više razine fibrinogena ($b=41,93$; $p<0,001$), kao i dulje liječenje KOPB-a ($b=13,10$; $p=0,002$) te viši dijastolički krvni tlak ($b=4,62$; $p=0,031$) bili su statistički značajno povezani s višom razinom vWF, dok je viša razina PEF bila statistički značajno povezana s nižom razinom vWF ($b=-2,60$; $p=0,007$). Također, sudionici čije je težina

KOPB-a prema spirometriji bila III ili IV imali su, uz kontrolu drugih varijabli, statistički značajno nižu razinu vWF u odnosu na one kojima je težina bila I ili II ($b=-156,97$; $p<0,001$).

5.7.2 FMD indeks

Tablica 40. FMD indeks s obzirom na spol, pušenje i prateće bolesti u pojedinoj skupini sudionika

	Zdravi pušači		KOPB, bez učestalih egzacerbacija		KOPB, učestale egzacerbacije	
	M (SD)	P	M (SD)	P	M (SD)	P
Spol						
muški	11,7 (2,85)	0,391	6,4 (2,20)	0,064	4,7 (2,19)	0,753
ženski	12,6 (3,00)		7,8 (1,92)		4,3 (3,27)	
Pušenje						
bivši pušač	12,1 (2,91)	-	6,6 (2,18)	0,428	4,3 (2,40)	0,387
pušač	- -		7,2 (2,21)		5,0 (2,51)	
Arterijska hipertenzija						
ne	12,6 (2,81)	0,043	6,5 (2,04)	0,438	5,4 (2,83)	0,067
da	10,0 (2,52)		7,1 (2,28)		4,0 (1,98)	
Dijabetes						
ne	12,2 (2,79)	-	6,6 (2,18)	0,098	4,5 (2,58)	0,449
da	- -		8,4 (1,65)		5,0 (0,78)	
KV bolesti						
ne	12,2 (2,94)	-	6,8 (2,16)	0,833	4,9 (2,55)	0,264
da	- -		7,0 (2,47)		4,0 (2,14)	

KRATICE: M = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija

U skupini zdravih pušača su sudionici bez arterijske hipertenzije imali statistički značajno viši FMD indeks u odnosu na sudionike s hipertenzijom ($t=2,11$; $df=33$; $p=0,043$).

Tablica 41. FMD indeks s obzirom na težinu bolesti i terapiju

	KOPB, bez učestalih egzacerbacija		KOPB, učestale egzacerbacije	
	M (SD)	P	M (SD)	P; učinak
Težina KOPB prema spirometriji				
I ili II	7,5 (2,15)	0,064	4,3 (1,69)	0,743
III ili IV	6,2 (2,07)		4,6 (2,58)	
Težina KOPB prema GOLD				
A ili B	7,1 (2,22)	0,291	--	-
C ili D	6,2 (2,05)		--	
Težina KOPB prema GOLD				
C	--	-	6,0 (2,48)	0,178
D	--		4,4 (2,39)	
ICS + LABA				
ne	7,8 (2,24)	0,052	--	-
da	6,4 (2,02)		--	
Teofilin ili Daxas				
ne	6,8 (2,29)	0,814	4,4 (1,70)	0,713
da	7,0 (1,78)		4,7 (2,70)	
Oksigenoterapija				
ne	--	-	4,7 (2,48)	0,540
da	--		3,9 (2,20)	

KRATICE: M = aritmetička sredina; SD = standardna devijacija; P = razina statističke značajnosti; rezultat t-testa

Tablica 42. Povezanost FMD indeksa sa antropometrijskim i biokemijskim

parametrima u pojedinoj skupini

	Zdravi pušači		KOPB, bez učestalih egzacerbacija		KOPB, učestale egzacerbacije	
	r	P	r	P	r	P
Dob	-0,16	0,345	-0,17	0,302	-0,26	0,110
Efektivne godine pušenja	0,03	0,852	0,12	0,459	-0,01	0,972
Sistolički krvni tlak	-0,25	0,142	-0,37	0,020	-0,23	0,152
Dijastolički krvni tlak	-0,23	0,175	-0,17	0,316	0,01	0,975
BMI	-0,04	0,829	0,02	0,920	0,32	0,044
Eritrociti	-0,08	0,649	0,02	0,895	0,11	0,484
Hemoglobin	-0,15	0,395	0,13	0,443	0,12	0,476
Hematokrit	-0,10	0,553	0,09	0,599	0,11	0,518
Trombociti	0,27	0,118	-0,10	0,563	0,06	0,722
MPV	-0,01	0,974	-0,06	0,703	0,08	0,608
GUK	-0,04	0,819	0,13	0,439	0,12	0,444
GGT	-0,12	0,501	0,16	0,335	0,10	0,546
Urea	0,01	0,957	-0,13	0,447	-0,01	0,950
Kreatinin	-0,11	0,527	-0,21	0,198	-0,06	0,719

KRATICE: r = Pearsonov koeficijent korelacije; P = razina statističke značajnosti

U skupini sudionika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija utvrđena je statistički značajna negativna povezanost između sistoličkog krvnog tlaka i FMD indeksa ($r=-0,37$; $p=0,020$), dok je u skupini sudionika s KOPB-om s učestalim egzacerbacijama utvrđena statistički značajna pozitivna povezanost između indeksa tjelesne mase i FMD indeksa ($r=0,32$; $p=0,044$).

Tablica 43. Povezanost FMD indeksa s trajanjem liječenja, biljezima sistemske upale, plućnom funkcijom, karakteristikama bolesti te endotelnom funkcijom u pojedinoj skupini sudionika

	Zdravi pušači		KOPB, bez učestalih egzacerbacija		KOPB, učestale egzacerbacije	
	r	P	r	P	r	P
Trajanje liječenja KOPB	-	-	0,07	0,659	0,07	0,662
Biljezi sistemske upale						
CRP	0,06	0,735	-0,44	0,005	-0,01	0,966
fibrinogen	0,02	0,890	-0,26	0,105	0,00	0,998
leukociti	0,02	0,900	-0,12	0,453	0,03	0,843
Plućna funkcija						
FEV1	-0,05	0,765	0,30	0,066	-0,06	0,719
FVC	0,13	0,467	0,28	0,083	-0,13	0,418
FEV1/FVC	0,12	0,496	0,21	0,211	-0,11	0,515
PEF	-0,06	0,733	0,20	0,232	-0,08	0,615
CO difuzija	0,21	0,217	0,20	0,234	-0,05	0,767
pO ₂	-0,26	0,134	0,24	0,241	0,09	0,597
pCO ₂	0,19	0,265	-0,08	0,610	-0,11	0,505
pH	-0,15	0,385	0,04	0,831	0,05	0,760
Karakteristike bolesti						
Šestominutni test hoda	-0,05	0,763	0,12	0,474	0,04	0,819
Saturacija	-0,12	0,511	0,01	0,971	-0,04	0,786
BODE indeks	0,15	0,383	-0,22	0,186	-0,18	0,277
CAT upitnik	-0,11	0,548	0,20	0,223	-0,26	0,113
Skala zaduhe (MMRC)	-0,10	0,573	0,14	0,397	-0,30	0,061
Endotelna funkcija						
Endotelin-1	-0,23	0,191	0,10	0,545	0,09	0,600
von Willebrand faktor	-0,23	0,199	0,33	0,040	-0,05	0,774

KRATICE: r = Pearsonov koeficijent korelacije; P = razina statističke značajnosti

U skupini sudionika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija utvrđena je statistički značajna negativna povezanost između FMD indeksa i CRP-a ($r=-0,44$; $p=0,005$), te statistički značajna pozitivna povezanost između FMD indeksa i vWF ($r=0,33$; $p=0,040$).

Tablica 44. Multivarijatno predviđanje FMD indeksa u pojedinoj skupini sudionika

	b	β	P
Zdravi pušači			
Spol	-1,07	-0,18	0,328
Dob	-0,02	-0,04	0,779
Arterijska hipertenzija	-4,35	-0,53	0,006
Trombociti	0,04	0,61	0,001
FEV1	-0,22	-1,38	<0,001
CO difuzija	0,07	0,35	0,016
FVC	0,18	1,01	0,002
6 minutni test hoda (m)	-0,02	-0,47	0,008
FEV1/FVC	0,13	0,39	0,056
Urea	-0,54	-0,31	0,075
KOPB, bez učestalih egzacerbacija			
Spol	0,68	0,15	0,186
Dob	-0,05	-0,22	0,052
CRP	-0,24	-0,52	<0,001
FEV1	0,11	0,71	<0,001
Kreatinin	-0,04	-0,32	0,013
von Willebrand faktor	0,01	0,35	0,002
GGT	0,04	0,36	0,003
Trajanje liječenja KOPB	0,07	0,16	0,130
Trombociti	0,01	0,25	0,047
pO ₂	0,09	0,32	0,018
Saturacija	-0,09	-0,18	0,131
Težina KOPB prema spirometriji	1,07	0,24	0,135
KOPB, učestale egzacerbacije			
Spol	-0,84	-0,15	0,345
Dob	-0,08	-0,31	0,052
BMI	0,17	0,32	0,038
Sistolički tlak	-0,05	-0,28	0,068

KRATICE: b = nestandardizirani (sirovi) parcijalni regresijski koeficijent; β = standardizirani parcijalizirani regresijski koeficijent; P = razina statističke značajnosti

Ukupni prediktivni model objašnjavao je 66,2% varijance FMD indeksa u skupini zdravih pušača ($R^2=0,662$; $p=0,001$), 79,5% varijance u skupini sudionika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija ($R^2=0,795$; $p<0,001$), dok je u skupini bolesnika s učestalim egzacerbacijama objašnjavao 25,4% varijance ($R^2=0,254$; $p=0,032$).

U skupini zdravih pušača utvrđeno je da su, uz kontrolu drugih varijabli, sudionici s hipertenzijom imali statistički značajno niži FMD indeks u odnosu na one bez hipertenzije ($b=-4,35$; $p=0,006$). Također, više razine trombocita ($b=0,04$; $p=0,001$), CO difuzije ($b=0,07$; $p=0,016$) te FVC ($b=0,18$; $p=0,002$) bile su statistički značajno povezane s višim FMD indeksom, dok su više razine FEV1 ($b=-0,22$; $p<0,001$) te veći rezultata na šestominutnom testu hoda ($b=-0,02$; $p=0,008$) bile statistički značajno povezane s nižim FMD indeksom.

U skupini sudionika s KOPB-om bez učestalih egzacerbacija, uz kontrolu drugih varijabli, više razine FEV1 ($b=0,11$; $p<0,001$), vWF ($b=0,01$; $p=0,002$), GGT ($b=0,04$; $p=0,003$), trombocita ($b=0,01$; $p=0,047$) te pO2 ($b=0,09$; $p=0,018$) bile su statistički značajno povezane s višim FMD indeksom. S druge strane, više razine CRP-a ($b=-0,24$; $p<0,001$) te kreatinina ($b=-0,04$; $p=0,013$) bile su statistički značajno povezane s nižim FMD indeksom.

5.8 Neovisna povezanost biljega endotelne funkcije sa zdravstvenim statusom

Univarijatno su sva tri biljega endotelne disfunkcije bila statistički značajno povezana s fenotipom učestalih egzacerbatora (Tablica 45). U multivarijatnom modelu vonWillebrandov faktor to više nije bio.

Tablica 45. Povezanost tri biljega endotelne funkcije sa zdravstvenim statusom

	KOPB s učestalim egzacerbacijama	KOPB bez učestalih egzacerbacija	Univarijatno		Multivarijatno	
			OR _{unv} (95% CI)	P	OR _{mv} (95% CI)	P
Endotelin	2,8 (2,6-3,0)	2,4 (2,1-2,7)	22.60 (4,83 - 105,82)	<0,001	5.84 (1.93 -17.63)	0,002
Von Willebrand	181 (147-270)	158 (120-194)	1,01 (1,00 -1,02)	0,018	1.00 (1.00 -1.01)	0.751
FMD	4,7 (2,5-5,9)	7,0 (4,9-8,9)	0,66 (0,52 -0,82)	<0,001	0.83 (0.69 -0.98)	0.031

OR_{unv} = omjer izgleda, univarijatna binarna logistička regresija; 95% CI = 95-postotni interval

pouzdanosti omjera izgleda; P = statistička značajnost omjera izgleda; OR_{mv} = omjer izgleda

multivarijatna (prilagođena) binarna logistička regresija; CRP = C-reaktivni protein

Nakon što smo multivarijatnom, binarnom logističkom regresijom kontrolirali doprinose svih drugih praćenih varijabli, endotelin je bio visok povezan s fenotipom učestalih egzacerbatora. Svaka jedinična promjena endotelina povećavala je izgleda da će bolesnik biti u skupini KOPB s učestalim egzacerbatorima za 45 puta (95% CI 4,5-449,6) (Tablica 46).

Tablica 46. Povezanost endotelina s fenotipom učestalih egzacerbatora

	KOPB s učestalim egzacerbacijama	KOPB bez učestalih egzacerbacijama	Univarijatno		Multivarijatno	
			OR _{unv} (95% CI)	P	OR _{mv} (95% CI)	P
Endotelin	2,8 (2,6-3,0)	2,4 (2,1-2,7)	22,60 (4,83 - 105,82)	<0,001	45,19 (4,54 - 449,59)	0,001
Sistemska upala						
CRP	5,6 (2,5-14,8)	2,7 (1,6-4,1)	1,10 (1,02 - 1,18)	0,017	1,08 (0,93 - 1,25)	0,299
Fibrinogen	4,8 (3,8-6,1)	4,1 (3,7-3,9)	1,63 (1,10 - 2,415)	0,016	1,08 (0,58 - 1,99)	0,814
Leukociti	8,0 (6,9-9,6)	7,8 (6,6-8,8)	1,14 (0,92 - 1,42)	0,246	0,95 (0,65 - 1,39)	0,789
Plućna funkcija						
FEV1	38 (31-45)	51 (43-62)	0,93 (0,89 - 0,97)	<0,001	1,03 (0,89 - 1,20)	0,682
FVC	67 (56-76)	78 (68-90)	0,95 (0,92 - 0,98)	0,001	0,96 (0,89 - 1,03)	0,245
FEV1/FVC	47 (40-55)	62 (47-68)	0,93 (0,89 - 0,97)	<0,001	0,91 (0,80 - 1,02)	0,108
CO	47 (29-61)	61 (45-71)	0,97 (0,94 - 0,99)	0,009	1,01 (0,96 - 1,05)	0,767
pO2	61 (58-69)	71 (66-75)	0,89 (0,84 - 0,95)	<0,001	0,89 (0,79 - 1,00)	0,041
pCO2	42 (38-45)	39 (38-42)	1,13 (1,02 - 1,25)	0,016	0,99 (0,82 - 1,20)	0,892
Dob	67 (59-76)	66 (61-76)	1,00 (0,96 - 1,04)	0,937	1,05 (0,97 - 1,15)	0,228
Spol, n (%)					0,65 (0,11 - 3,91)	0,64
ženski	13 (31,7)	10 (24,4)	1		1	
muški	28 (68,3)	31 (75,6)	1,44 (0,55 - 3,80)	0,462	1,53 (0,26 - 9,19)	0,640

Podaci su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon)

OR_{unv} = omjer izgleda, univarijatna binarna logistička regresija; 95% CI = 95-postotni interval

pouzdanosti omjera izgleda; P = statistička značajnost omjera izgleda; OR_{mv} = omjer izgleda

multivarijatna (prilagođena) binarna logistička regresija; CRP = C-reaktivni protein

6 RASPRAVA

Kronična opstruktivska bolest pluća multikomponentna je bolest koju karakterizira upalni odgovor pluća na različite iritanse iz okoline, karakteriziran infiltracijom neutrofila, makrofaga i limfocita, uz ekstrapulmonalne efekte koji pridonose težini bolesti (5). Sistemska upala smatra se da ima ključnu ulogu u patogenezi KOPB-a i njegovih komorbiditeta (37), osobito kardiovaskularnih bolesti koje predstavljaju vodeći uzrok mortaliteta i morbiditeta u bolesnika sa KOPB-om (45). Klinički gledano, bolesnike s KOPB-om karakterizira značajna heterogenost u kliničkoj prezentaciji, terapijskom odgovoru, padu plućne funkcije, učestalosti egzacerbacija, kao i u preživljenju (7,9). Stoga danas govorimo o različitim kliničkim fenotipovima KOPB-a, od kojih se kao jedan od najznačajnijih izdvaja fenotip bolesnika sa KOPB-om sklonih čestim egzacerbacijama, tzv. „učestali egzacerbatori“ (7). Naime, egzacerbacije su, uz kardiovaskularne bolesti, glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta u KOPB-u, a radi se o posebnoj fenotipskoj skupini KOPB bolesnika koje karakterizira brži pad plućnih funkcija, lošija kvaliteta života, te povećani ukupni i kardiovaskularni mortalitet (14,15,30). Neke od recentnih studija sugeriraju da je moguća veza između povećanog kardiovaskularnog mortaliteta i sistemske upale kod bolesnika sa KOPB-om upravo endotelna disfunkcija (86,87) i izravno upućuju na potrebu daljnjeg istraživanja ove pretpostavljene povezanosti (45).

Dosadašnja istraživanja upućuju na potencijalnu povezanost akutnih egzacerbacija KOPB-a i pogoršanja endotelne funkcije (30,97), međutim za sada nema sustavnog istraživanja endotelne disfunkcije u dvije fenotipski različite skupine bolesnika sa KOPB-om, podijeljene prema kriteriju učestalosti egzacerbacija. Analize endotelne funkcije

unutar pojedinih fenotipskih podskupina KOPB bolesnika nisu do sada rađene, iako nedavno objavljene relevantne studije jasno ističu potrebu za njihovim istraživanjem (98).

U ovom istraživanju po prvi put je provedeno sustavno istraživanje endotelne funkcije u dvije fenotipski različite skupine bolesnika sa KOPB-om, istovremenom procjenom endotelne funkcije neinvazivnom metodom procjene visokorezolucijskim ultrazvukom – FMD i plazmatskim biljezima (ET-1, vWF), te uz korelaciju dobivenih rezultata sa biljezima sistemske upale (L, CRP i fibrinogen), plućnim funkcijama i procjenom tjelesne sposobnosti mjerene 6-MTH.

U istraživanje je uključeno ukupno 117 ispitanika, u dobi od 45 do 88 godina. Bolesnici sa KOPB-om, prema kriteriju učestalosti egzacerbacija podijeljeni su u dvije skupine; u skupinu „učestalih egzacerbatora“ (FE engl. frequent exacerbator) 41 bolesnik i u skupinu bolesnika sa KOPB-om bez učestalih egzacerbacija (IFE engl. infrequent exacerbator) uključen je također 41 bolesnik sa KOPB-om. U kontrolnu skupinu uključeno je 35 zdravih ispitanika (ispitanici bez KOPB-a).

Srednja dob u kontrolnoj skupini iznosila je 57.8 godina, a u skupini FE 67.9 godina i IFE 68.0 godina. U kontrolnoj skupini ispitanika bilo je 19 muškaraca i 16 žena, dočim je u skupini FE bilo 28 muškaraca i 13 žena a u IFE 31 muškarac i 10 žena. Razlika među skupinama bolesnika sa KOPB-u prema dobi i spolu i BMI-u nije bila statistički značajna (Tablica 3). Svi ispitanici su pušači ili bivši pušači, s time da su kontrolnu skupinu činili isključivo pušači (velik broj publiciranih radova utvrdio je povezanost pušenja sa endotelnom disfunkcijom i sistemskom upalom, te smo na taj način željeli umanjiti značenje pušenja kao faktora rizika u procjeni ED i sistemske upale u bolesnika sa KOPB-om) dok je u obje skupine ispitanika sa KOPB-om bilo zastupljeno više bivših pušača.

Razlika među skupinama FE i IFE prema pack-years nije bila statistički značajna ($p=0,216$).

S obzirom na velik značaj komorbiditeta na samu težinu i tijek KOPB-a, u našem smo istraživanju sve tri skupine usporedili s obzirom na zastupljenost komorbiditeta. Odabrali smo tri najčešća komorbiditeta u bolesnika sa KOPB-om, u čijoj patogenezi endotelna disfunkcija i sistemska upala imaju presudnu ulogu a to su KVB, arterijska hipertenzija i šećerna bolest. FE imali su značajno više ispitanika sa KVB u odnosu na IFE ($p<0,001$) dočim razlike u broju ispitanika sa šećernom bolesti i arterijskom hipertenzijom između ove dvije skupine ispitanika nije nađeno (Tablica 3). Dobiveni rezultati sukladni su rezultatima dosadašnjih istraživanja koja upućuju na povezanost KVB i egzacerbacija KOPB-a. Velika UPLIFT studija utvrdila je porast KVB rizika u periodu nakon akutnih egzacerbacija KOPB-a, slični rezultati dobiveni su i u studiji Donaldson i suradnika (127,128). Međutim razlika u komorbiditetima između pojedinih KOPB fenotipova dosada nije utvrđena.

Bolesnici sa čestim egzacerbacijama (FE) imali su statistički značajno niže vrijednosti svih pokazatelja plućne funkcije mjerenih spirometrijom - FEV1, FVC, Tiffeneau-ov indeks u odnosu na bolesnika sa KOPB-om koji nemaju česte egzacerbacije (IFE) i kontrolnu skupinu, s nađena je i statistički značajna razlika u spirometrijskim nalazima između IFE i kontrolne skupine (Tablica 8,9,10). Naši rezultati su u skladu sa prijašnjim istraživanjima plućne funkcije u FE gdje su također nađene niže vrijednosti FEV1 i FVC u ovoj skupini ispitanika (30,129). Vrijednosti pokazatelja plinske analize arterijske krvi – pO_2 i saturacije O_2 su također bile statistički značajno niže u FE nego u IFE i kontrolnoj skupini (Tablica 13).

CO difuzija kao još jedan od pokazatelja plućne funkcije također je učinjena, te je uočeno da FE imaju statistički značajno nižu razinu CO difuzije (47%) u odnosu na IFE (61%) te skupinu zdravih pušača (80%) (Tablica 12). U novim revidiranim španjolskim smjernicama Miravittles razlikuje dva različita fenotipa „učestalih egzacerbatora“, FE sa dominantno kronični bronhitisom i FE sa emfizemom (13), međutim relativno je malo studija novijeg datuma u kojima je analizirana CO difuzija kao parametar plućnih funkcija, osobito u ovoj posebnoj fenotipskoj skupini bolesnika sa KOPB-om. Nedavno objavljeno istraživanje Oh i suradnika sugerira da bi težina emfizema u budućnosti mogla biti jedan od predskazivača učestalih egzacerbacija u KOPB-u (130), a u prilog tome govore i naši rezultati. Da bismo mogli sa sigurnošću utvrditi ulogu emfizema u FE potrebno bi učiniti dodatnu subanalizu što u našem istraživanju zbog broja „učestalih egzacerbatora“ nije učinjeno.

Težina KOPB-a prema GOLD-u, procijenjena prema nalazima spirometrije, pokazala je da u skupini IFE prevladavaju bolesnici u stadiju GOLD 2 (46,3%) i GOLD 3 (41,5%) a u FE GOLD III (56,1%) i IV (24,4%) što je u skladu sa rezultatima prijašnjih studija (11,17,24,27,129). Ukoliko se primjeni kombinirana procjena KOPB-a te se uzmu u obzir simptomi (CAT, mMRC) i broj egzacerbacija, dolazimo do slijedećih podataka: u IFE prevladavaju GOLD B (43,9%), zatim GOLD A (26,8%) i GOLD C (22,0%), dakle bolesnici sa manje simptoma, manje egzacerbacija i boljim spirometrijskim nalazima a u FE čak 87,8% čine GOLD D, a 12,2% GOLD C , dakle dominiraju bolesnici sa većim brojem egzacerbacija, sa više simptoma i lošijim spirometrijskim nalazima. Skupine su se značajno razlikovale prema broju egzacerbacija, bez značajne razlike u godinama liječenja. Dobiveni rezultati su u skladu sa samom definicijom FE (7) (Tablica 7).

FE liječeni su uglavnom kombinacijom ICS+LABA (100%) i LAMA (97%) uz relativno visok udio bolesnika liječenih teofilinom (63,4%). Vrlo mali postotak bolesnika (7,3% FE) liječen je roflumilastom, inhibitorom fosfodiesteraze 4 koji je lijek izbora upravo za bolesnike sa teškim KOPB-om i čestim egzacerbacijama (Tablica 7). Dobivene rezultate treba sagledati u vremenskom periodu kada je istraživanje rađeno (2013.godina), dakle relativno brzo nakon pojave lijeka na hrvatskom tržištu (2/2013). Isto tako, 100% zastupljenost ICS+LABA u skupini FE također je odraz tadašnje situacije u Hrvatskoj i pojave prve kombinacije LABA/LAMA u Hrvatskoj početkom 2015.godine. IFE liječeni su prvenstveno sa LAMA (90%) ali i u relativno velikom postotku sa ICS+LABA(65.9%), što je također rezultat tadašnjeg nedostatka kombinacije LABA+LAMA. Od nefarmakoloških mjera liječenja KOPB-a, oksigenoterapija je bila značajnije zastupljena u skupini FE. Ovaj podatak uz statistički niže vrijednosti pO_2 u skupini FE upućuje na izraženiju hipoksiju u ovoj fenotipskoj skupini bolesnika sa KOPB-om.

Tjelesna sposobnost mjerena je 6-MTH. Statistički značajna razlika u 6-MTH između FE i IFE nije pronađena ($p=0,842$) (Tablica 16) što je ujedno i u skladu sa dosadašnjim rezultatima Donaldsona i Wedziche (131), Cote i suradnika (132) te Lee i suradnika (30) koji također nisu našli razliku u 6-MTH između ove dvije skupine bolesnika sa KOPB-om.

Radi procjene simptoma bolesti kod ispitanika je rađen CAT upitnik i mMRC test zaduhe. Razlika u vrijednosti CAT upitnika bila je statistički značajna između sve tri skupine ispitanika, a FE imaju statistički značajno viši rezultat CAT upitnika u odnosu na IFE ($U=218,5$; $p<0,002$; $r=-0,64$) (Tablica 19). Dobiveni rezultat u skladu je sa nedavno publiciranim radom Lee i suradnika sa rezultatima iz PACE studije u kojem se pratila

povezanost učestalosti egzacerbacija i rezultata CAT upitnika, a koji upućuje upravo na moguću ulogu CAT upitnika u ranoj identifikaciji bolesnika sklonih čestim egzacerbacijama (133). Što se tiče mMRC skale zaduhe, FE su imali statistički značajno viši rezultat mMRC skale u odnosu na IFE i u odnosu na kontrolnu skupinu što je u skladu i sa dosadašnjim objavljenim studijama (30,132) (Tablica 20).

BODE indeks ima važnu ulogu u evaluaciji težine bolesti i ima veliko prognostičko značenje kao indikator mortaliteta kod KOPB bolesnika. Pronašli smo statistički značajno niži BODE indeks kod FE u komparaciji sa IFE i kontrolnom skupinom ispitanika (Tablica 18), a slični rezultati su dobiveni u pojedinim studijama bolesnika sa akutnim egzacerbacijama KOPB-a (30,132).

Sistemska upala ima važnu ulogu u patogenezi ne samo kronične opstruktivske bolesti pluća već i kardiovaskularnih bolesti koje su ujedno jedan od vodećih uzorka mortaliteta, uz akutne egzacerbacije, u bolesnika sa KOPB-om. Za procjenu sistemske upale u našem istraživanju koristili smo markere sistemske upale i to leukocite, CRP i fibrinogen. Pretraživanjem literature nailazimo na velik broj radova o sistemskoj upali u KOPB-u, sa određivanjem različitih plazmatskih markera, međutim broj studija o ulozi sistemske upale u posebnoj fenotipskoj skupini „učestalih egzacerbatora“ je daleko manji.

CRP ponajviše je proučavan marker sistemske upale u bolesnika sa KOPB-om. Dosadašnja istraživanja utvrdila su povezanost CRP-a i egzacerbacija KOPB-a (21,59,60,70,87), a postoji i nekoliko studija sa FE, gdje je nađen porast CRP-a tijekom akutnih egzacerbacija kao i u fazi oporavaka (72), što sugerira postojanje perzistentnog, višeg stupnja sistemske upale u ovoj fenotipskoj skupini. Naše istraživanje je ustvrdilo postojanje statistički značajne razlike CRP-a između skupina bolesnika sa KOPB-om, pri čemu nije nađena statistički značajna razlika između kontrolne skupine i IFE, što možemo

objasniti manjim stupnjem upale u odnosu na FE. FE imaju statistički značajno više vrijednosti CRP-a u odnosu na IFE i kontrolnu skupinu što bi moglo sugerirati moguću primjenu CRP-a za rano otkrivanje ove fenotipske skupine bolesnika sa KOPB-om (tablica 21).

Fibrinogen kao marker sistemske upale proučavan je kod niza sistemskih upalnih bolesti, pa tako i kod bolesnika sa KOPB-om (60,65). Rezultati pojedinih studija sugeriraju da je fibrinogen obećavajući biomarker u KOPB-u (63), osobito za probir bolesnika sa povećanim rizikom od egzacerbacija i mortaliteta (18,103), te kao marker za praćenje uspjeha liječenja. U skupini FE pronašli smo više vrijednosti fibrinogena u odnosu na IFE, međutim razlika nije bila statistički značajna (Mann-Whitney $U=576,0$; Bonferroni korigirani $p=0,084$). FE imali su statistički značajno više vrijednosti fibrinogena u odnosu na skupinu zdravih pušača, što upućuje na zaključak da bi fibrinogen mogao imati određenu ulogu kao marker FE, međutim za točniju procjenu i zaključak potrebna su dodatne veće, prospektivne studije na većem broju ispitanika (Tablica 22).

Što se tiče leukocita, među skupinama ispitanika nije nađena statistički značajna razlika u vrijednosti leukocita koji se nije pokazao u ovom slučaju kao osjetljiv marker sistemske upale (Tablica 23).

Neke od skorašnjih studija sugeriraju da je moguća veza između povećanog kardiovaskularnog mortaliteta i sistemske upale kod bolesnika sa KOPB-om upravo endotelna disfunkcija (38,101). Za procjenu endotelne funkcije u ovom istraživanju koristili smo se neinvazivnom metodom procjene endotelne funkcije visokorezolucijskim ultrazvukom – FMD i plazmatskim biljezima - ET-1 i vWF.

ET-1 potentni je marker endotelne funkcije. Do sada je objavljen relativno mali broj studija sa ET-1 u bolesnika sa KOPB-om, i to uglavnom u stabilnoj fazi bolesti (99) (100). Studija Roland i suradnika jedna je od rijetkih u kojoj je ET-1 određivan u sputumu i plazmi bolesnika sa KOPB-om tijekom akutne egzacerbacije KOPB-a, a dobiveni rezultati sugeriraju ulogu ET-1 kao mogućeg markera egzacerbacija (23). Do sada međutim nije rađeno nijedno sustavno istraživanje endotelne funkcije u skupini FE a u kojoj je korišten ET-a kao marker ED. U našem istraživanju pronašli smo statistički značajno više vrijednosti ET-1 u plazmi u FE u odnosu na IFE i kontrolnu skupinu, a također je nađena i statistički značajna razlika u vrijednosti ET-1 između IFE i kontrolne skupine ($p < 0,001$) (Tablica 24, Slika 1). Dobiveni rezultati sugeriraju postojanje razlike u stupnju ED između ove dvije fenotipski različite skupine bolesnika. Multivarijantnim predviđanjem u skupini ispitanika sa čestim egzacerbacijama pronađena je povezanost ET-1 sa stupnjem težine KOPB-a prema spirometriji pa su sudionici sa GOLD stupnjem III i IV imali statistički značajno višu razinu ET-1 u odnosu na sudionike sa stupnjem I ili II ($b = 0,39$; $p = 0,04$). Statistički značajna negativna povezanost s razinom ET-1 u ovoj skupini je utvrđena i kad je riječ o DLCO ($b = -0,01$; $p = 0,004$), BODE indeksu ($b = -0,19$; $p < 0,001$) te rezultatu na 6-MTH ($b = -0,002$; $p = 0,002$) (Tablica 34). Dobiveni rezultati upućuju da u skupini FE, bolesnici sa težim stadijem KOPB-a i izraženijim emfizemom imaju jače narušenu ED.

U našem istraživanju također smo mjerili razinu vWF faktora u plazmi, koja se danas smatra najznačajnijim markerom ED (105). Postoji velik broj studija sa vWF kod bolesnika sa KVB (102), a u posljednjih nekoliko godina i određen broj studija sa određivanjem vWF u bolesnika sa KOPB-om (110). Većina studija rađena je u stabilnoj fazi bolesti, a Polosa i suradnici pokazali su porast vWF tijekom akutne egzacerbacije

KOPB-a (103,109). Određivanje vWF u FE, te komparacija sa IFE, do sada nije rađena. vWF statistički značajno je viši u skupini FE u odnosu na IFE kao i na kontrolnu skupinu ($p<0,001$), a između IFE i kontrolne skupine nađena je razlika u vrijednosti vWF koja međutim nije statistički značajna ($p=0,294$) (Tablica 25). U skupini zdravih pušača multivarijantnim predviđanjem pronađena je povezanost vWF sa višim vrijednostima fibrinogena ($b=19,13$; $p<0,001$), što upućuje na utjecaj pušenja na stupanj sistemske upale. U skupini sudionika s KOPB-om s učestalim egzacerbacijama, uz kontrolu drugih varijabli, više razine fibrinogena ($b=41,93$; $p<0,001$), bile su statistički značajno povezane s višom razinom vWF što bi moglo upućivati na povezanost ED i sistemske upale u ovoj skupini ispitanika (Tablica 38).

Da bismo upotpunili istraživanje endotelne funkcije odlučili smo se i za određivanje FMD/NMD indeksa. Među ispitanicima nije nađena statistički značajna razlika u vrijednosti NMD indeksa (Tablica 26); naime NMD-dilatacija na nitroglicerina neovisna je o protoku i funkciji endotela, već služi za određivanje maksimalnog vazodilatacijskog kapaciteta ispitivane arterije. FMD danas je najrašireniji test za procjenu ED koji je korišten i u brojnim studijama ED u bolesnika sa KOPB-om (38,93). Većina dosadašnjih istraživanja utvrdila je FMD testom postojanje ED u stabilnom KOPB-u (84,86,96), kao i o pogoršanje ED tijekom akutnih egzacerbacija KOPB-a (97). U „učestalih egzacerbatora“, endotelna disfunkcija putem FMD testa do sada nije bila determinirana. Naši rezultati upućuju da FE imaju značajno niže vrijednosti FMD indeksa u odnosu na IFE i kontrolnu skupinu ($p<0,001$), a ustanovili smo i značajnu razliku u vrijednosti FMD-a između IFE i kontrolne skupine ($p<0,001$) (Tablica 39).

Multivarijantnim predviđanjem niti u jednoj skupini ispitanika nismo pronašli statistički značajnu povezanost između FMD i markera endotelne disfunkcije kao niti povezanost sa markerima sistemske upale.

U cijelom uzorku, neovisno od zdravstvenog statusa sva tri markera ED bili su međusobno statistički značajno povezani (Tablica 28). Univarijatno su sva tri markera ED statistički značajno bila povezana sa fenotipom FE (Tablica 45). Nakon što smo multivarijantnom, binarnom logističkom regresijom kontrolirali doprinose svih drugih praćenih varijabli, ET-1 je bio visok povezan s fenotipom „učestalih egzacerbatora“. Svaka jedinična promjena endotelina povećavala je izgleda da će bolesnik biti u skupini KOPB s učestalim egzacerbatorima za 45 puta (95% CI 4,5-449,6) (Tablica 46). Dobiveni rezultati sugeriraju povezanost sva tri markera ED sa fenotipom FE, a osobito ET-1, kao i moguću primjenu upravo ET-1 kao markera ovog specifičnog fenotipa bolesnika sa KOPB-om. Svakako su potrebna daljnja prospektivna istraživanja na velikom broju ispitanika.

Ovim istraživanjem potvrdili smo postavljenu hipotezu i odgovorili na sve postavljene ciljeve istraživanja. Dokazali smo da je endotelna disfunkcija izraženija u bolesnika sa KOPB-om u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanika, kao i da postoji razlika u endotelnoj disfunkciji između dvije fenotipski različite skupine bolesnika sa KOPB-om.

Osim u endotelnoj disfunkciji, uspjeli smo dokazati da između bolesnika sa KOPB-om sklonih čestim egzacerbacijama i bolesnika bez čestih egzacerbacija, postoji i značajna razlika u stupnju sistemske upale, prisutnosti simptoma bolesti kao i u plućnim funkcijama, a bez razlike u funkcionalnom statusu bolesnika. Povezanost između FMD, markera endotelne disfunkcije, sistemske upale i plućne funkcije unutar pojedinih skupina ispitanika nismo dokazali.

Ovim istraživanjem željeli smo pridonijeti definiranju uloge endotelne disfunkcije kao važnog čimbenika u patogenezi KOPB, osobito u skupini „učestalih egzacerbatora“, kao i mogućoj ulozi plazmatskih markera ED kao i markera sistemske upale u praćenju i ranom otkrivanju posebnog fenotipa bolesnika sa KOPB-om koji su skloni čestim egzacerbacijama, FE. Dobiveni rezultati, osobito nalaz statistički značajne povezanosti ET-1 sa fenotipom „učestalih egzacerbatora“ upućuje na moguću ulogu upravo ET-1 kao obećavajućeg markera u KOPB-u, osobito u ovoj specifičnoj fenotipskoj skupini bolesnika.

Provedeno bi istraživanje ujedno trebalo pridonijeti razvoju personaliziranog pristupa u liječenju ove fenotipske skupine bolesnika sa KOPB-om, te dati smjernice za nove terapijske mogućnosti, bez obzira što je obuhvatilo relativno mali broj ispitanika. Na budućim je prospektivnim studijama da obuhvate velik broj bolesnika sa KOPB-om, a posebice onih sa učestalim egzacerbacijama, te da ih prate kroz dulji vremenski period.

7 ZAKLJUČAK

1. Između dvije fenotipske skupine bolesnika sa KOPB-om – bolesnika sa učestalim egzacerbacijama i bolesnika bez učestalih egzacerbacija postoji statistički značajna razlika u endotelnoj funkciji procijenjena mjerenjem markera endotelne disfunkcije endotelina-1
2. Između dvije fenotipske skupine bolesnika sa KOPB-om – bolesnika sa učestalim egzacerbacijama i bolesnika bez učestalih egzacerbacija postoji značajna razlika u endotelnoj funkciji procijenjena mjerenjem markera endotelne disfunkcije von Willebrandovog faktora (vWF)
3. Između dvije fenotipske skupine bolesnika sa KOPB-om – bolesnika sa učestalim egzacerbacijama i bolesnika bez učestalih egzacerbacija postoji značajna razlika u endotelnoj funkciji procijenjena određivanjem FMD/NMD
4. Između dvije fenotipske skupine bolesnika sa KOPB-om – bolesnika sa učestalim egzacerbacijama i bolesnika bez učestalih egzacerbacija postoji razlika u stupnje sistemske upale procijenjena mjerenjem markera sistemske upale CRP-a i fibrinogena, a putem leukocita nema razlike.
5. Između dvije fenotipske skupine bolesnika sa KOPB-om – bolesnika sa učestalim egzacerbacijama i bolesnika bez učestalih egzacerbacija postoji razlika u nalazima plućnih funkcija koja je ozbiljnije narušena u skupini učestalih egzacerbatora
6. Između dvije fenotipske skupine bolesnika sa KOPB-om – bolesnika sa učestalim egzacerbacijama i bolesnika bez učestalih egzacerbacija ne postoji razlika u funkcionalnom statusu procijenjenom šest-minutnim testom hoda

7. Između dvije fenotipske skupine bolesnika sa KOPB-om – bolesnika sa učestalim egzacerbacijama i bolesnika bez učestalih egzacerbacija postoji razlika u prisutnosti simptoma bolesti procjenjivanoj putem mMRC skale zaduhe i CAT upitnika
8. Između dvije fenotipske skupine bolesnika sa KOPB-om – bolesnika sa učestalim egzacerbacijama i bolesnika bez učestalih egzacerbacija postoji razlika u BODE indeksu
9. Učestali egzacerbatori predstavljaju skupinu bolesnika sa KOPB-om koji imaju jače izraženu sistemska upalu, endotelnu disfunkciju, te lošije nalaze plućnih funkcija
10. Između FMD-a, markera endotelne disfunkcije i markera sistemske upale nije nađena povezanost unutar pojedinih skupina ispitanika.
11. Sva tri biljega ED statistički značajno su povezana sa fenotipom „učestalih egzacerbatora“, a osobito je jaka povezanost ET-1

8 SAŽETAK

KOPB jedan je od vodećih uzroka smrti u razvijenim zemljama svijeta, a glavni uzroci mortaliteta i morbiditeta u KOPB bolesnika su akutne egzacerbacije i kardiovaskularne bolesti. S obzirom na učestalost egzacerbacija definiran je fenotip „učestalih egzacerbatora“, kojeg uz teži klinički tijek, prema nekim pokazateljima karakterizira i povećan rizik za kardiovaskularni mortalitet. Mišljenja smo da sistemska upala ima ključnu ulogu u patogenezi KOPB-a, a moguća veza između povećanog kardiovaskularnog mortaliteta i sistemske upale kod KOPB bolesnika je endotelna disfunkcija.

U ovom istraživanju po prvi puta provedeno je sustavno istraživanje endotelne funkcije u dvije fenotipski različite skupine KOPB bolesnika uz istovremenu procjenu endotelne funkcije FMD indeksom i plazmatskim biljezima, procjenu sistemske upale, plućne funkcije i funkcionalnog statusa bolesnika.

U istraživanje smo uključili 117 sudionika; 82 bolesnika sa dijagnozom KOPB-a koje smo prema kriteriju učestalosti egzacerbacija podijelili u dvije skupine; u skupinu „učestalih egzacerbatora“ i skupinu bolesnika sa KOPB-om koji nemaju česte egzacerbacije. Kontrolnu skupinu činilo je 35 zdravih sudionika, aktivnih pušača. U svih ispitanika provedeno je mjerenje tjelesne sposobnosti 6-MTH, ispitivanje plućne funkcije, procjena simptoma putem CAT upitnika, mMRC skale zaduhe i određen je BODE indeks. U uzorcima krvi određeni su markeri sistemske upale (L, CRP i fibrinogen), markeri endotelne funkcije (vWF i ET-1), te je kod svih bolesnika učinjen FMD test. Dobiveni rezultati su statistički obrađeni.

Utvrđeno je da između dvije fenotipski različite skupine bolesnika sa KOPB-om postoji statistički značajna razlika u stupnju endotelne disfunkcije i sistemske upale,

prisutnosti simptoma bolesti kao i u plućnim funkcijama, a nije nađena statistički značajna razlika u tjelesnoj sposobnosti. Fenotip „učestalih egzacerbatora“ karakterizira značajno narušena plućna funkcija, uz viši stupanj sistemske upale i endotelne disfunkcije. Vjerujemo da će naše istraživanje predstavljati značajan doprinos u boljem razumijevanju, ranom otkrivanju i adekvatnijem liječenju ove fenotipske skupine bolesnika sa KOPB-om.

9 SUMMARY

Endothelial function and phenotypic characteristics of patients with chronic obstructive pulmonary disease and frequent exacerbations

The „frequent egzacerbator“ is a COPD phenotype characterised with severe clinical course and with increased risk for cardiovascular mortality. The systemic inflammation play a key role in the pathogenesis of COPD and endothelial dysfunction is a suspected link between increased cardiovascular mortality and systemic inflammation in COPD patients. So far, systematic studies of endothelial dysfunction in two phenotypically distinct groups of COPD patients has not been done.

The study recruited 117 participants. COPD patients were divided into two groups according to the criteria of frequency of acute egzacerbation: 41 frequent egzacerbator and 41 infrequent egzacerbator. The control group consists of 35 healthy smokers. In all three groups were determined markers of endothelial dysfunction (ET-1,vWF) and of systemic inflammation (WBC, fibrinogen, CRP). We conducted pulmonary function test and 6-MWT-minute walking test, and calculated BODE indeks. Endothelial function was assessed by FMD. The results were statistically analyzed.

Frequent exacerbator had more severe airway obstruction and higher degree of sistemic inflammation and endothelial dysfunction, with higher symptom score and BODE index. We believe that our research will represent a significant contribution to better understanding, early detection and adequate treatment of these groups of COPD patients.

10 LITERATURA

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. National Heart, Lung and Blood Institute/World Health Organization. www.goldcopd.com Date last updated:2015.
2. World Health Organisation. Global initiative for chronic obstructive lung disease. Geneva:World Health Organisation, 2008.
3. European Respiratory Society. European Lung White Book: Huddersfield, European Respiratory Society Journals, Ltd; 2003.
4. Wouters EFM. Chronic obstructive pulmonary disease 5: Systemic effects of COPD. *Thorax* 2002;57:1067-1070.
5. Agusti A. COPD, a multicomponent disease: implications for management. *Respir Med* 2005;99(6):670–682.
6. Burgel PR, Paillasseur JL, Caillaud D, et al. Clinical COPD phenotypes: a novel approach using principal component and cluster analyses. *Eur Respir J* 2010; 36(3):531-539.
7. Miravittles M, Calle M, Soler-Cataluña JJ. Clinical Phenotypes of COPD: Identification, Definition and Implications for Guidelines. *Arch Bronconeumol* 2012;48(3):86-98.
8. Dornhorst A. Respiratory insufficiency. *Lancet* 1955;268:1185–1187.
9. Han MK, Agusti A, Calverley PM, et al. Chronic Obstructive Pulmonary Disease Phenotypes: the Future of COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182:598-604.
10. Izquierdo-Alonso JL, Rodríguez-González-moro JM, de Lucas-Ramos P, et al. Prevalence and characteristics of three clinical phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Respir Med* 2013;107(5):724-731.
11. Hurst JR, Vestbo J, Anzueto A, et al. Susceptibility to exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2010;363(12):1128-1138.
12. Vestbo J, Edwards LD, Scanlon PD, et al. Changes in forced expiratory volume in 1 second over time in COPD. *N Engl J Med* 2011;365(13):1184-1192.
13. Miravittles M, Soler-Cataluña JJ, Calle M, et al. A new approach to grading and treating COPD based on clinical phenotypes: summary of the Spanish COPD guidelines (GesEPOC). *Prim Care Respir J* 2013;22(1):117-121.
14. Soler-Cataluña JJ, Rodríguez-Roisin R. Frequent Chronic Obstructive Pulmonary Disease Exacerbators: How Much Real, How Much Fictitious? *COPD* 2010; 7:276-284.

15. Miravitlles M, Ferrer M, Pont A, et al. Effect of exacerbations on quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a 2 year follow up study. *Thorax* 2004;59:387-395.
16. Tashkin DP. Frequent Exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease - A Distinct Phenotype? *N Engl J Med* 2010; 363(12):1183-1184.
17. Bhowmik A, Seemungal TA, Sapsford RJ, Wedzicha JA. Relation of sputum inflammatory markers to symptoms and lung function changes in COPD exacerbations. *Thorax* 2000; 55:114-120.
18. Wedzicha JA, Seemungal TA, MacCallum PK, et al. Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease are accompanied by elevations of plasma fibrinogen and serum IL-6 levels. *Thromb Haemost* 2000; 84:210-215.
19. Gompertz S, O'Brien C, Bayley DL, Hill SL, Stockley RA. Changes in bronchial inflammation during acute exacerbations of chronic bronchitis. *Eur Respir J* 2001; 17(6):1112-1119.
20. Perera WR, Hurst JR, Wilkinson TM, et al. Inflammatory changes, recovery and recurrence at COPD exacerbation. *Eur Respir J* 2007; 29:527-534.
21. Donaldson GC, Seemungal TA, Patel IS, et al. Airway and Systemic Inflammation and Decline in Lung Function in Patients With COPD. *Chest* 2005;128(4):1995-2004.
22. Wedzicha JA, Brill SE, Allinson JP, Donaldson GC. Mechanisms and impact of the frequent exacerbator phenotype in chronic obstructive pulmonary disease. *BMC Med* 2013;11:181.
23. Roland M, Bhowmik A, Sapsford RJ, et al. Sputum and plasma endothelin-1 levels in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2001; 56(1):30-35.
24. Halpin DM, Decramer M, Celli B, Kesten S, Liu D, Tashkin DP. Exacerbation frequency and course of COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2012;7:653-661.
25. Kanner RE, Anthonisen NR, Connett JE; Lung Health Study Research Group. Lower respiratory illnesses promote FEV(1) decline in current smokers but not ex-smokers with mild chronic obstructive pulmonary disease: results from the lung health study. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:358-364.
26. Seemungal TA, Donaldson GC, Paul EA, Bestall JC, Jeffries DJ, Wedzicha JA. Effect of exacerbation on quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157(5 Pt 1):1418-1422.
27. Dewan NA, Rafique S, Kanwar B, et al. Acute exacerbation of COPD: factors associated with poor treatment outcome. *Chest* 2000;117(3):662-671.
28. Mackay AJ, Donaldson GC, Patel AR, Jones PW, Hurst JR, Wedzicha JA. Usefulness of the Chronic Obstructive Pulmonary Disease Assessment Test to

evaluate severity of COPD exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185(11):1218-1224.

29. Soler-Cataluna JJ, Martinez-Garcia MA, Roman Sanchez P, Salcedo E, Navarro M, Ochando R. Severe acute exacerbations and mortality in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2005; 60:925-931.
30. Lee SJ, Lee SH, Kim YE, et al. Clinical Features according to the Frequency of Acute Exacerbation in COPD. *Tuberc Respir Dis* 2012;72(4):367-373.
31. Lopez AD, Mathers CD, Ezzati M, Jamison DT, Murray CJ, Murray C. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet* 2006;367(9524):1747-1757.
32. Sin DD, Anthonisen NR, Soriano JB, Agusti AG. Mortality in COPD: Role of comorbidities. *Eur Respir J* 2006;28(6):1245-1257.
33. Fabbri LM, Luppi F, Beghe B, Rabe KF. Complex chronic comorbidities of COPD. *Eur Respir J* 2008;31(1):204-212.
34. Soriano JB, Visick GT, Muellerova H, Payvandi N, Hansell AL. Patterns of Comorbidities in Newly Diagnosed COPD and Asthma in Primary Care. *Chest* 2005;128(4):2099-2107.
35. McEvoy CE, Ensrud KE, Bender E, et al. Association between corticosteroid use and vertebral fractures in older men with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157(3 Pt 1):704-709.
36. Rana JC, Mittleman MA, Sheikh J, et al. Chronic obstructive pulmonary disease, asthma, and risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2004;27(10):2478-2484.
37. Agusti A, Noguera A, Sauleda J, Sala E, Pons J, Busquets X. Systemic effects of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2003;21(2):347-360.
38. Clarenbach CF, Senn O, Sievi NA, et al. Determinants of endothelial function in patients with COPD. *Eur Respir J* 2013;42(5):1194-1204.
39. Patel AR, Hurst JR. Extrapulmonary comorbidities in chronic obstructive pulmonary disease: state of the art. *Expert Rev Respir Med* 2011; 5(5):647-662.
40. Aryal S, Diaz-Guzman E, Mannino DM. Epidemiology of comorbidities in chronic obstructive pulmonary disease: clusters, phenotypes and outcomes. *Italian Journal of Medicine* 2012; 6(4):276–284.
41. Mannino DM, Thorn D, Swensen A, Holguin F. Prevalence and outcomes of diabetes, hypertension and cardiovascular disease in COPD. *Eur Respir J* 2008; 32(4):962-969.
42. Curkendall SM, Lanes S, de Luise C, et al. Chronic obstructive pulmonary disease severity and cardiovascular outcomes. *Eur J Epidemiol* 2006; 21(11):803-813.

43. Sin DD, Man SF. Chronic obstructive pulmonary disease as a risk factor for cardiovascular morbidity and mortality. *Proc Am Thorac Soc* 2005;2: 8–11.
44. Anthonisen NR, Connett JE, Kiley JP, et al. Effects of smoking intervention and the use of an inhaled anticholinergic bronchodilator on the rate of decline of FEV1. The Lung Health Study. *JAMA* 1994;272(19):1497-505.
45. Sin DD, Man SF. Why are patients with chronic obstructive pulmonary disease at increased risk of cardiovascular diseases? The potential role of systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Circulation* 2003; 107(11):1514-1519.
46. Blann AD, Taberner DA. A reliable marker of endothelial cell dysfunction: does it exist? *Br J Haematol* 1995;90(2):244-248.
47. Singh D, Edwards L, Tal-Singer R, Rennard S. Sputum neutrophils as a biomarker in COPD: findings from the ECLIPSE study. *Respir Res* 2010;11:77.
48. Roy K, Smith J, Kolsum U, Borrill Z, Vestbo J, Singh D. COPD phenotype description using principal components analysis. *Respir Res* 2009;10:41.
49. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340(2):115-126.
50. Pelegriño Nr, Tanni SE, Amaral RA, Angeleli AY, Correa C, Godoy I. Effects of active smoking on airway and systemic inflammation profiles in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Med Sci* 2013;345(6):440-445.
51. Vernooy JH, Kucukaycan M, Jacobs JA, et al. Local and systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166(9):1218-1224.
52. Sabit R, Thomas P, Shale DJ, Collins P, Linnane SJ. The effects of hypoxia on markers of coagulation and systemic inflammation in patients with COPD. *Chest* 2010;138(1):47-51.
53. Takabatake N, Nakamura H, Abe S, et al. The relationship between chronic hypoxemia and activation of the tumor necrosis factor-alpha system in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(4 Pt 1):1179-1184.
54. Pini L, Valsecchi A, Boni E, Guerini M, Tantucci C. Acute dynamic hyperinflation and systemic inflammation in stable COPD patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181:A2907.
55. Sharma G, Hanania NA, Shim YM. The aging immune system and its relationship to the development of chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 2009;6(7):573-580.
56. Danesh J, Whincup P, Walker M, et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *BMJ* 2000;321(7255):199-204.

57. Knockaert DC. Cardiac involvement in systemic inflammatory diseases. *Eur Heart J* 2007;28(15):1797-1804.
58. Decramer M, Rennard S, Troosters T, et al. COPD as a Lung Disease with Systemic Consequences – Clinical Impact, Mechanisms, and Potential for Early Intervention. *COPD* 2008;5(4):235-256.
59. Pinto-Plata VM, Müllerova H, Toso JF, et al. C-reactive protein in patients with COPD, control smokers and non-smokers. *Thorax* 2006;61(1):23-28.
60. Agusti A, Sin DD. Biomarkers in COPD. *Clin Chest Med* 2014;35(1):131-141.
61. Koutsokera A, Kostikas K, Nicod LP, Fitting JW. Pulmonary biomarkers in COPD exacerbations: a systematic review. *Respir Res* 2013;14:111.
62. Herrick S, Blanc-Brude O, Gray A, Laurent G. Fibrinogen. *Int J Biochem Cell Biol* 1999;31(7):741-746.
63. Duvoix A, Dickens J, Hag I, et al. Blood fibrinogen as a biomarker of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2013;68(7):670-676.
64. Vasse M, Paysant J, Soria J, Collet J, Vannier J, Soria C. Regulation of fibrinogen biosynthesis by cytokines, consequences on the vascular risk. *Haemostasis* 1996; Suppl 4:331-339.
65. Fibrinogen Studies Collaboration, Danesh J, Lewington S, et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA* 2005;294(14):1799-1809.
66. Dahl M, Tybjaerg-Hansen A, Vestbo J, Lange P, Nordestgaard BG. Elevated plasma fibrinogen associated with reduced pulmonary function and increased risk of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164(6):1008-1011.
67. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003;111(12):1805-1812.
68. Paffen E, DeMaat MP. C-reactive protein in atherosclerosis: A causal factor? *Cardiovasc Res* 2006;71(1):30-39.
69. de Torres JP, Cordoba-Lanus E, López-Aguilar C, et al. C-reactive protein levels and clinically important predictive outcomes in stable COPD patients. *Eur Respir J* 2006;27(5):902-907.
70. Zhang Y, Bunjhoo H, Xiong W, Xu Y, Yang D. Association between C-reactive protein concentration and chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis. *J Int Med Res* 2012;40(5):1629-1635.
71. Celli BR, Locantore N, Yates J et al. Inflammatory biomarkers improve clinical prediction of mortality in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185(10):1065-1072.

72. Thomsen M, Ingebrigtsen TS, Marott JL et al. Inflammatory biomarkers and exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease. *JAMA* 2013; 309(22):2353-2361.
73. Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial Dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(8):1983-1992.
74. Barac A, Campia U, Panza JA. Methods for Evaluating Endothelial Function in Humans. *Hypertension* 2007;49(4):748-760.
75. Thurston G, Baluk P, McDonald DM. Determinants of endothelial cell phenotype in venules. *Microcirculation* 2000;7(1):67-80.
76. Mirat J. Endothelial function in clinical practice. *Lijec Vjesn* 2005;127(3-4):82-85.
77. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation* 2007; 115(10):1285-1295.
78. Shimokawa H. Primary Endothelial Dysfunction: Atherosclerosis. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31(1):23-37.
79. Ružić A, Miletić B, Nola IA, Peršić V, Ražov-Radas M, Včev A. Endotelna disfunkcija u „enigmatskoj slagalici“ kardiovaskularnih bolesti. *Medicinski glasnik* 2009;6:2-15.
80. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(2):168-175.
81. Barberà JA, Peinado VI, Santos S, Ramirez J, Roca J, Rodriguez-Roisin R. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in pulmonary arteries of smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164: 709–713.
82. Vaudo G, Marchesi S, Gerli R, et al. Endothelial dysfunction in young patients with rheumatoid arthritis and low disease activity. *Ann Rheum Dis* 2004;63:31–35.
83. Tarkun I, Arslan BC, Cantürk Z, Türemen E, Sahin T, Duman C. Endothelial dysfunction in young women with polycystic ovary syndrome: relationship with insulin resistance and low-grade chronic inflammation. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:5592–5596.
84. Moro L, Pedone C, Scarlata S, Malafarina V, Fimognari F, Antonelli-Incalzi R. Endothelial dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Angiology* 2008;59:357–364.
85. Voelkel NF, Cool CD. Pulmonary vascular involvement in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J Suppl* 2003;46:28s-32s.
86. Peinado VI, Barbera JA, Ramirez J, et al. Endothelial dysfunction in pulmonary arteries of patients with mild COPD. *Am J Physiol* 1998;274(6 Pt 1):L908-13.
87. Man SF, Connett JE, Anthonisen NR, Wise RA, Tashkin DP, Sin DD. C-reactive protein and mortality in mild to moderate chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2006;61:849–853.

88. Wanner A, Mendes ES. Airway endothelial dysfunction in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: a challenge for future research. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182(11):1344-1351.
89. Lekakis J, Abraham P, Balbarini A, et al. Methods for evaluating endothelial function: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2011;18(6):775-789.
90. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:257-65.
91. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111–1115.
92. Karoli NA, Rebrov AP, Iudakova I. *Probl Tuberk Bolezn Legk* 2004;(4):19-23.
93. Eickhoff P, Valipour A, Kiss D, et al. Determinants of systemic vascular function in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178(12):1211-1218.
94. Barr Rg, Mesia-Vela S, Austin Jh, et al. Impaired flow-mediated dilation is associated with low pulmonary function and emphysema in ex-smokers: the Emphysema and Cancer Action Project (EMCAP) Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176(12):1200-1207.
95. Sabit R, Shale DJ. Vascular structure and function in chronic obstructive pulmonary disease: a chicken and egg issue? *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176(12):1175-1176.
96. McAllister DA, Maclay JD, Mills NL, et al. Arterial stiffness is independently associated with emphysema severity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176(12):1208-1214.
97. Ozben B, Eryüksel E, Tanrikulu AM, Papila-Topal N, Celikel T, Başaran Y. Acute exacerbation impairs endothelial function in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2010;38(1):1-7.
98. Takahashi T, Kubo H. The role of microparticles in chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2014;9:303-314.
99. Chalmers GW, Macleod KJ, Sriram S, et al. Sputum endothelin-1 is increased in cystic fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1999; 13(6):1288-1292.
100. Krasnowska M, Nittner-Marszalska M, Krasnowski R, Kopec W, Fal A, Bialek A. Endothelin, Endothelial Cells, and von Willebrand Factor in Peripheral Blood of COPD in the Context of Hypoxemia. *Adv Clin Exp Med* 2007;16(3):395-401.

101. Barr RG. The epidemiology of vascular dysfunction relating to chronic obstructive pulmonary disease and emphysema. *Proc Am Thorac Soc* 2011; 8(6):522-527.
102. Lip GY, Blann A. von Willebrand factor: a marker of endothelial dysfunction in vascular disorders? *Cardiovasc Res* 1997;34(2):255-265.
103. Polatli M, Cakir A, Cildag O, Bolaman A, Yenisey C, Yenicierioglu Y. Microalbuminuria, von Willebrand factor and fibrinogen levels as markers of the severity in COPD exacerbation. *J Thromb Thrombolysis* 2008;26(2):97-102.
104. Hekman CM, Loskutoff DJ. Fibrinolytic pathways and the endothelium. *Sem Thromb Haemost* 1987;13:514-527.
105. Blann AD. von Willebrand factor and the endothelium in vascular disease. *Br J Biomed Sci* 1993;50:125-134.
106. Spiel AO, Gilbert JC, Jilma B. von Willebrand factor in cardiovascular disease: focus on acute coronary syndromes. *Circulation* 2008;117(11):1449-1459.
107. Al-Awadhi AM, Jadaon MM, Alsayegh FA, Al-Sharrah SK. Smoking, von Willebrand factor and ADAMTS-13 in healthy males. *Scand J Clin Lab Invest* 2012;72(8):614-618.
108. Aguerri MA, Ezquerro KL, López FC, Lacasa RC. Hypercoagulability state and endothelial injury in stable chronic obstructive pulmonary disease patients. *An Sist Sanit Navar* 2010;33(1):43-50.
109. Polosa R, Cacciola RR, Prosperini G, Spicuzza L, Moijaria JB, Di Maria GU. Endothelial-coagulative activation during obstructive pulmonary disease exacerbations [Article in. Spanish]. *Haematol* 2008;93(8):1275-1276.
110. Bártholo TP, da Costa CH, Rufino R. Evaluation of von Willebrand factor in COPD patients. *J Bras Pneumol* 2014;40(4):373-379.
111. Lüscher TF, Barton M. Endothelins and endothelin receptor antagonists: therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs. *Circulation* 2000;102(19):2434-2440.
112. Lerman A, Holmes DR Jr, Bell MR, Garratt KN, Nishimura RA, Burnett JC Jr. Endothelin in coronary endothelial dysfunction and early atherosclerosis in humans. *Circulation* 1995;92(9):2426-2431.
113. Paulus P, Jennewein C, Zacharowski K. Biomarkers of endothelial dysfunction: can they help us deciphering systemic inflammation and sepsis? *Biomarkers* 2011; Suppl 1:S11-21.
114. Trakada G, Tsourapis S, Marangos M, Spiropoulos K. Arterial and bronchoalveolar lavage fluid endothelin-1 concentration in asthma. *Respir Med* 2000;94(10):992-996.
115. Spiropoulos K, Trakada G, Nikolaou E, et al. Endothelin-1 levels in the pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma. *Respir Med* 2003;97(8):983-939.

116. Oelsner EC, Pottinger TD, Burkart KM, et al. Adhesion molecules, endothelin-1 and lung function in seven population-based cohorts. *Biomarkers* 2013; 18(3):196-203.
117. Sofia M, Mormile M, Faraone S, et al. Increased 24-hour endothelin-1 urinary excretion in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration* 1994;61(5):263-268.
118. Medical Research Council. Committee on research into chronic bronchitis. Instructions for use of the questionnaire on respiratory symptoms. Devon, W.J.Holman,1966.
119. Jones PW, Harding G, Berry P, Wiklund I, Chen WH, Kline Leidy N. Development and first validation of the COPD Assessment Test. *Eur Respir J* 2009;34(3):648-654.
120. American Thoracic Society. AST Statement: Guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166(1):111-117.
121. Enright PL, Sherrill DL. Reference equations for the six-minute walk in healthy adults. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158(5 Pt 1):1384-1387.
122. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V et al.; ATS/ERS Task Force:Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005;26(2):319-338.
123. Report of the Working Party of the European Community for Coal and Steel.Standardization of Lung Function Tests. *Bull Europ Physiopath Resp* 1983;19(5):3-38.
124. Cherniak RM, Raber MB. Normal standards for ventilatory function using anautomated wedge spirometer. *Am Rev Respir Dis* 1972;106(1):38-46.
125. Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault JC. Lung volumes and forced ventilatory flows.Report Working party, Standardization of lung function tests,European Community for Coal and Steel, Official statement of the European Respiratory Society. *Eur Respir J* 1993;6(16):5-40.
126. Cotes JE. Lung function: assessment and application in medicine. 4th ed. Oxford: Blackwell 1979:329-387.
127. Halpin DM, Decramer M , Celli B , Kesten S , Leimer I , Tashkin DP. Risk of nonlower respiratory serious adverse events following COPD exacerbations in the 4-year UPLIFT(R) trial. *Lung* 2011;189(4):261-268.
128. Donaldson GC, Hurst JR, Smith CJ , Hubbard RB, Wedzicha JA. Increased risk of myocardial infarction and stroke following exacerbation of COPD. *Chest* 2010;137:1091-1097.
129. Donaldson GC, Seemungal TA, Bhowmik A, Wedzicha JA. Relationship between exacerbation frequency and lung function decline in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2002;57(10):847-852.

130. Oh YM, Sheen SS, Park JH, et al. Emphysematous phenotype is an independent predictor for frequent exacerbation of COPD. *Int J Tuberc Lung Dis* 2014; 18(12):1407-1414.
131. Donaldson GC, Wedzicha JA. COPD exacerbations. 1: Epidemiology. *Thorax* 2006;61(2):164-168.
132. Cote CG, Dordelly LJ, Celli BR. Impact of COPD exacerbations on patient-centered outcomes. *Chest* 2007;131(3):696-704.
133. Lee SD, Huang MS, Kang J, et al. The COPD assessment test (CAT) assists prediction of COPD exacerbations in high-risk patients. *Respir Med* 2014; 108(4):600-608.
134. Helsinki WMADo. Ethical principles for medical research involving human subjects. *Bull World Health Organ*. 2001;79(4):373-374.
135. Anderson D, MacNee W. Targeted treatment in COPD: a multi-system approach for a multi-system disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2009;4:321-335.
136. Celli BR, Thomas NE, Anderson JA, et al. Effect of Pharmacotherapy on Rate of Decline of Lung Function in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2008;178(4):332-338.
137. Hurst JR, Vestbo J, Anzueto A, et al. Susceptibility to Exacerbation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *N Engl J Med* 2010;363(12):1128-1138.
138. O'Donnell DE, Parker CM. COPD exacerbations · 3: Pathophysiology. *Thorax* 2006;61(4):354-361.
139. MacLay JD, McAllister DA, Macnee W. Cardiovascular risk in chronic obstructive pulmonary disease. *Respirology* 2007;12(5):634-641.

11 ŽIVOTOPIS

Rođena sam 21.07.1971.godine u Zagrebu, pohađala sam osnovnu školu u Jastrebarskom, te potom srednju u Zagrebu. 1990.godine upisala sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, na kom sam i diplomirala 28.06.1996.godine.

Nakon pripravničkog staža u Kliničkoj bolnici „Sestre milosrdnice“ i KBC Zagreb u Zagrebu sam 25.02. 1998.godine položila državni ispit. Nakon položenog državnog ispita kratko vrijeme sam radila u Hrvatskom zavodu za zdravstveno osiguranje (HZZO-u).

Od 1999.g. do danas zaposlena sam u Klinici za plućne bolesti „Jordanovac“, KBC Zagreb. Specijalistički sam ispit iz interne medicine položila 07.07.2004.g. Subspecijalistički ispit iz pulmologije sam položila 26.06.2007.godine. Trenutno radim kao odjelni liječnik na Odjelu za bolesti plućne cirkulacije. Uže područje kojim se bavim su opstruktivne bolesti pluća i cistična fibroza.

Član sam Hrvatskog liječničkog zbora, Hrvatskog pulmološkog društva i Hrvatskog torakalnog društva.

Sudjelovala sam na brojnim međunarodnim i domaćim kongresima, godišnjim sastancima i skupovima, uz aktivno sudjelovanje s radovima ili kao predavač. Objavila sam 5 radova i 15 kongresnih sažetaka u indeksiranim međunarodnim i domaćim radovima od toga 3 rada indeksirana u Current Contents.

Govorim engleski i slovački jezik a pasivno se služim i njemačkim jezikom.

12 PRILOZI

Prilog 1. Modificirana Medical Research Council (mMRC) skala zaduhe

Stupanj 0	nedostatak zraka nije prisutan (osim u ekstremnom opterećenju)
Stupanj 1	nedostatak zraka pri penjanju uzbrdicom
Stupanj 2	nedostatak zraka pri hodu po ravnom, sporiji od vršnjaka
Stupanj 2	nedostatak zraka nakon manje od 100 m ili par minuta, radi čega mora stati
Stupanj 4	nedostatak zraka pri minimalnom naporu, npr. odijevanju, stoga ne mogu izlaziti iz kuće

Prilog 2. Test za procjenu KOPB (CAT, engl. COPD Assessment Test)

Za svaku tvrdnju navedenu ispod, označite (znakom X) kućicu koja Vas trenutno najbolje opisuje. Pazite da za svako pitanje odaberete samo jedan odgovor

CAT upitnik

Nikada ne kašljem	0 1 2 3 4 5	stalno kašljem
Uopće nemam sekreta(sluzi) u plućima	0 1 2 3 4 5	moja su pluća u cijelosti cijelosti puna sekreta(sluzi)
Uopće ne osjećam stezanje u prsnom košu	0 1 2 3 4 5	Osjećam jako stezanje u prsnom košu
Kada se penjem uzbrdo ili po stepenicama ne nedostaje mi zraka	0 1 2 3 4 5	Kada se penjem uzbrdo ili po stepenicama jako mi nedostaje zraka
Nisam ograničen/ograničena u obavljanju bilo kojih kućanskih aktivnosti	0 1 2 3 4 5	Vrlo sam ograničen/ograničena u obavljanju kućanskih aktivnosti
S povjerenjem izlazim iz kuće bez obzira na svoju plućnu bolest	0 1 2 3 4 5	Uopće nemam povjerenja kad izlazim iz kuće zbog svoje plućne bolesti
Čvrsto spavam	0 1 2 3 4 5	Ne spavam čvrsto zbog svoje plućne bolesti
Imam puno energije	0 1 2 3 4 5	Uopće nemam energije

Rezultat se iskazuje kao zbroj bodova svih odgovora.