PROCJENA ENDOTELNE DISFUNKCIJE KOD OBOLJELIH OD KRONIČNE OPSTRUKTIVNE PLUĆNE BOLESTI

Maričić, Lana

Doctoral thesis / Disertacija

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:193208

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Lana Maričić

PROCJENA ENDOTELNE DISFUNKCIJE KOD OBOLJELIH OD KRONIČNE OPSTRUKTIVNE PLUĆNE BOLESTI

Disertacija

Osijek, 2014.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Lana Maričić

PROCJENA ENDOTELNE DISFUNKCIJE KOD OBOLJELIH OD KRONIČNE OPSTRUKTIVNE PLUĆNE BOLESTI

Disertacija

Osijek, 2014.

Disertacija je izrađena na Odjelu za plućne bolesti Klinike za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Osijek. Analiza uzoraka učinjena je na Odjelu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Mentor rada: prof.dr.sc.Andrijana Včeva, dr.med.

Rad ima 78 listova

Zahvaljujem se onima bez čije pomoći ne bi bilo ove disertacije:

Mentorici prof.dr.sc. Andrijani Včev, dr.med., Katedra za otorinolaringologiju i maksilofacijalnu kirurgiju s audiologijom, fonijatrijom i stomatologijom Medicinskog fakulteta Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, prof.dr.sc. Aleksandru Včevu, dr.med., pročelniku Klinike za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Osijek, dekanu Medicinskog fakulteta Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, predsjedniku Katedre za internu medicinu.

Posebno zahvaljujem svim djelatnicima Odjela za plućne bolesti Klinike za unutarnje bolesti i Odjela za kliničku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek i svim pacijentima koji su sudjelovali u istraživanju i nesebično pomogli u ostvarenju ciljeva ovog istraživanja.

Najveća zahvala mojim roditeljima na bezuvjetnoj podršci i razumijevanju.

SADRŽAJ

1. UVOD…….....1

1.1. Kronična opstruktivna plućna bolest…….....1

1.2. Patofiziologija i patogeneza KOPB-a…….....2

1.2.1. Patologija KOPB-a…….....4

1.2.2. Patofiziologija KOPB-a..……..…….....4

1.3. Sistemske posljedice KOPB-a…….....5

1.4. Endotelna disfunkcija……..….....8

1.4.1. Endotelna disfunkcija u kliničkoj praksi…….....10

1.4.2. Endotelna disfunkcija i KOPB…….....11

1.5. Von Willenbrand faktor…….....12

1.6. Izdisajni dušikov oksid (NO)…….....13

2. HIPOTEZA.....…….....15

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA…….....16

4. ISPITANICI I METODE…….....17

4.1. Uzorak ispitanika.....…….....17

4.2. Plan istraživanja…….....17

4.3. Metode istraživanja.....19

4.3.1. Testovi procjene plućne funkcije.....19

4.3.2. Laboratorijska mjerenja.....22

4.4. Statistička obrada podataka.....23

5. REZULTATI…….....25

5.1. Karakteristike sudionika…….....25
5.2. Analiza skupine sudionika oboljelih od KOPB-a.....26
5.2.1. Povezanost biljega endotelne disfunkcije s parcijalnim tlakom O_2 i CO_2.....30
5.3. Analiza razine izdisajnog NO i vWf ovisno o stupnju težine KOPB-a.....31
5.4. Ispitivanje odnosa biljega endotelne disfunkcije i pušenja.....32
5.5. Usporedba oboljelih ovisno o dužini liječenja i vrsti terapije.....34
5.6. Analiza kontrolne skupine zdravih (pušača).....35
5.7. Analiza kontrolne skupine zdravih (nepušača).....37
5.8. Usporedba oboljelih i kontrolne skupine zdravih sudionika.....38
5.9. Analiza utjecaja kardiovaskularnih čimbenika rizika (kolesterola i triglicerida) na razinu biljega endotelne disfunkcije.....41
5.10. Analiza povezanosti BMI sa razinom biljega endotelne disfunkcije.....42

6. RASPRAVA…….....45

7. ZAKLJUČCI…….....55

8. SAŽETAK…….....56

9. SUMMARY…….....58

10. LITERATURA…….....60

11. ŽIVOTOPIS…….....69

POPIS OZNAKA I KRATICA:

KOPB - kronična opstruktivna plućna bolest

IL-8 – interleukin 8

LTB4 – leukotrien B4

NKκB – nuklearni faktor kapa B (engl. nuclear factor kappa B)

IL-1B – interleukin 1B

INF-γ – interferon γ

IL-4 - interleukin 4

IL-13 – interleukin 13

TNF-α – faktor nekroze tumora alfa

ICAM-1 – međustanična adhezijska molekula (engl. Intercellulare Adhesion Molecule-1)

VCAM-1 – vaskularna adhezijska molekula (engl. Vascular Cell Adhesion Molecule-1)

vWf - von Willenbrandov faktor

NO – dušični oksid

PAI-1 – inhibitor aktivatora plazminogena-1

t-PA – tkivni aktivator plazminogena

CRP – C- reaktivni protein

FRC – funkcionalni rezidualni kapacitet

FVC – forsirani vitalni kapacitet

PEF – najveći ekspiratorni protok (engl. peak expiratory flow)

MEF_{25} – forsirani ekspiratorni protok pri 25% FVC

MEF_{50} - forsirani ekspiratorni protok pri 50% FVC

MEF_{75} – forsirani ekspiratorni protok pri 75% FVC

DLCO – difuzijski kapacitet pluća (engl. Diffusing capacity for lung carbon monoxide)

FEV1/FVC – forsirani ekspiratorni volumen u 1 sekundi/forsirani vitalni kapacitet; Tiffeneauov index

pO_2 – parcijalni tlak kisika u arterijskoj krvi

pCO_2 – parcijalni tlak ugljičnog dioksida u arterijskoj krvi

HCO_3 – bikarbonati

H_2O_2- vodikov peroksid

FMD – ultrazvučni test protokom posredovane dilatacije perifernih arterija, (engl. flow mediated dilatation)

pack/years – broj popušenih cigareta u godini dana

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

CAT – COPD Assesment Test

mMRC – modificirana skala dispneje (engl. Modified Medical Research Council Dyspnea Scale)

GOLD - Global initiative for chronic obstructive lung disease

1. UVOD

1.1 Kronična opstruktivna plućna bolest

Kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB) je multisistemska bolest, jedan od vodećih uzroka mortaliteta i morbiditeta (1). Prema dosadašnjim podatcima predstavlja četvrti vodeći uzrok smrti u svijetu, a procjenjuje se da će do 2020. godine postati treći najveći svjetski „ubojica“. Prema dostupnim podatcima procjenjuje sa da godišnje od KOPB-a u svijetu umre oko 3 milijuna ljudi. Karakterizira ju progresivna, ireverzibilna opstrukcija dišnih putova koja nastaje kao posljedica dugotrajnog djelovanja toksičnih čestica i plinova. Progresivan tijek osobito je izražen u osoba koje su kontinuirano izložene štetnim čimbenicima. Ukoliko izloženost štetnim čimbenicima prestane, čak i ako je prisutna značajna opstrukcija dišnih putova, može doći do djelomičnog poboljšanja plućne funkcije i usporenja napretka bolesti (2). Nasuprot tomu bolest može progredirati nakon prekida izlaganju štetnim čimbenicima što je i posljedica procesa slabljenja plućne funkcije s godinama (1). Navedene promjene rezultiraju kliničkim manifestacijama: dispnejom, kašljem, hipoksemijom, povećanom produkcijom sekreta. Akutna pogoršanja, uz pridruženi komorbiditet, pridonose napredovanju bolesti. KOPB kao vodeći uzrok mortaliteta i morbiditeta u svijetu istovremeno predstavlja veliki društven-ekonomski problem (2).

Iako pušenje predstavlja vodeći uzročni čimbenik za razvoj KOPB-a, okoliš, odnosno profesionalna izloženost organskim i anorganskim česticama, također predstavlja značajan čimbenik. Navedeni su čimbenici uzrok KOPB-a u 10 do 20% slučajeva (2,3).

Dijagnoza KOPB-a temelji se na tri razmatranja: prisustvu simptoma vezanih uz bolest, izloženosti faktorima rizika te spiromterijskom nalazu koji govori u prilog opstrukciji.

Odluka o načinu liječenja temelji se na težini simptoma i stupnju opstrukcije. Procjena težine simptoma temelji se na jednostavnim i pouzdanim upitnicima koji se upotrebljavaju u svakodnevnoj praksi koji olakšavaju istodobno mjerenje težine tegoba i procjenu rizika od neželjenih posljedica (2). Sukladno tome, oboljeli od KOPB-a na osnovu kombinacije triju parametara dijele se četri terapijske skupine (1). Prva dva parametra odnose se na budući rizik od komplikacija i pogoršanja bolesti, a zasnivaju se na mjerenju plućne funkcije prema GOLD stupnjevima i učestalosti egzacerbracija KOPB-a. Kao temelj za procjenu stupnja rizika uzima se lošiji parameter. Treći parameter je funkcionalni status koji se procjenjuje prema modificiranoj

skali zaduhe (mMRC) ili novo razvijenom CAT (COPD Assesment Test) upitniku koji je dizajniran specifično za procjenu tegoba izazvanih KOPB-om (1).
Temeljnu terapiju čine bronhodilatatori, beta-agonisti, muskarinski antagonisti dugog i kratkog djelovanja te kombinacija bronhodilatatora i inhalacijskih kortikosteroida i kontinuirana primjena kisika (1). Prema smjernicama GOLD-a preporučuje se postupno uvođenje navedene farmakološke terapije, ovisno o prisustvu simptoma i riziku od egzacerbacije.

1.2 Patofiziologija i patogeneza KOPB-a

KOPB je karakteriziran kroničnom upalom dišnih putova, plućnog parenhima i plućnih krvnih žila. Intenzitet upale te stanične i molekularne karakteristike upale variraju kako bolest napreduje. S vremenom upala oštećuje pluća i vodi patološkim promjenama koje su karakteristične za KOPB. Uz upalu, neravnoteža između proteinaza i antiproteinaza te oksidativni stres imaju važnu ulogu u patogenezi KOPB-a. Povećana količina upalnih stanica u različitim dijelovima pluća jedno je od obilježja KOPB-a (4). Glavne su upalne stanice neutrofili, makrofazi i limfociti (osobito CD8+) (5). Povećani broj neutrofila nađen je u sputumu i bronhoalveolarnom lavatu oboljelih od KOPB-a, a svako akutno pogoršanje KOPB-a karakterizirano je dodatnim porastom neutrofila u bronhoalveolarnom lavatu. Neutrofili luče nekoliko proteinaza, uključujući neutrofilnu elastazu, neutrofilni katepsin i neutrofilnu proteinazu-3 koje mogu doprinijeti destrukciji parenhima i kroničnoj sekreciji sluzi (6).
Povećani broj makrofaga prisutan je u velikim i malim dišnim putovima KOPB-bolesnika. Vjerojatno je da makrofazi oslobađanjem medijatora kao što su faktor nekroze tumora (TNF), interleukin-8 (IL-8) i leukotrien B4 (LTB4) potiču neutrofilnu upalu. U plućima KOPB-bolesnika postoji povećan broj citotoksičnih T-limfocita (CD8+ T limfocita) (4). Jedan je od načina na koji citotoksični T-limfociti mogu doprinijeti razvoju KOPB-a oslobađanje perforina, granzima-B i TNF-α koji uzrokuju citolizu i apoptozu alveolarnih epitelnih stanica i na taj način mogu biti odgovorni za održavanje upale. Eozinofili su povećanog broja u akutnom pogoršanju KOPB-a. Epitelne stanice dišnih putova i alveola vjerojatno su značajan izvor upalnih medijatora u
KOPB-u (7). Aktivirane upalne stanice KOPB-a oslobađaju razne medijatore upale. Smatra se da su LTB4, IL-8 i TNF-α važni u patogenezi KOPB-a. Dim cigareta aktivira makrofage i epitelne

stanice na lučenje TNF-α i može potaknuti makrofage da luče druge medijatore upale, uključujući IL-8 i LTB4 (8).

LTB4 je snažan kemotaktični faktor za neutrofile i nađen je u povišenoj koncentraciji u pacijenata s KOPB-om, dok je IL-8 selektivni kemotaktični faktor za neutrofile i nalazi se u povećanoj koncentraciji u sputumu i bronhoalveolarnom lavatu KOPB-bolesnika. Mogu ga lučiti makrofazi, neutrofili i epitelne stanice dišnih putova. Može se koristiti kao biljeg za evaluaciju težine upale dišnih putova (8). TNF aktivira transkripcijski faktor, jezgrin faktor kappa B (NK-κB) koji aktivira IL-8-gen u monocitima krvi, a povećan je u bolesnika koji gube na tjelesnoj težini, što sugerira njegovu ulogu u razvoju kaheksije u teškom KOPB-u (9).

Takoder, neravnoteža izmedu proteinaza i antiproteinaza može rezultirati razvojem plućne destrukcije. Ona nastaje zbog genetskog nedostatka antiproteaza (α-1-antitripsina) ili povećanog stvaranja proteaza (9). Povećano stvaranje proteaza nastaje kao posljedica upale inducirane izlaganjem iritansima. One uključuju neutrofilnu elastazu, neutrofilni katepsin G, neutrofilnu proteinazu 3, katepsine iz makrofaga i matriks metaloproteinaze. Te su proteinaze sposobne razgraditi sve tri vezivne komponente alveolarnog zida.

Oksidativni stres nastaje izravnim djelovanjem reaktivnih tvari iz duhanskog dima i neizravno u sklopu upalne reakcije. Stvara se velika koncentracija slobodnih kisikovih radikala sa sposobnošću oksidacije lipida, proteina i DNA što dovodi do njihove disfunkcije. Oksidativni stres nastaje u trenutku kad se promjeni ravnoteža između oksidansa i antioksidansa . Biljezi oksidativnog stresa, dušikov oksid (NO) i vodikov peroksid (H_2O_2) prisutni su u dišnim putevima oboljelih od KOPB-a, te se njihova koncentracija može odrediti u urinu i izdahu kod oboljelih od KOPB-a (10). NO i H_2O_2 predstavljaju direktne biljege upalnog procesa, a oslobađaju ih leukociti i epitelne stanice. Dobro razvijeni enzimatski i neenzimatski antioksidativni sustav (glutation, mokraćna kiselina, biliburin, askorbinska kiselina i tokoferol) imaju funkciju, da zaštite stanicu od negativnog utjecaja oksidativnog stresa (11).U dimu cigarete nalazi se preko 6000 supstanci koje sadrže slobodne radikale i druge oksidanse u visokim koncentracijama. NO prisutan je u duhanskom dimu u koncentracijama od 500 do 1000 ppm (12). Slobodni radikali putem aktivacije NK-κB induciraju ekspresiju gena koji su odgovorni za produkciju proinfalmatornih citokina.

1.2.1 Patologija KOPB-a

Patološke promjene karakteristične za KOPB zahvaćaju središnje i periferne dišne putove, plućni parenhim i plućnu vaskulaturu. Različite vrste oštećenja posljedica su kronične upale u plućima koja počinje inhalacijom štetnih čestica i plinova kao što su sastojci dima cigareta. Središnjim dišnim putevima pripadaju traheja, bronhi i bronhioli veći od 2-4 mm u promjeru, dok u periferne dišne putove ubrajamo bronhe i bronhiole manje od 2 mm. Rano slabljenje plućne funkcije u KOPB-u korelira s upalnim promjenama u perifernim dišnim putovima koje su slične onima u središnjim dišnim putovima. Te promjene uključuju eksudat tekućine i stanica u zid i lumen dišnih putova, metaplaziju vrčastih i skvamoznih stanica, edem mukoze i povećanje sluzi u dišnim putovima zbog metaplazije vrčastih stanica. Najkarakterističnija je promjena u perifernim dišnim putovima njihovo suženje. Procesi oporavka povećavaju količinu kolagena i dovode do stvaranja ožiljaka što dovodi do remodeliranja tkiva, suženja dišnih putova i njihove fiksne opstrukcije. Te strukturne promjene dišnih putova najvažniji su uzrok porasta perifernog otpora u KOPB-u, ali ključnu ulogu ima fibroza koju karakterizira akumulacija fibroblasta i miofibroblasta te nakupljanje ekstracelularnog vezivnog tkiva. Najčešći je tip parenhimalne destrukcije u KOPB-pacijenata centrilobularni oblik emfizema koji uključuje dilataciju i destrukciju respiratornih bronhiola. Panacinarni emfizem, koji se širi kroz cijeli acinus, karakteristična je lezija u pacijenata s nedostatkom α-1-antitripsina. Ona uključuje dilataciju i destrukciju alveolarnih duktusa, vrećica i respiratornih bronhiola te češće zahvaća donje plućne režnjeve. Zahvaćenost plućne vaskulature u KOPB-u počinje u ranim fazama razvoja bolesti.
Disfunkcija endotela plućnih arterija najranija je promjena. Ona može biti uzrokovana izravnim djelovanjem cigaretnog dima ili neizravno upalnim medijatorima (13).

1.2.2 Patofiziologija KOPB-a

Patofiziološke promjene karakteristične za bolest uključuju hipersekreciju sluzi, cilijarnu disfunkciju, opstrukciju, plućnu hiperinflaciju, poremećaj izmjene plinova, plućnu hipertenziju i plućno srce. Promjene se obično zbivaju navedenim redom. Ograničavanje protoka zraka dišnim putovima u ekspiraciji inicijalno se događa samo u tjelesnom naporu, ali kasnije i u mirovanju. Kako se razvija ograničenje protoka zraka, pražnjenje je pluća usporeno i interval između

inspiracija ne dopušta potpunu ekspiraciju i relaksaciju volumena respiratornog sustava. To vodi dinamičkoj plućnoj hiperinflaciji (13). Povećanje FRC-a (funkcinalnog rezidualnog kapaciteta) može oštetiti funkciju i koordinaciju respiratorne muskulature, iako se čini da je kontraktilnost dijafragme očuvana, ako se uzima u obzir plućni volumen. Te se promjene dogadaju s napredovanjem bolesti, ali gotovo uvijek prvo tijekom tjelesnog napora. Tada povećana metabolička stimulacija ventilacije zahtijeva veći rad ventilacijske pumpe za održavanje izmjene plinova (2). U uznapredovalom KOPB-u periferna opstrukcija dišnih putova, destrukcija plućnog parenhima i abnormalnosti plućnih krvnih žila smanjuju kapacitet pluća za izmjenu dišnih plinova i dovode do hipoksemije, a daljnjim napretkom bolesti i hiperkapnije. Reducirana ventilacija zbog gubitka elastičnih svojstava emfizematoznog pluća, zajedno s gubitkom kapilara i generaliziranom nehomogenosti ventilacije zbog mjestimičnih promjena, vode do ventilacijsko perfuzijskog nesrazmjera što rezultira hipoksemijom. Kronična hiperkapnija obično je odraz disfunkcije inspiratornih mišića i alveolarne hipoventilacije (2).

1.3 Sistemske posljedice KOPB-a

Najznačajnije su sistemske posljedice kardiovaskularni poremećaj, osteoporoza, gubitak na tjelesnoj težini, malnutricija, metabolički sindrom, anksioznost, depresija te disfunkcija mišića. Jedan je od najznačajnih komorbiditeta pripada i karcinomu pluća.

KOPB predstavlja neovisni rizični faktor za razvoj kardiovaskularnih bolesti, uključujući koronarnu i cerebrovaskularnu bolest (16,17). Sistemska upala i posljedice pušenja, dovode do razvoja i oštećenja endotela s posljedičnim smanjenjem vazodilatacijske sposobnsti što rezultira endotelnom disfunkcijom te započinjanjem aterosklerotskog procesa. KOPB predstavlja značajan rizik u nastanku kardiovaskularnih bolesti (16). Anatomski i funkcionalni odnos koji postoji između pluća i srca takav je da će bilo koji poremećaj koji utječe na jedan od organa vjerojatno imati posljedice na drugi. Ta je interakcija važna u bolesnika s KOPB-om, a može se sažeti u dvije vrste. Prva se odnosi na patologiju koju dijele zbog sličnih rizika, kao što je primjerice dim cigarete, a rezultira bolešću koronarnih arterija ili kongestivnim zatajenjem srca te KOPB-om. Druga rezultira disfunkcijom srca iz primarne bolesti pluća, kao što je sekundarna plućna hipertenzija i ventrikularna disfunkcija zbog povećanog tlaka unutar prsnoga koša (17).

Uzrok smrti bolesnika s KOPB-om često su kardiovaskularne komplikacije, aritmije, infarkt miokarda ili pak kongestivno srčano zatajenje. Za svako smanjenje forsiranog ekspiratornog volumena u prvoj sekundi (FEV1) od 10%, ukupna smrtnost raste za 14 %, a smrtnost od kardiovaskularnih komplikacija za 28% (18). Zbog navedenog se može reći da oboljeli od KOPB-a češće umiru od kardiovaskularnih komplikacija nego od respiratorne insuficijencije. C-reaktivni protein (CRP) predstavlja najznačajniji pokazatelj rizika za razvoj KOPB-a (19). Smanjenje funkcije pluća također je povezano s metaboličkim sindromom i dijabetesom. Lee i sur. (20) pokazali su da je u osoba s metaboličkim sindromom smanjenje FVC-a (forsiranog vitalnog kapaciteta) povezano s daljnjim porastom smrtnosti, što upućuje da procjena funkcije pluća može biti korisna za procjenu rizika u onih s metaboličkim sindromom. Prevalencija dijabetesa u bolesnika s KOPB-om kreće se od 1,6 do 16% .Kao i u KOPB-u, pušenje je važan čimbenik rizika za dijabetes, a prestanak pušenja za više od 5-10 godina umanjuje navedeni rizik. Dokazi o povezanosti između dijabetesa i KOPB-a, podržani od strane istraživanja koja pokazuju smanjene plućne funkcije, predstavlja čimbenik rizika za razvoj dijabetesa (19).

Prema dosadašnjim istraživanjima utvrđena je povezanost dislipidemije i KOPB-a. Iako ta povezanost nije u potpunosti razjašnjena, može se zaključiti da navedeni čimbenik predstavlja značajan rizik za smrtnost od kardiovaskualrnih bolesti, ali i od KOPB-a (21).

Bolesnici s KOPB-om imaju povećan rizik od razvoja osteoporoze zbog dobi, ograničenja fizičke aktivnosti, niskog indeksa tjelesne mase, pušenja, hipogonadizma, malnutricije i kortikosteroidne terapije. No u nastanku osteoporoze u KOPB-u ključnu ulogu imaju protuupalni citokini TNF α, IL-6 i IL-1. Sistemska primjena kortikosteroida također povećava rizik od osteoporoze (22). Iako KOPB sam slovi kao jedan od faktora rizika za osteoporozu, odnos između visine emfizema i smanjene gustoće kostiju još uvijek je nejasan (19).

Disfunkcija perifernih mišića značajna je sistemska posljedica KOPB-a. Miopatija nastaje kao posljedica više čimbenika: terapije kortikosteroidima, upale i hipoksemije. Citokini, osobito TNF, djeluju na mišićne stanice preko transkipcijskog faktora NF-kB. TNF potiče ekspresiju gena proupalnih citokina i time pokreće upalu. Kronična hipoksija suprimira sintezu proteina u mišićnim stanicama, a oksidativni stres dovodi do umora mišića zbog pojačane proteolitičke aktivnosti. Gubitak mišićne mase ima za posljedicu gubitak tjelesne težine i loš je prognostički čimbenik u bolesnika s KOPB-om. Mehanizam na kojem se temelji gubitak na tjelesnoj težini te

smanjenje mišićne mase posljedica je procesa neravnoteže u sintezi i razgradnji proteina, a nastaje kao rezultat djelovanja biljega sistemske upale i endokrinih hormona poput inzulina, hormona rasta, glukokortikoida i testosterona (22).

Novija istraživanja pokazuju da čimbenici upale koji su značajni za sistemske promjene u KOPB-u djeluju i na krvne žile mozga izazivajući depresiju. Tjeskoba i depresija su vrlo česti u bolesnika s KOPB-om i čini se da više prevladavaju nego kod drugih kroničnih bolesti. Iako točan uzrok tih simptoma nije jasno definiran, nekoliko je varijabli koje su uključene u nastanak: tjelesni invaliditet, dugotrajna terapija kisikom, nizak indeks tjelesne mase, teška dispneja, niska vrijednost FEV1 < 50%, loša kvaliteta života, prisustvo komorbiditeta, ženski spol, trenutno pušenje, niski socioekonomski status. Prema dosadašnjim istraživanjima prevalencija anksioznosti iznosi od 37-70%, a depresije od 50-75% (25).

U akutnoj egzacerbaciji KOPB-a, uz CRP, povećava se i razina fibrinogena, čime se povećava rizik od tromboembolije (26). Plućna embolija predstavlja puno češći komorbiditet KOPB-a nego što se ranije mislilo, ali točan mehanizam nije dosada razjašnjen. Endotelna disfunkcija, koja nastaje prvenstveno kao posljedica pušenja i hipoksije, na razini plućne cirkulacije uzrokuje inicijalne promjene koje bi mogle biti odgovorne za razvoj plućne embolije. Rizkallah i sur. (27) procjenju da jedan od četiri hospitalizirana bolesnika s akutnim pogoršanjem KOPB-a ima plućnu emboliju.

Anemija je također često prisutna u bolesnika s KOPB-om i dodatno pogoršava dispneju. Posljedica je djelovanja IL-6, IL-8, CRP-a i TNF α na smanjenje broja eritrocita, iskorištavanje željeza i rezistencije na eritropoetin (28).

Pridruženi komorbiditet češći je uzrok smrti kod oboljelih nego respiratorne komplikacije kod istih. U skladu s dosadašnjim spoznajama, može se zaključiti, kao i u ostalim kroničnim upalama, da je u KOPB-u prisutna sistemska, "low-grade" upala čije posljedice utječu na razvoj i na krajnji ishod bolesti (29).

Posebnu skupinu posljedica KOPB-a čine one posljedice koje su ograničene na respiratorni sustav, prvenstveno karcinom pluća, a zatim i upalu pluća i opstruktivnu *sleep* apneju. Iako pušenje predstavlja vodeći uzrok karcinoma pluća i KOPB-a, smatra se da je temeljna povezanost u razini plućne opstrukcije (30). Rizik za razvoj raka pluća pokazao je da je proporcionalan težini opstrukcije dišnih putova (31). Malo smanjenje plućne funkcije kod pušača povezano je sa značajnim povećanjem rizika od karcinoma pluća. Postoji jasna interakcija između COPD-a i

karcinoma pluća kod aktivnog pušenja. Nakon odvikavanja od pušenja ostaje rizik od raka pluća povećan u bolesnika s KOPB-om iako je taj rizik veći kod onih koji nastavljaju pušiti. Virusne ili bakterijske upale uzrok su akutnog pogoršanja KOPB-a, a kod dijela bolesnika mogu biti zakomplicirane upalom pluća. KOPB i opstruktivna sleep apneja predstavljaju dvije od najčešćih kroničnih bolesti dišnih organa u kliničkoj praksi, a izraz " sindrom preklapanja " obično se koristi za opisivanje dva poremećaja kada supostoje (30).

1.4 Endotelna disfunkcija

Endotelna disfunkcija je sindrom s multisistemskim posljedicama koji je obilježen neodgovarajućom endotelnom aktivacijom, odnosno gubitkom vazodilatacijske, antitrombotske i protuupalne sposobnosti, a nastaje kao posljedica sistemskog djelovanja brojnih rizičnih čimbenika, npr. lipoproteina male gustoće, liposaharida, interleukina1, faktora tumorske nekroze, povećane koncentracije homocisteina, oksidativnog stresa, slobodnih radikala nastalih pušenjem, hipertenzije. Oksidativni stres, kao čimbenik disfunkcije endotela, u stanicama nastaje kao rezultat djelovanja najmanje jednog od tri faktora: povećanog stvaranja slobodnih radikala, smanjene oksidativne zaštite te nemogućnosti popravljanja oštećenja nastalog kao posljedica prethodnih dvaju čimbenika. Slobodni radikali uzrokuju sljedeće patološke promjene: smanjenje endotelne ovisne dilatacije, arterijsku hipertenziju, induciraju apoptozu, stanično oštećenje, upalu. Između upale i oksidativnog stresa postoji međusobna povezanost, što znači da upala kroz stimulaciju neutrofila izaziva oslobađanje reaktivnih medijatora, a oksidativni stres aktivacijom monocita izaziva produkciju citokina i stanje kronične upale (32).

Endotelnu disfunkciju istovremeno karakterizira povećani izražaj adhezijskih molekula, kemokina i drugih citokina koji imaju važnu ulogu u ranoj fazi razvoja aterosklerotskog procesa. Disfunkcionalni endotel ima ključnu ulogu u inicijalnoj fazi razvoja aterosklerotskog procesa te time postaje aktivno uključen u progresiju većine kardiovaskularnih bolesti (33). Danas je poznat doprinos endotelne disfunkcije patogenezi ateroskleroze, ima ulogu u inicijalnom razvoju, a potom i progresiji razvoja aterosklerotskog plaka. Uz navedeno, smanjeni broj prekursora endotelnih stanica koji sudjeluju u regeneraciji endotela ima ključnu ulogu u razvoju endotelne disfunkcije (32). U formiranje aterosklerotskog plaka uključen je pozamašan broj stanica: trombociti, endotelne stanice, aktivirani monociti, makrofazi i glatke mišićne stanice (33,34).

Makrofazi i T-limfociti ključni su u rastu i promjenama aterosklerotskog plaka, posredovano sekrecijom čimbenika rasta koji potiču proliferaciju glatkih mišićnih stanica i sekreciju ekstracelularnog matriksa, citokina, poput interferona gama ili interleukina-1, ali potiču i enzime koji razgrađuju ekstracelularni matriks, poput metaloproteinaza, što slabi fibrozni dio plaka (35-37). Endotel predstavlja kompleksan sustav koji sudjeluje u homeostazi u vaskularnom sustavu. U fiziološkim uvjetima endotel proizvodi mnoge medijatore koji omogućuju da održava vazodilatatno, antitrombotsko i protuupalno stanje. Takvo stanje održava proizvodnjom brojnih čimbenika koji djeluju kao vazodilatatori (prostaciklini, C-tip natriuretskog peptida, inhibitori aktivatori plazminogena-1) i vazokonstriktori (endotelin, angiotenzin II, tromboksan A2, čimbenici trombolize). Kontrola fibrinolize od strane endotela održana je proizvodnjom tkivnog aktivatora plazminogena i aktivatora palzminogena I, a endotel je izvor koagulacijskog čimbenika kao što je von Wilenbrandov faktor i trombomodulin. Endotelne stanice potječu iz koštane srži, imaju ulogu u tijeku endotelnog oporavka i mogu imati ulogu kao biološki marker za funkciju krvnih žila i procjenu kardiovaskularnog rizika (38). Disfunkcija endotelnih stanica predstavlja promjene koje mogu dovesti do oštećenja zida krvnih žila u smislu povećane permeabilnosti, edema i nekroze (39). Endotelna disfunkcija povezana je sa smanjenom biodostupnosti dušikova oksida (NO) zbog smanjene proizvodnje od strane endotela i/ili povećane inaktivacije NO-sintetaze od strane reaktivnih kisikovih radikala. Osim hemodinamskog djelovanja, toksičnog djelovanja brojnih lijekova, na tu promjenu može djelovati i niz upalnih stanja koja dovode do ekspresije niza adhezijskih molekula, prvenstveno međustaničnih adhezijskih molekula (ICAM-1) i vaskularnih staničnih adhezijskih molekula (VCAM-1), citokina i čimbenika rasta koji utječu na aktivaciju i migraciju polimorfonuklearnih stanica (38). Upravo navedene adhezijske molekule i čimbenici rasta predstavljaju biljege endotelne disfunkcije među kojima je von Wilenbrandov faktor. Metode koje su do sada korištene u procjeni endotelne disfunkcije, obuhvaćaju invazivna mjerenja koronarnog promjera i protoka, neinvazivne ultratrazvučne postupke, protonsku emisionu tomografiju, kontrasnu ehokardiografiju i magnetsku rezonanciju s faznim kontrastom te visokorezolucijski ultrazvučni test protokom posredovane dilatacije perifernih arterija (FMD) koji se smatra "zlatnim standardom" u dijagnostici endotelne disfunkcije (40). FMD ispituje razlike između bazalnog promjera perifernih arterija i promjera za vrijeme izazvane vazodilatacije. Ta neinvazivna metoda koristi fizikalne metode izazivanja reaktivne hiperemije kao poticaj za lučenje endogenih

vazodilatatora. Pritom uspoređuje dobivene rezultate s kontrolnim učincima egzogenih vazodilatatora aplicianih obično u formi nitroglicerina. Protokom posredovana dilatacija ovisna je o lučenju endotelnog NO, dok je dilatacija na nitroglicerin neovisna o protoku i funkciji endotela, već izravnim učinkom na mišić služi za određivanje maksimalnog vazodilatcijskog kapaciteta ispitivane arterije. Ultrazvučni pregled izvodi se visokorezolucijskim (7-15 MHz) linearnim ultrazvučnim prikazom kombiniranim s pulsnim doplerskim signalom. Izvodi se uglavnom na brahijalnim ili radijalnim arterijama, prati se sposobnost indukcije oslobađanja NO-a te predstavlja reprezentativnu procjenu ukupne funkcionalne jedinstvene endotelne funkcije koja korelira s endotelnim statusom (40). Glavni je nedostatak navedene metode nemogućnost upotrebe u rutinskoj praksi zbog visokih vremenskih zahtjeva u provođenju protokola.

Dosadašnja istraživanja potvrdila su da među neinvazivne metode procjene endotelne disfunkcije pripada dokazivanje von Willenbrandova faktora, PAI-1, t-PA, VCAM-1, ICAM-1, endotelna leukocitna adhezijska molekula 1-E selectin i endotelin-1 koji ujedno predstavljaju i moguće markere učinkovitosti terapije hipolipemicima (41).

1.4.1 Endotelna disfunkcija u kliničkoj praksi

Neinvazivno određivanje endotelne funkcije putem ultrazvuka novija je neinvazivna metoda koja je omogućila određivanje, praćenje i ponavljanje bez ograničenja i rizika za bolesnika u okviru primarne i sekundarne prevencije kardiovaskularnih bolesti. Disfunkcija endotela ključni je događaj u ranoj fazi aterogenog procesa, a koja upućuje na prve funkcionalne poremećaje krvožilnog sustava na razini endotela (39). Određivanjem endotelne disfunkcije mogu se izdvojiti osobe s povećanim rizikom od kardiovaskularnih incidenata u pretkliničkoj fazi. Dokazan je poremećaj endotelne funkcije u prisutnosti čimbenika rizika od kardiovaskularnih bolesti, kao što su hiperkolesterolemija, hipertenzija, pušenje te ostali rizični čimbenici. Određivanje endotelne funkcije može dati korisnu prognostičku informaciju i kod bolesnika koji već imaju promjene na krvnim žilama, dakle poodmaklu fazu ateroskleroze. Primjerice provedena su istraživanja kod kojih su ispitanici bili podvrgnuti invazivnim procedurama mjerenja endotelne funkcije te su tijekom daljnjeg praćenja rezultati pokazali da oni sa sniženom razinom endotelne disfunkcije imaju rizik od oko 25% za neželjeni događaj (39).

1.4.2 Endotelna disfunkcija i KOPB

Temeljni mehanizimi nastanka endotelne disfunkcije u oboljelih od KOPB-a predmet su mnogih istraživanja, kao i sam mehanizam njihove detekcije. Prema dosadašnjim spoznajama vodeći su mehanizmi koji dovode do razvoja endotelne disfunkcije kod oboljelih od KOPB-a sistemska upala, hipoksija, oksidacijski stres te aktivacija simpatikusa (38).

Hipoksemija uzrokuje promjene na razini arteriola, što posljedično dovodi o povišenja tlaka na razini plućne cirkulacije (42). Kao posljedica povišenja tlaka dolazi do ultrastrukturnih promjena na razini endotela (43,44). Kronični upalni proces, uključujući aktivaciju citokina ima utjecaj na funkcionalne promjene na razini plućne mikrocirkulacije (45). Kasahara i sur. su u svom radu pojačanu apoptozu endotelnih stanica obajsnili smanjenom endotelnom ekspresijom vaskularnog endotelnog čimbenika rasta i njegova receptora (46). O potvrdi postojanja endotelne disfunkcije kod oboljelih od KOPB govori i istraživanje koje je koje kao metodu dokazivanja endotelne lezije koristilo scintigrafiju obilježenu 123I-metajodbenzilguanidin (^{123}I-MIBG) (47).

Ukupna razina upalnog procesa kod oboljelih od KOPB-a značajno je povećana u odnosu na zdravu populaciju te se svakim akutnim pogoršanjem KOPB-a povećava i razina biljega upale (CRP-a, interleukina-6, fibrinogena) koji istovremeno predstavljaju medijatore ateroskleroze. Povećana razina CRP-a dovodi do smanjena aktivnosti NO-sintetaze, s posljedičnim smanjenjem razine dušikova oksida (NO) što rezultira smanjenom endotelin ovisnom vazodilatacijom koja predstavlja rani detektabilni marker vaskularnih promjena prije razvoja aterosklerotskog plaka (48,49). Endotelna disfunkcija nastaje kao rezultat funkcionalnih i morfoloških promjena endotelnih stanica, što uključuje gubitak antitrombocitne i antikoagulacijske sposobnosti, regulacije vaskularnog tonusa te na posljetku i apoptoze samih stanica (50). Ukupna endotelna disfunkcija, uz sistemsku upalu, smatra se odgovornom za povećani kardiovaskularni mortalitet i morbiditet kod oboljelih od KOPB-a (51). Istraživanja o patogenezi KOPB-a doprinose shvaćanju da u progresiji iste, osim promjena na razini alveola značajnu ulogu imaju i promjene na razini plućne mikrocirkulacije (43).

1.5 von Willenbrandov faktor

Von Willenbrandov faktor (vWf) je multimerni glikoprotein koji se sintetizira pretežito u endotelnim stanicama, ali i u trombocitima, te u megakariocitima. Pohranjuje se u specifičnim Weibel-Paladeovim tjelešcima te u slučaju podražaja (podražaj trombina, histamina, mehanički stres, upalni medijatori), endotelne disfunkcije oslobađa stanice iz receptakuluma. Sinteza vWf složen je proces i odvija se u nekoliko koraka. Multimeri različite molekularne težine razlikuju se po afinitetu vezanja za subendotelni matriks (52).

vWf ima četiri glavne funkcije. Faktor VIII cirkulira u plazmi nekovalentno vezan s vWf-om i pomoću navedne interakcije se stabilizira. vWf čini molekularni most između trombocita i subendotela ozlijeđene stijenke krvnih žila. vWf ima ulogu u agregaciji trombocita i pritom se veže za specifične receptore na trombocitnoj membrani GP Ib i GP IIb/IIIa . U nedostatku ozljede vWf ne ulazi u interakciju s trombocitima. Posebnost je adhezije vWf-a za trombocite njegova ovisnost o tlaku. Pri visokim brzinama koje se javljaju u malih arterija od 10 μm do 50 μm , te u prisutnosti aterosklerotskih plakova u arterijama, adhezija trombocita jako je ovisna o vWf-u (52-55).

Prema dosadašnjim istraživanjima smatra se da razina vWF-a reflektira opći endotelni funkcionalni poremećaj te stupanj aktivnosti aterosklerotskog procesa (40). Takva saznanja proizlaze iz činjenice da vWf ima važnu ulogu u agregaciji trombocita i njihovoj adheziji za subendotelne stanice te je promotor ateroskeloroze. Procjena aktivnosti von Willenbrandova faktora učinjena je u nizu kliničkih stanja i potvrdila je da navedeni faktor predstavlja najznačajniji biljeg endotelne disfunkcije čija je glavna prednost dostupnost u detekciji. Procjena aktivnosti vWf-a kod vaskularnih bolesti, uključujući pritom kardiovaskularne i cerebrovaskularne bolesti, pokazala je značajno povišenu aktivnost vWf-a u odnosu na zdravu populaciju (41). Proučavanjem značenja praćenja razine vWf-a u endotelnoj disfunkciji došlo se do spoznaja da upravo njegova razina korelira s razinom oksidativnog stresa koja ima ulogu u razvoju aterosklerotskog procesa.

1.6 Izdisajni dušikov oksid

Dušikov oksid (NO) je ključni relaksirajući čimbenik endotelnog podrijetla s nezamjenjivom ulogom u održavanju bazalnog tonusa i akutne reaktivnosti motorike (53). NO se sintetizira u endotelu od supstrata L-arginina u reakciji kataliziranoj endotelnom sintazom dušikova oksida (NOS) uz kofaktor tetrahidrobiopterin. Tri su takva izoforma identificirana i nazvana tip I ili neuronska stanica NOS (nNOS), tip II ili inducibilni NOS (iNOS) i tip III ili endotelne stanice NOS (eNOS). Sva tri oblika NOS-a kataliziraju istu reakciju, a regulacija aktivnosti tih izoenzima javlja se kroz različite procese. nNOS i eNOS obično su aktivni i proizvode niske količine NO-a, a praćenog s različitim promjenama intracelularnog kalcija. Nasuprot tomu iNOS veže kalcij tako snažno da njegova funkcija ne utječe na protok kalcija. iNOS pokazuje ekspresiju u većini stanica respiratornog epitela te ima sposobnost da se generiraju velike količine NO-a kod transkripcijski upalnih citokina, kao što je TNF-α, interleukin 1-beta (IL-1β), interferon–y (INF-γ), interleukin-4 (IL-4), interleukin-13 (IL-13) (57).

Dušikov oksid (NO) je plinovita molekula za koju se u početku smatralo da ima ulogu samo u kontekstu svoje formacije od izgaranja fosilnih goriva i njegova doprinosa u zagađenju zraka. Međutim navedeni je stav uvelike promijenjen od 1987. otkrićem slobodnih radikala NO. Sada je jasno da NO ima važnu ulogu u većini organskih sustava čovjeka. Osim vazodilatacijskog učinka, NO ima i druge biološke učinke usmjerene na održavanje ukupnog antiagregacijskog, antiadhezivnog i antiaterogenog stanja žilne stijenke. Iako potječe iz različitih vrsta stanica, njegovo je podrijetlo najvećim dijelom od stanica respiratornog sustava. Prvi put izdahnuti NO otkriven je kod životinja i ljudi 1991. godine u rasponu od 3 do 20 ppb, pomoću kemiluminiscencijske analize (57).

Dosadašnja istraživanja pokazala su da neravnoteža stvaranja NO-a, prvensteveno njegov nedostatak, predstavlja jedan od vodećih mehanizama razvoja endotelne disfunkcije (40). Funkcionalna je procjena NO-sustava u biološkim uvjetima ograničena jer vrijeme poluraspada NO-a u tijelu čovjeka iznosi nekoliko sekundi s obzirom na veliku brzinu razgrađivanja u nitrate i nitrite koji nemaju značajnih bioloških aktivnosti (57). U većini upalnih plućnih bolesti razina izdisajnog dušikova oksida predstavlja biljeg eozinofilne upale te ima ulogu u procjeni odgovora na inhalacijsku kortikosteroidnu terapiju. Prema preporukama Američkog torakalnog društva (ATS) i Europskog udruženja za plućne bolesti (ERS) mjerenje izdahnutog NO-a predstavlja

standardizirani postupak te je sastavni dio liječenja i praćenja oboljelih od različitih respiratornih bolesti. Dosadašnja istraživanja pokazala su da mjerenje vrijednosti izdahnutog NO-a ima svoju ulogu u praćenju bolesnika oboljelih od KOPB-a (58).

2. HIPOTEZA

Ovo istraživanje polazi od hipoteze da endotelna disfunkcija kod oboljelih od KOPB-a postoji neovisno o postojanju pridruženog kardiovaskularnog komorbiditeta. Postoji međuovisnost dva biljega endotelne disfunkcije, tj. aktivnost vWf-a raste porastom stupnja težine KOPB-a, dok se istovremeno razina izdisajnog NO smanjuje.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

- utvrditi odnos razine vWf-a s razinom izdisajnog NO kod bolesnika sa stabilnom kroničnom opstruktivnom plućnom bolesti
- utvrditi odnos razine vWf i izdisajnog NO sa stupnjem težine kronične opstruktivne plućne bolesti
- s obzirom na podatak o pušenju (aktualni ili bivši pušači), kod bolesnika sa stabilnom kroničnom opstruktivnom plućnom bolesti procijeniti postojanje razlike u vrijednosti vWf-a i izdisajnog NO u odnosu na dvije kontrolne skupine, zdravih ispitanike, pušača i nepušača

4. ISPITANICI I METODE

4.1 Uzorak ispitanika

U istraživanje je uključeno ukupno 100 ispitanika. Od ukupno 100 isptanika 60 su ispitanika oboljeli od kronične opstruktivne plućne bolesti koji se kontroliraju na Odjelu za plućne bolesti Klinike za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Osijek, a 40 je kontrolnih ispitanika koji su podjeljeni u dvije skupine. Jednu kontrolnu skupinu čine 20 zdravih pušača, a drugu kontronu skupinu 20 zdravih nepušača. U studiju su uključeni bolesnici i kontrolna skupina ispitanika starija od 18 godina. Kontrolnu skupinu ispitanika činili su pacijenti koji su obrađivani na Odjelu za plućne bolesti, pritom učinjenom obradom, spirometrijom i FeNO testom (mjerenje frakcioniranog izdahnutog NO) koji su bili uredni, nije utvrđena respiratorna bolest. Iz studije će biti isključeni bolesnici s akutnim pogoršanjem kronične opstruktivne plućne bolesti koji boluju od astme, oni s prethodno dijagnosticiranom malignom bolesti, nekontroliranom sistemskom infekcijom, oboljeli koji u redovnoj terapiji uzimaju inhibitore angiotenzin konvertaze, blokatore angiotenziskih receptora, statine, oralne kortikosteroide, hipoglikemike per os, oni s kroničnim bubrežnim zatajenjem, s radiološkim znakovima plućne hipertenzije, te oni kod kojih se zbog psihičkoga stanja ne očekuje suradnja pacijenta. Oboljeli su uzimali odgovarajuću bronhodilatacijsku terapiju (dugodjelujući β-agonist s ili bez inhalacijskih kortikosteroida, antikolinergik, kratko djelujući β-agonist).

Svi ispitanici potpisali su suglasnost za sudjelovanje u istraživanju nakon što su usmenim i putem pisanog materijala bili upoznati sa svim postupcima tijekom istraživanja.

4.2 Plan istraživanja

Nakon odabira ispitanika kliničkom procjenom i pristanka za sudjelovanje u istraživanju pristupilo se daljnjem tijeku istraživanja. Svaki je ispitanik, koji je pripadao skupini oboljelih od KOPB-a ispunio odgovarajuće upitnike COPD Assesment Test (CAT) te modificiranu skalu dispneje (mMRC) radi procjene subjektivnih tegoba (59,60). Ispitanik je potom pristupio izvođenju testova radi procjene plućne funkcije: FeNO- test, spirometrije, a potom mjerenju difuzijskog kapaciteta (DLCO). Prethodno mu je izmjerena visina i težina te mu je određen BMI

(indeks tjelesne mase, engl. *body mass index*). Ispitanici, oboljeli od KOPB-a su podijeljeni u četri skupine prema težini KOPB-a (A,B,C,D), prema smjernicama GOLD-a (Tablica 4.1), s obzirom na spirometrijski nalaz, rizik od egzacerbacija te prisutnost simptoma koji se procjenjuju na temelju odgovarajućeg upitnika - CAT-test (Tablica4.2) te mMRC (Tablica 4.3) (1).

Ispitanici koji su pripadali kontrolnoj skupini nakon izvođenja FeNO testa, spirometrije, DLCO na temelju anamnestičkih podataka o pušačkom statusu podijeljeni su u dvije kontrolne skupine, pušače i nepušače.

Nakon izvođenja neinvazivnih metoda svakom ispitaniku uzet je uzorak venske krvi za analizu razine vWf-a te razine CRP-a, fibrinogena, kolesterola, triglicerida, potom uzorak arterijske krvi radi analize acidobaznog statusa. Zatim su uzorci venske krvi upućeni u laboratorij radi analize, a uzorak arterijske krvi analiziran je na aparatu za plinsku analizu na Odjelu za plućne bolesti.

Nakon dobivenih rezultata učinjene dijagnostičke obrade za sve ispitanike, učinjena analiza međupovezanosti svih ispitivanih parametara u svakoj pojedinoj skupinika ispitanika (bolesnici, i u dvije kontrolne skupine pušača i nepušača). Potom je učinjena procjena odnosa biljega endotelne disfunkcije unutar skupine oboljelih obzirom na stupanj težine bolesti. Na posljetku je uspoređena skupina oboljelih sa svakom pojedinom kontrolnom skupinom.

Tablica 4.1 Podjela oboljelih ovisno o prisustvu simptoma, spirometrijskom nalazu i riziku od egzacerbacije

OBOLJELI	KARAKTERISTIKE	SPIROMETRIJSKI NALAZ	BROJ EGZACERBACIJA GODIŠNJE	mMRC	CAT
A	Nizak rizik Malo simptoma	GOLD 1-2	≤1	0-1	<10
B	Nizak rizik Puno simptoma	GOLD 1-2	≤1	≥2	≥10
C	Visok rizik Malo simptoma	GOLD 3-4	≥2	0-1	<10
D	Visok rizik Puno simptoma	GOLD 3-4	≥2	≥2	≥10

GOLD I (blagi stupanj) FEV1/FVC <70%; FEV1 ≥80%

GOLD II (umjereni stupanj)FEV1/FVC <70%; 50% ≤ FEV1 <80%

GOLD III (teški stupanj) FEV1/FVC <70%; 30% ≤ FEV1 <50%

GOLD IV(vrlo teški stupanj) FEV1/FVC <70%; FEV1 < 30% ili FEV1 <50%

Nizak rizik: GOLD 1-2

Visoki rizik: GOLD 3-4

BROJ EGZACERBACIJA GODIŠNJE:

Nizak rizik: ≤ 1 GODIŠNJE

Visoki rizik: ≥ 2 GODIŠNJE

SIMPTOMI

Malo simptoma: mMRC 0-1 ili CAT < 10

Puno simptoma: mMRC ≥ ili CAT ≥ 10

4.3 Metode istraživanja

4.3.1 Testovi procjene plućne funkcije

- **Spirometrija**

Spirometrija je standardna neivanzivna metoda mjerenja plućne funkcije. Mjere se plućni volumeni i kapaciteti te protok zraka, dobiveni se rezultati uspoređuju s referentnim vrijednostima koje ovise o spolu, dobi, visini i težini tijela. Izračunavaju se sljedeći parametri: FVC-forsirani vitalni kapacitet, FEV1-forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi, PEF-najveći ekspiratorni protok, MEF_{25}-forsirani ekspiratorni protok pri 25% FVC-a, MEF_{50}-forsirani ekspiratorni protok pri 50% FVC-a, MEF_{75}-forsirani ekspiratorni protok pri 75% FVC-a, FEV1/FVC-Tiffeneauov indeks. Nakon osnovnih mjerenja učine se i mjerenja nakon premedikacije salbutamolom što odgovara bronhodilatacijskom testu. U ovom istraživanju prema smjernicama GOLD-a, radi procjene razine bronhoopstrukcije korišten je FEV1 nakon primjene bronhodilatatora. Mjeri se na spirometru proizvođaća Viasys Healthcare (pokriva zahtjeve ISO9001 i ISO13485) u skladu s preporukama Europskog respiratornog društva

(59). Testiranje će se izvoditi na Kliničkom Odjelu za pulmologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC-a Osijek.

- **FeNO-test**

FeNO-test je standardizirana neivazivna metoda mjerenja frakcioniranog izdahnutog NO-a. Stanadarne su postavke za bronhalne FeNO-testove 50 ml/s protoka izdaha, a vrijeme izdaha traje 10 sek. Uzorci se skupljaju u zadnje 4 sekunde te uzorak volumena 200 ml.*Washout* traje 6 sekundi te je *Washout* volumena 300 ml. Potpuni udah odvija se pod tlakom između 4 i 10 cm H2O, a potupuni izdisaj pod tlakom između 5 i 20 cm H_2O. Rezultati su izraženi kao NO-koncentracije u ppb (engl. *parts per billion*). Alveolarne koncentracije NO-a mogu se procijeniti na temelju mjerenja NO-a iz 1- 2 izdisaja. Normalni je raspon u zdravih odraslih osoba za FeNO manji od 25 ppb (62). Jedan sat prije izvođenja testa postoji zabrana uzimanja hrane i pića, pušenja te težeg fizičkog rada. Testiranje će se izvoditi na Kliničkom Odjelu za pulmologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC-a Osijek na aparatu Hypair FeNO (Mediasoft; serija 02061, model B11021001).

- **Difuzijski kapacitet pluća (DLCO)**

DLCO je standardna neivanzivna metoda mjerenja. Difuzijski kapacitet pluća (DLCO) definira se kao količina plina ugljikovog monoksida (CO) koja prolazi kroz alveokapilarnu membranu tijekom 1 minute pri razlici tlakova od 1 kPa (61). DLCO ovisi o difuzijskom kapacitetu alveolarne membrane, krvnom volumenu u alveolarnim kapilarama i brzini vezanja CO-a s oksihemoglobinom. Program *diffusion Single Breath* omogućuje određivanje CO-transfera prema metodi jednog udaha „single breath„. Testiranje će se izvoditi na Odjelu za plućne bolesti Klinike za unutarnje bolesti KBC-a Osijek. Mjeri se na spirometru proizvođača Viasys Healthcare (pokriva zahtjeve ISO9001 i ISO13485) u skladu s preporukama Europskog respiratornog društva.

- **COPD Assesment Test – CAT**

To je test za procjenu utjecaja kronične opstruktivne bolesti na tjelesno i metalno zdravlje oboljelog i svakodnevno funkcioniranje (Tablica 4.2). Ispitanik svaku tvrdnju označuje s 0–5.

Tablica 4.2 CAT-test

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 puna sekreta.
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 obavljnaju kućanskih aktivnosti.	0 1 2 3 4 5	Vrlo sam ograničen 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.

Opis ocjena: 0= nema simptoma, 1= lakog stupnja, 2= umjerenog stupnja, 3= srednje teškog stupnja, 4= teškog stupnja, 5= najtežeg stupnja

Max. broj bodova: 40

Sve vrijednosti iznad 20 bodova ukazuju na značajno utjecanje simptoma kronične opstruktivne plućne bolesti na tjelesno i mentalno funkcioniranje oboljelog.

- **Modified Medical Research Council Dyspnea Scale (mMRC)**

Standardizirani test za procjenu težine dispneje (2) prikazan u Tablici 4.3.

Tablica 4.3 mMRC-test

stupanj	Opis dispneje
0 □	Ima problema s nedostatkom daha kod napornog vježbanja.
1 □	Ima nedostatak zraka kada hoda brzo na ravnom tlu ili pri blagoj uzbrdici.
2 □	Na ravnom hoda sporije od osoba iste dobi zbog nedostatka zraka ili se zaustavi i uhvati dah kad hoda određenom brzinom po ravnom.
3 □	Ostaje bez daha i zaustavlja se nakon šetnje od 100 metara ili nakon nekoliko minuta hodanja na ravnoj površini.
4 □	Ostaje bez daha u tolikoj mjeri da ne izlazi iz kuće ili ostaje bez daha kod odijevanja ili razodijevanja.

Ispitanik označuje koja tvrdnju koja odgovara njegovim simptomima.

4.3.2 Laboratorijska mjerenja

- **Laboratorijsko određivanje aktivnosti von Willenbrandova faktora**

Von Willebrand nom ristocetinom Cofactor [VWF: RCO] testom mjeri se sposobnost aglutinacije trombocita u plazimi u prisutnosti ristocetina. Stopa ristocetinom izazvane aglutinacije odnosi se na koncentraciju i funkcionalne aktivnosti plazma von Willebrandova faktora. Ristocetinska activnost vWf-a određena je reagensom BC von Willebrand Reagent, proizvođača Siemens na instrumentu BCS XP.

Ristocetinom se veže za vWf na Glu1239-Pro-Gly Gly1242. Uzorak plazme za određivanje vWf:RCoF dobiven je centrifugiranjem krvi na 1500g 15 min na sobnoj temperaturi uzetoj na natrijev citrat (3,2%) u omjeru 1+9 u vakuumske epruvete proizvođača BD.Uzorak je analiziran u Biokemijskom laboratoriju KBC-a Osijek na analizatoru Siemens BCS XP.

- **Laboratorijsko određivanje ostalih parametara iz venske krvi**

Iz krvi će se određivati C-reaktivni protein (CRP) (mg/L), kolesterol (mmol/L) i trigliceridi (mmol/L), fibrinogen (µmol/l). Fibrinogen je određen modificiranom metodom po Claussu, reagensom Multifibren U od proizvođača Siemens na instrumentu BCS XP. Za određivanje CRP-a i triglicerida uzorci su krvi uzimani u vakuumske epruvete bez antikoagulansa proizvođača BD. CRP je određen u serumu imunoturbidimetrijskom metodom reagensom proizvođača Olympus Diagnostica GMBH na biokemijskom analizatoru Olympus AU640. Trigliceridi su određeni u serumu spektrofotometrijski pomoću lipaze i indikatorskih enzima (GK, GPO, POD) reagensom proizvođača Olympus Diagnostica GMBH na biokemijskom analizatoru Olympus AU640. Svi su uzorci analizirani u Biokemijskom laboratoriju, KBC-a Osijek.

- **Plinska analiza arterijske krvi**

Plinska analiza arterijske krvi sastoji se od uzimanja uzorka iz a.radialis te analize u analizatoru Gem premier 3000, Vetusi. Analizom se dobiju sljedeći podatci: parcijalni tlak kisika (kPa), parcijalni tlak CO_2 (kPa), pH arterijske krvi, razina bikarbonata HCO_3^- (mmol/L), saturacija kisika s O_2(%).

4.4 Statistička obrada podataka

Prikupljeni podatci obrađeni su statističkim programom SPSS for Windows za osobna računala, verzija 19. Prije obrade podataka Shapiro-Wilkovim testom provjeren je normalitet distribucije numeričkih varijabli. Pri tome su mjere simetričnosti pokazale da distribucije pojedinih varijabli (vWf, izdisajni NO, DLCO) značajno odstupaju od normalne. Kako bi se poboljšala linearnost i smanjila asimetričnost distribucije, provedene su odgovarajuće statističke transformacije, npr. logaritamska transformacija (log 10) ili drugi korijen *(engl. square roo*t) (64). S obzirom na provedenu transformaciju rezultata, moguće je koristiti parametrijske statističke postupke, npr. t-test za nezavisne uzorke ili jednosmjernu analizu varijance (ANOVA). Statistički postupci provedeni su na transformiranim podatcima, dok su u tablicama prikazane aritmetičke sredine i

standardne devijacije netransformiranih rezultata (65). Brojčani podatci opisani su osnovnim mjerama sredine i raspršenja, dok su kategoričke varijable opisane apsolutnim i relativnim frekvencijama.

Za usporedbu dviju nezavisnih skupina korišten je t-test, a za usporedbu triju ili više nezavisnih skupina analiza varijance (ANOVA) i kovarijance (ANCOVA). Analiza kovarijance razlikuje se od poznatije i češće korištene analize varijance (ANOVA) po tome što omogućuje kontroliranje učinaka pojedinih varijabli. S obzirom da određene demografske karakteristike (npr. dob, spol) mogu utjecati na vrijednost izmjerenih markera, smatralo se da je važno kontrolirati i njihov utjecaj. Kako bi se ispitalo između kojih to grupa točno postoji razlika, kao *post-hoc*-test odabran je Games-Howellov test koji se preporuča kada su poduzorci različite veličine te kada varijanca nije homogena. U nekim situacijama (npr. veći broj sudionika) analize mogu rezultirati i statistički značajnim razlikama koje ne odgovaraju praktičnim, klinički relevantnim razlikama. Uz navedeno, podatak o statističkoj značajnosti ne ukazuje na veličinu dobivenih razlika (66). Korisnija je i informativnija mjera veličina učinka koja pokazuje veličinu razlike u pojedinim ispitivanim markerima među sudionicima različitog zdravstvenog statusa. U analizama je kao mjera veličine učinka korištena parcijalna kvadrirana eta (η_p^2) (65). Prema Cohenu (67) granične vrijednosti za ovaj indikator su sljedeće: .01 = mali učinak, .06 = srednja veličina učinka te .14=veliki učinak. Veličina učinka važan je pokazatelj jer određene razlike koje su statistički značajne ne moraju nužno biti i od kliničke važnosti.

Veličina uzorka potrebnog za ovo istraživanje određena je pomoću kalkulatora potrebne veličine uzorka G*power 3 (68). Na temelju pregleda postojeće literature i provedenih istraživanja (69), odnosno na osnovi srednjih vrijednosti i standardnih devijacija, određena je najmanja potrebna veličina uzorka svih ispitivanih svojstava za održavanje snage testa na razini od 80%. Istim postupkom, na osnovi varijabilnosti svakoga pojedinoga ispitivanoga parametra, određena je veličina uzorka potrebna za utvrđivanje statistički značajne razlike na razini od ,05, uz snagu testa od 95% koja iznosi 64 ispitanika.

5. REZULTATI

5.1 Karakteristike sudionika

Podatci su prikupljeni za 100 sudionika starosti od 34 do 79 godina (*M* = 54,64; *SD* = 11,70). Sudionici su bili podijeljeni u dvije skupine: 1) oboljeli (*n*=60 sudionika), 2) kontrolna skupina (*n* = 40). Kontrolna skupina bila je podijeljena u dvije podskupine, i to na 1) pušače (*n* = 20) i 2) nepušače (*n* = 20). Starost sudionika iz skupine oboljelih kreće se od 42 do 79 godina, a prosječna dob iznosi M=60,67 godina (S=9,28). Starost osoba iz kontrolne skupine pušača kreće se od 35 do 65 godina, a prosječna dob iznosi M=44,79 godina (SD=9,00). Prosječna dob osoba iz kontrolne skupine nepušača M=45,47 (SD=7,91; starosti od 34-60 godina). Usporedbom sudionika triju skupina s obzirom na dob utvrđena je značajna razlika, F (2, 795) = 34,84, p = ,001. Games-Howellovom *post-hoc*-analizom (62) utvrđeno je da se skupina oboljelih sudionika značajno razlikuje s obzirom na dob od preostale dvije skupine. Pri tome su sudionici iz skupine oboljelih značajno stariji od kontrolne skupine pušača (p = ,001) i kontrolne skupine nepušača (p = ,001). Suprotno tomu nije utvrđena značajna razlika u dobi između pušača i nepušača iz kontrolne skupine. Također je provjereno razlikuju li se tri skupine s obzirom na broj muškaraca i žena. Hi-kvadrat-testom utvrđena je značajna razlika s obzirom na spolni sastav triju skupina, χ^2 (2, N=90) = 6,30, p= ,043. Pregledom frekvencija utvrđeno je da je među oboljelima veći postotak muškaraca nego žena, dok je u obje kontrolne skupine veći postotak žena nego muškaraca.

Nadalje, prema smjernicama GOLD-a (revizija 2013), odnosno s obzirom na spirometrijski nalaz, rizik od egzacerbacija te prisutnost simptoma koji se procjenjuju na temelju odgovarajućeg upitnika, oboljeli sudionici bili su podijeljeni u četiri skupine: A (nizak rizik, malo simptoma), B (nizak rizik, puno simptoma), C (visok rizik, malo simptoma) i D (visok rizik, puno simptoma). Pri tome je njih 20 kategorizirano u skupinu A, 26 u skupinu B te po sedam osoba u skupine C i D (1).

5.2 Analiza skupine sudionika oboljelih od KOPB-a

Kao prvi korak u testiranju hipoteza izračunane su korelacije vWf-a s izdisajnim NO, fibrinogenom, CRP, kolesterolom, trigliceridima, FEV1, FEV1/FVC i DLCO, pO_2, pCO_2, HCO_3, BMI te pack/years u skupini oboljelih. Rezultati su prikazani u Tablici 5.1

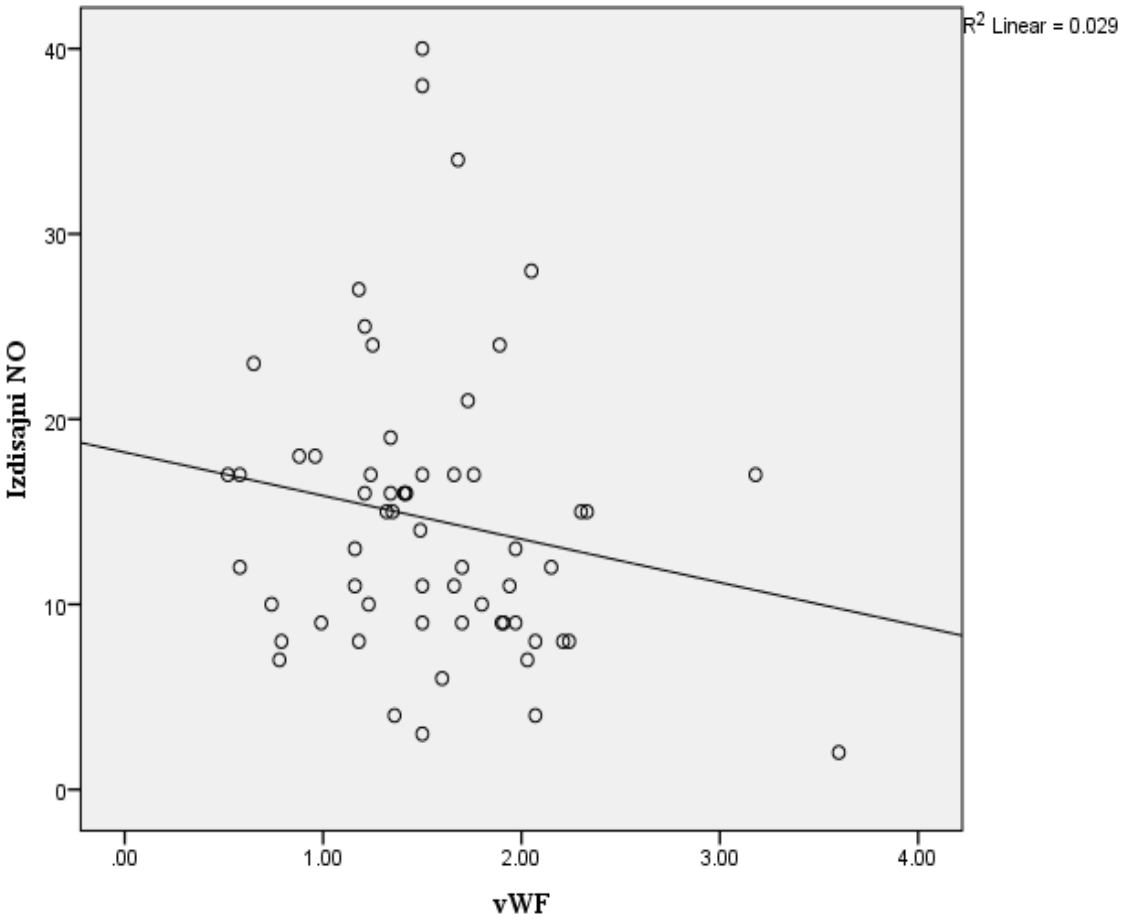
Tablica 5.1 Međupovezanost ispitivanih biljega u skupini oboljelih

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	Oboljeli (n = 60)												
1. vWf	-,17	,30*	,30*	-,05	,16	,10	,04	,33*	-,07	,09	,22	-,29*	-,29*
2. Izdisajni NO	—	-,12	-,17	-,03	-,10	,17	,18	,08	-,11	-,06	-,04	,02	,04
3. Fibronogen		—	,53†	-,03	-,04	-,09	-,07	-,13	-,14	-,08	,05	,01	-,17
4. CRP			—	-,20	,13	-,17	-,01	,04	-,11	-,01	,15	-,04	-,07
5. Kolesterol				—	,30*	,28*	,18	,19	,11	,15	,08	,32*	,02
6.Trigliceridi					—	,17	,25	,27*	-,10	,04	-,05	,26*	-,11
7. FEV1						—	,68†	,47†	-,08	-,18	-,11	-,03	-,07
8. FEV1/FVC							—	,41†	-,06	-,06	-,01	,14	-,14
9. DLCO								—	-,04	-,06	-,09	,26*	-,27*
10. pO_2									—	,03	-,06	-,17	-,14
11. pCO_2										—	,82†	-,04	-,02
12. HCO_3											—	-,10	-,11
13.BMI												—	,10
14.pack/years													—

Bilješke:*p<0.05, †p< 0.01, ‡p< 0.001,

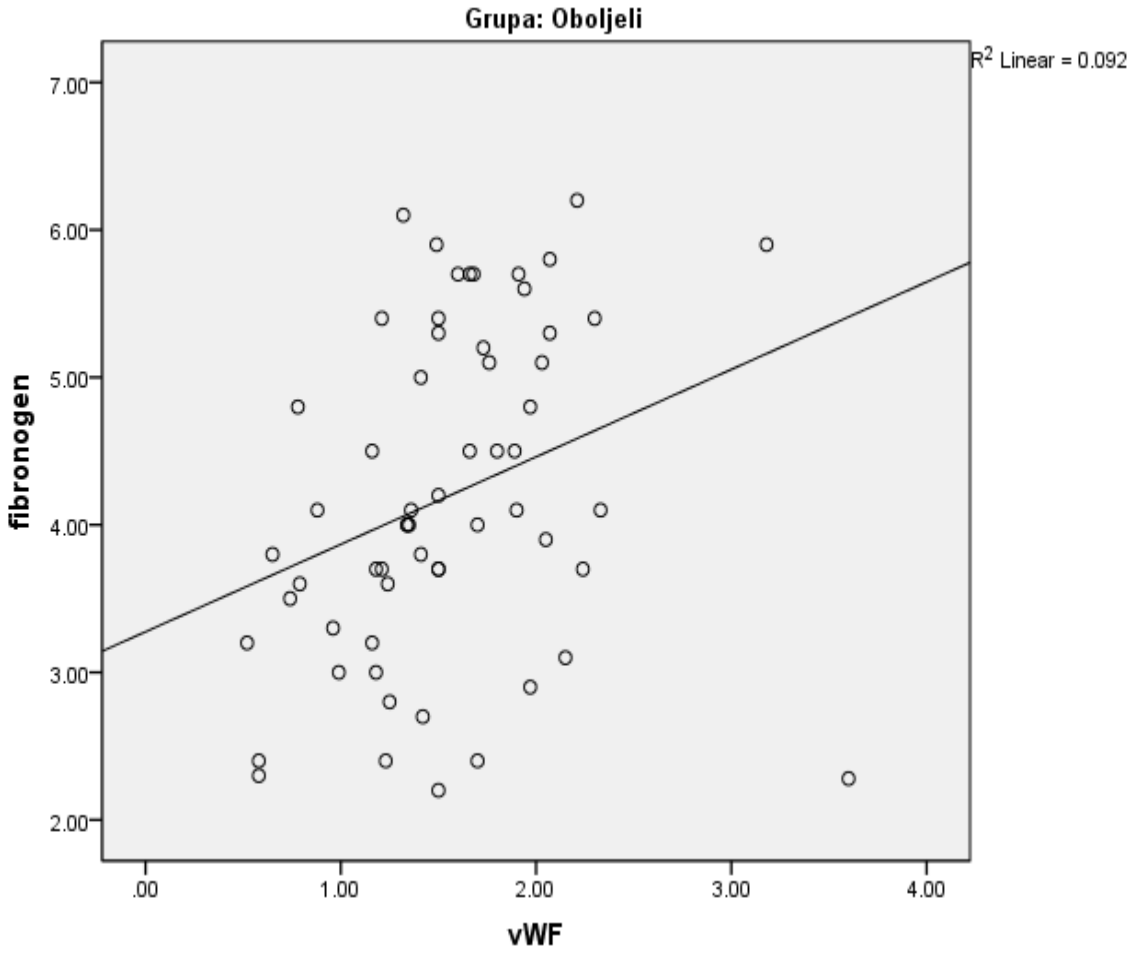
Kao što se može vidjeti iz Tablice 5.1, većina korelacija nije statistički značajna iako neke od njih po svojoj veličini spadaju među umjereno visoke korelacije. No, zbog relativno malog broja sudionika moguće je da je snaga odabranog statističkog postupka (korelacija) mala te da zbog toga nisu utvrđene značajne povezanosti. S obzirom na navedeno interpretirat će se i korelacije koje nisu statistički značajne, ali su klinički relevantne.

Kao što je navedeno u Tablici 5.1, nije utvrđeno da je vWf značajno povezan s izdisajnim NO-om, ali u skladu s pretpostavkama u skupini oboljelih (Slika 5.1) i odnos je između vWf-a i izdisajnog NO-a negativan što znači da su više vrijednosti vWf-a povezane s nižim vrijednostima izdisajnog NO-a.

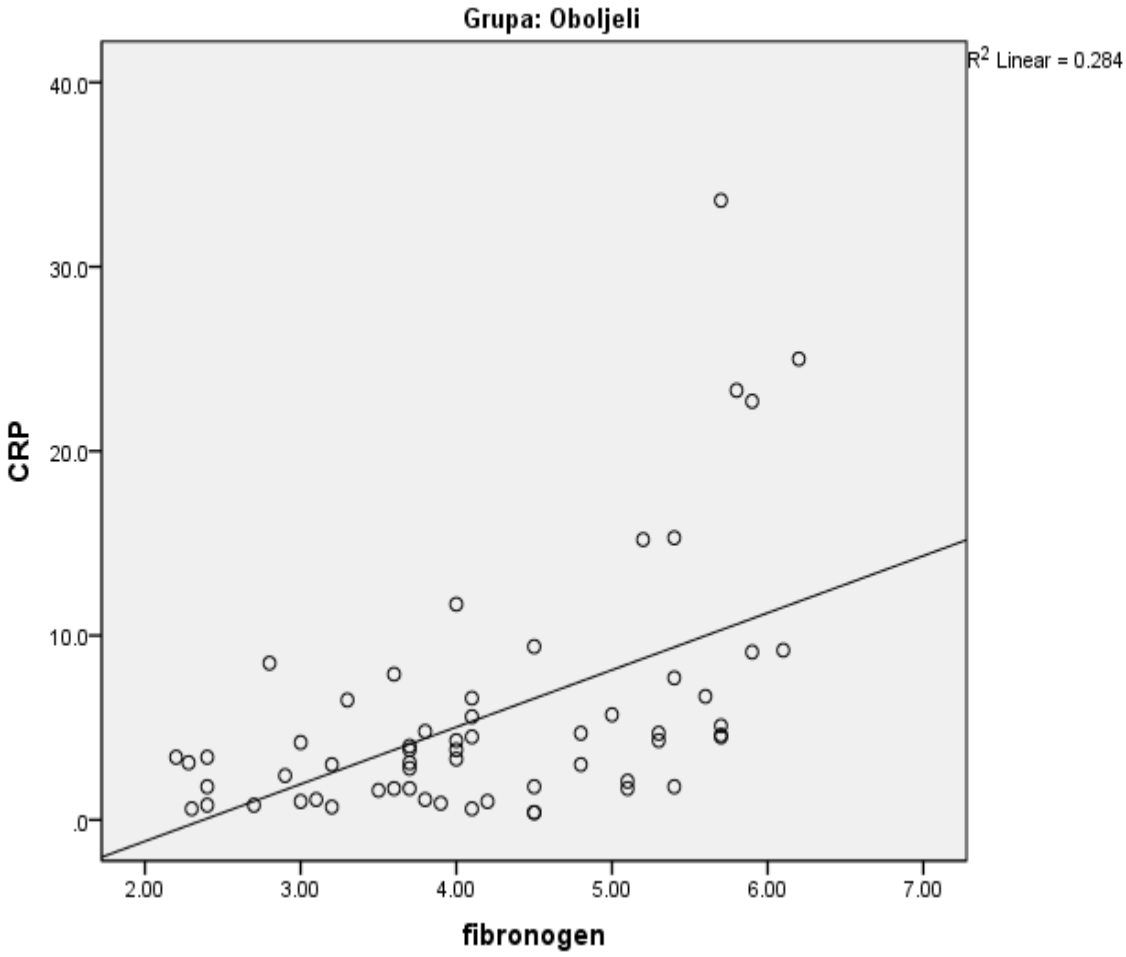


Slika 5.1 Negativna povezanost izdisajnog NO-a i vrijednosti vWf-a u skupini oboljelih

Nadalje, vWf je značajno i pozitivno povezan s fibrinogenom u skupinama oboljelih (Slika 5.2). U istoj skupini, iako nije utvrđena značajna povezanost između vrijednosti fibrinogena i izdisajnog NO-a, smjer je korelacije očekivano negativan, odnosno više vrijednosti fibrinogena povezane su s nižim vrijednosti izdisajnog NO-a. Istovremeno je utvrđena je značajna, pozitivna i umjerena povezanost fibrinogena i CRP-a što pokazuje da višu vrijednost fibrinogena prati i viša vrijednost CRP-a (Slika 5.3).



Slika 5.2 Pozitivna povezanost fibrinogena i vWf-a u skupini oboljelih



Slika 5.3 Pozitivna povezanost fibrinogena i CRP-a u skupini oboljelih

Od ostalih markera, vWf je u skupini oboljelih bio značajno, pozitivno i umjereno povezan s DLCO-m (Tablica 5.1). Dakle, oboljele osobe kod kojih je izmjerena viša razina vWf ujedno je izmjerena i viša razina DLCO. Korelacije između DLCO i vWf kreću se od niskih do umjerenih, međutim, samo je jedna statistički značajna (skupina B). Pri tome je u tri skupine odnos između DLCO i vWf pozitivan, dok je u skupini s D stupnjem negativan. Dakle, u skupinama A, B i C više vrijednosti vWf prate, u prosjeku, i više vrijednosti DLCO. U skladu sa očekivanjem u skupini D više vrijednosti vWf praćene nižim vrijednostima DLCO, jer napredovanjem KOPB-a smanjuje se difuzijski kapacitet pluća, a vrijednosti vWf očekivano rastu. Izostanak statističke

značajnosti za ostale vrijednosti korelacije je najvjerojatnije povezan malim brojem oboljelih koji pripadaju skupini C i D prema stupnju težine KOPB-a (Tablica 5.2). Navedeno je posljedica činjenice da većina oboljelih iz navedenih skupine ima priduženi kardiovaskularni komorbiditet što je bio isključujući ulazni kriterij.

Tablica 5.2. Povezanost DLCO i vWf u četiri skupine oboljelih (A, B, C i D).

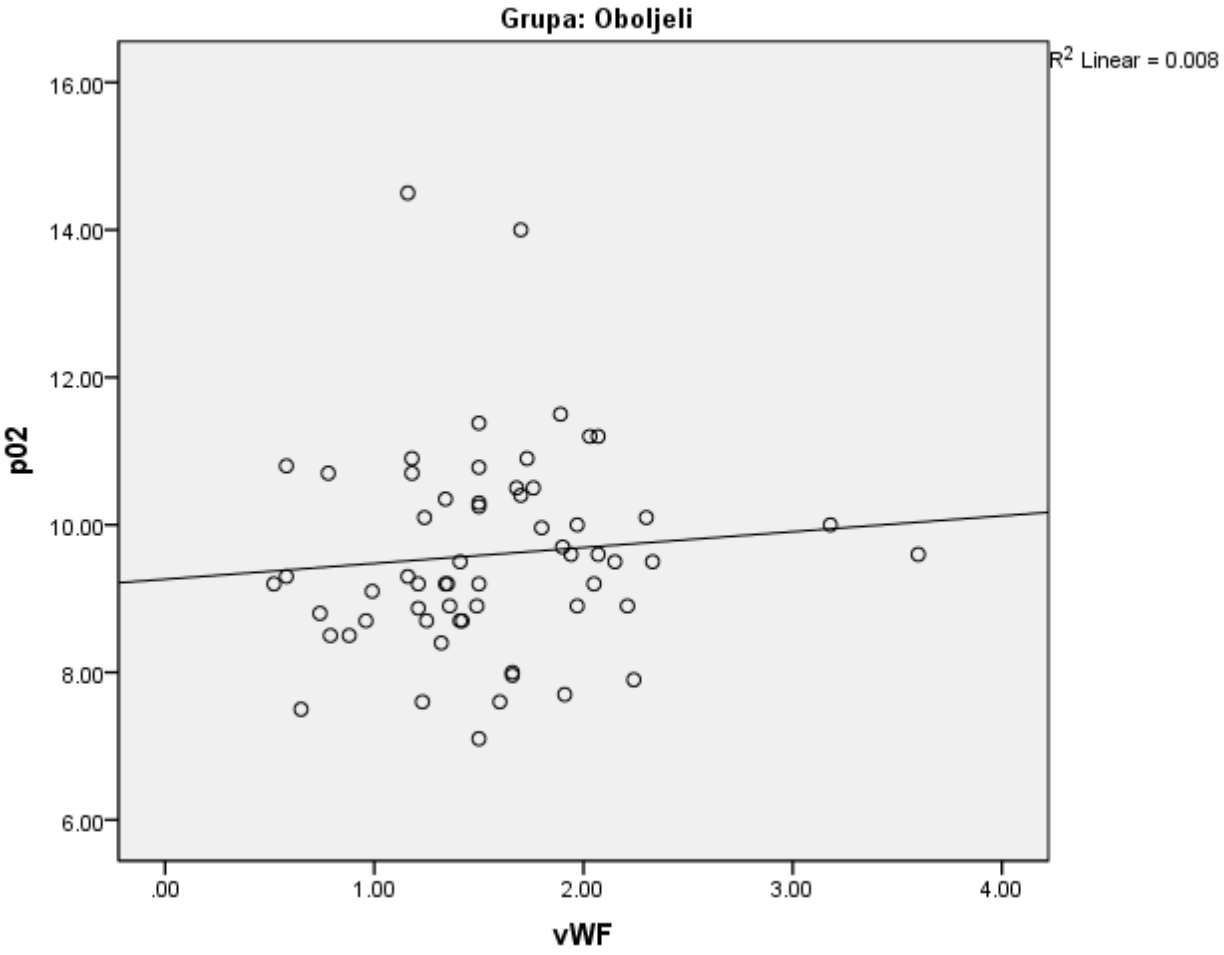
Skupina	N	$r_{vWf\text{-}DLCO}$
Oboljeli-A	20	0,28
Oboljeli-B	26	0,51**
Oboljeli-C	7	0,22
Oboljeli-D	7	-0,60

*Bilješka. **p<0.01*

5.2.1. Povezanost biljega endotelne disfunkcije s parcijalnim tlakom O_2 i CO_2

Nije utvrđena značajna povezanost vWf i izdisajnog NO s pO_2 i pCO_2. Navedeno se može objasniti činjenicom da su u istraživanje uključeni bolesnici u stabilnom stadiju bolesti, bez značajne hipoksemije. Ipak, u skladu sa očekivanjima utvrđen je negativan odnos vWf s pO_2, odnosno više vrijednosti vWf su povezane s nižim vrijednostima pO_2 (Slika 5.4). Istovremeno utvrđen je pozitivan odnos vWf i pCO_2 što pokazuje da su osobe kod kojih je izmjerena viša vrijednost vWf imale i više vrijednosti pCO_2. Iako nije utvrđena značajna povezanost vWf s HCO_3, u skupini oboljelih odnos između vWf i HCO_3 je bio pozitivan što pokazuje da više vrijednosti vWf prate i više vrijednosti HCO_3.

Očekivano u skupini oboljelih, korelacija fibrinogena s pO_2, iako nisu značajne, su negativnog predznaka.



Slika 5.4. Negativna povezanost parcijalnog tlaka kisika (pO_2) i vrijednosti vWf-a u skupini oboljelih

5.3 Analiza razine izdisajnog NO i vWf ovisno o stupnju težine KOPB-a

Usporedbom sudionika iz četiri skupine (A, B, C i D) nije utvrđena značajna razlika niti u razini vWf [F (3, 56) = 0,24, p =,869], niti u razini izdisajnog NO, F (3, 56) = 1,45, p =,239. Iako razlika nije statistički značajna, kao što se može vidjeti iz Tablice 5.3, najviša razina vWf izmjerena je kod sudionika iz skupine A, a najniža kod sudionika iz skupine D. Očekivano najviša razina izdisajnog NO utvrđena je kod oboljelih iz skupine A, a najniža kod oboljelih iz skupine D.

Istovremeno nije utvrđena statistički značajna povezanost vWF, izdisajnog NO, fibrinogena sa razinom postbronhodilatacijskog FEV1 (Tablica 5.1).

Tablica 5.3. Deskriptivna statistika za vWf i izdisajni NO kod sudionika s različitom težinom KOPB-a

Biljeg	**Sudionici oboljeli od KOPB-a**	**N**	**M(±SD)**	**Minimum**	**Maksimum**
vWF	A (nizak rizik, malo simptoma)	20	1,62(±0,57)	0,52	3,18
	B (nizak rizik, puno simptoma)	26	1,51(±0,59)	0,74	3,60
	C (visok rizik, malo simptoma)	7	1,54(±0,65)	0,58	2,30
	D (visok rizik, puno simptoma)	7	1,43(±0,48)	0,58	2,07
Izdisajni NO	A (nizak rizik, malo simptoma)	20	16,35(±8,26)	4	40
	B (nizak rizik, puno simptoma)	26	15,19(±8,81)	2	38
	C (visok rizik, malo simptoma)	7	11,43(±4,42)	6	17
	D (visok rizik, puno simptoma)	7	10,43(±2,14)	8	14

5.4 Ispitivanje odnosa biljega i pušenja

Nadalje, t-testom za nezavisne uzorke ispitano je razlikuju li se oboljeli sudionici različitog pušačkog statusa (aktualni pušač/bivši pušač) s obzirom na razinu vWf-a i izdisajnog NO-a te pritom nije utvrđena značajna razlika između sudionika različitog pušačkog statusa s obzirom na ispitivane markere kao što se može vidjeti u Tablici 5.4. Iako je pušačima izmjerena viša razina i vWf-a i izdisajnog NO-a nego nepušačima, ta razlika nije statistički značajna.

Tablica 5.4. Usporedba svih sudionika različitog pušačkog statusa s obzirom na vWf i izdisajni NO

Biljeg	**Pušački status**	**N**	**M(±SD)**	***t***	***p***
vWF	Aktualni pušač	44	1,51(±0,64)	0,76	,448
	Bivši pušač	33	1,41(±0,48)		
Izdisajni NO	Aktualni pušač	44	15,75(±10,46)	0,05	,960
	Bivši pušač	33	15,64(±9,05)		

U skupini oboljelih utvrđena je statistički značajna, negativna, iako niska, korelacija između vWf-a i indikatora *pack/years* [(broj cigareta popušenih u danu) × (pušački staž u godinama)/20]. Dodatno je ispitan odnos između vWf-a i indikatora *pack/years* samo u skupini oboljelih koji su ujedno aktualni pušači (*n*=26). Za razliku od rezultata dobivenih kada su u analizu uključeni svi oboljeli neovisno o pušačkom statusu, odnos je između vWf-a i indikatora *pack/years* kod oboljelih osoba koji su aktualni pušači, iako statistički nije značajan, pozitivan (r = ,06; p = ,781). Skupinu oboljelih karakterizira pozitivna povezanost izdisajnog NO-a s indikatorom *pack/years*. Dakle više vrijednosti izdisajnog NO-a izmjerene su kod osoba s duljim pušačkim stažem i većim brojem popušenih cigareta. Dodatno je ispitan odnos između izdisajnog NO-a i indikatora *pack/years* samo u skupini oboljelih koji su ujedno aktualni pušači (*n*=26). Pri tome je utvrđen negativan odnos (r = -,03; p = ,878). Dakle kada se u obzir uzmu sve oboljele osobe bez obzira na njihov pušački status, odnos je između izdisajnog NO-a i indikatora *pack/years* pozitivan što znači da su i više vrijednosti izdisajnog NO-a povezane s većim brojem popušenih cigareta i duljim pušačkim stažem. Suprotno tomu kod oboljelih osoba koje su i aktualni pušači, niže vrijednosti izdisajnog NO prate veći broj popušenih cigareta i duži pušački staž.

Usporedbom aktualnih i bivših pušača unutar skupine oboljelih nije utvrđena statistički značajna razlika između dviju skupina niti za vWf niti za izdisajni NO, No, treba istaknuti da su aktualni pušači imali nešto viši vWf, a bivši pušači izdisajni NO (Tablica 5.5).

Tablica 5.5. Usporedba razine biljega endotelne disfunkcije obzirom na pušački status unutar skupine oboljelih

	Pušački status	**N**	**M(±SD)**	***t*-vrijednost**	***p***
vWF	aktualni pušač	26	1,52(±0,45)	0,73	0,49
	bivši pušač	31	1,43(±0,48)		
Izdisajni NO	aktualni pušač	26	13,15(±5,73)	1,39	0,17
	bivši pušač	31	16,03(±9,19)		

Nadalje, provjereno je razlikuju li se oboljeli i kontrola-pušači s obzirom na prosječnu vrijednost indikatora pack/year. T-testom za nezavisne uzorke utvrđena je značajna razlika u vrijednosti indikatora pack/years između dvije skupine, $t(77) = 2,74$, $p = ,008$. Pri tome je prosječna vrijednost indikatora pack/years bila značajno veća kod oboljelih ($M = 37,80$, $SD = 33,90$) nego kod kontrolne skupine pušača ($M = 16,10$, $SD = 10,36$).

5.5 Usporedba oboljelih ovisno o dužini liječenja i o vrsti terapije

Naposljetku, ispitan je odnos dužine liječenja u mjesecima i vrijednosti vWf i fibrinogena u skupini oboljelih. Odnos između vWf i dužine liječenja u mjesecima je pozitivan, ali ne i statistički značajan ($r = ,17$, $p = ,198$). Dakle, vrijednosti vWf su više kod osoba koje se duže liječe. Suprotno tome, odnos dužine liječenja u mjesecima i fibrinogena je gotovo nepostojeći ($r = -,01$, $p = ,994$).

Također je provjereno razlikuju li se sudionici koji su imali kortikosteroide u terapiji od onih koji nisu s obzirom na vWf i izdisajni NO. Od 60 oboljelih, njih 47 primalo je terapiju s kortikosteroidima. T-testom za nezavisne uzorke nije utvrđena statistički značajna razlika između dviju skupina sudionika s obzirom na vrijednosti vWf-a $t(57)= 1,29$, $p = ,203$. Iako razlika nije statistički značajna, vrijednosti vWf-a bile su više u skupini koja je primala terapiju bez kortikosteroida (M=1,74, SD=0,36) nego kod skupine koja je primala terapiju s kortikosteroidima (M=1,50, SD=0,62). Suprotno tomu utvrđena je statistički značajna razlika između dviju skupina sudionika s obzirom na vrijednost biljega izdisajnog NO-a, $t(57)=2,23$, $p= ,032$, pri čemu je kod oboljelih koji su u terapiji imali kortikosteroide izmjerena niža vrijednost izdisajnog NO-a (M=13,45, SD=6,84) nego kod sudionika koji nisu imali kortikosteroide u terapiji (M=18,92, SD=10,43).

5.6 Analiza kontrolne skupine zdravih sudionika (pušača)

Tablica 5.6. Međupovezanost ispitanih biljega u kontrolnoj skupini (pušači)

Kontrolna skupina-pušači (*n* = 20)													
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1. vWf	,09	,19	,19	,08	,17	-,18	-,15	-,46*	-,11	-,44	-,34	-,25	,13
2. Izdisajni NO	—	,61†	,72†	,11	-,15	-,04	-,06	,11	-,88†	-,05	-,20	,20	,56*
3. Fibronogen		—	,49*	-,31	-,49*	,14	-,11	-,05	-,64†	,15	-,12	,16	,17
4. CRP			—	,09	-,10	,00	-,01	,18	-,82†	,23	-,04	,29	,20
5. Kolesterol				—	,81†	,18	,36	,51*	-,11	-,16	-,08	,43	,27
6.Trigliceridi					—	,03	,30	,43	,19	-,30	-,18	,44	,05
7. FEV1						—	,31	,57*	,08	,08	,01	,26	-,34
8. FEV1/FVC							—	,47*	,15	-,24	-,18	,36	,01
9. DLCO								—	-,01	,09	,03	,54*	-,14
10. pO_2									—	-,01	,21	-,16	-,52*
11. pCO_2										—	,80†	-,10	-,34
12. HCO_3^-											—	-,26	-,31
13. BMI												—	,30
14.pack/years													—

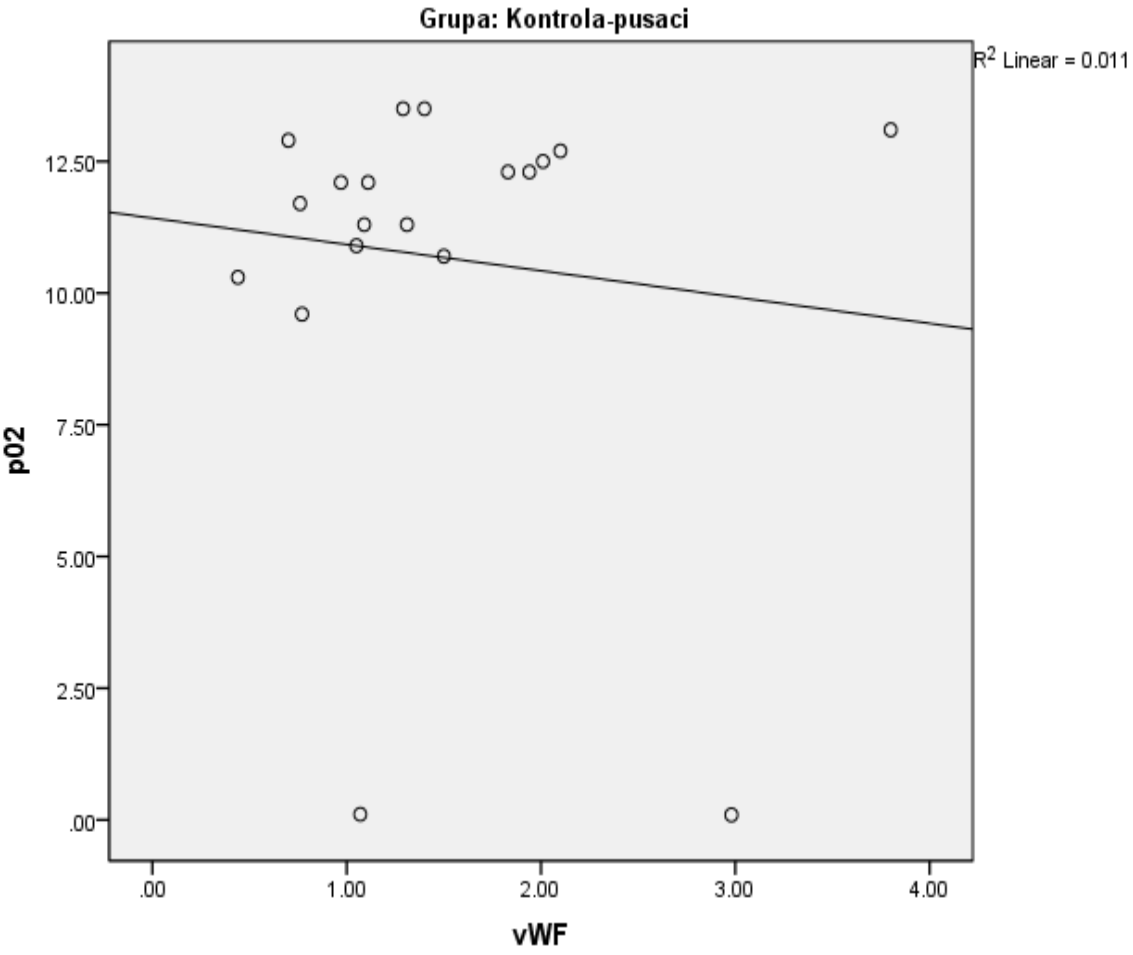
Bilješke: $^{*}p<0.05$, $^{\dagger}p< 0.01$, $^{\ddagger}p< 0.001$,

Kao što je prikazano u Tablici 5.6. u kontrolnoj je skupini pušača odnos utvrđene je pozitivan odnos između vWf i izdisajnog NO što znači da su više vrijednosti vWf-a povezane s višim vrijednostima izdisajnog NO-a. Za razliku od skupine oboljelih, korelacija između vWf i vrijednosti fibrinogena iako pozitivna, nije statistički značajna.

Nadalje, utvrđena je značajna i pozitivna povezanost fibrinogena i izdisajnog NO samo u kontrolnoj skupini pušača. Dakle, više vrijednosti fibrinogena su povezane s višim vrijednostima izdisajnog NO.

U kontrolnoj skupini pušača utvrđena je značajna, negativna i umjerena korelacija između vWF i DLCO, što znači da su više vrijednosti vWF pratile niže vrijednosti DLCO.

Kao i skupini oboljelih iako ne statistički značajan, utvrđen je negativan odnos vWf s pO_2, odnosno više vrijednosti vWf su povezane s nižim vrijednostima pO_2 (Slika 5.5). Nadalje, u kontrolnoj skupini pušača pO_2 je bio značajno i negativno povezan s izdisajnim NO, fibrinogenom i CRP-om. Dakle, kod pušača su više vrijednosti pO_2 pratile niže vrijednosti izdisajnog NO, fibrinogena i CRP-a.



Slika 5.5. Negativna povezanost parcijalnog tlaka kisika (pO_2) i vrijednosti vWf-a u kontrolnoj skupini pušača

Za razliku od toga, u skupini pušača utvrđena je značajna i pozitivna povezanost izdisajnog NO s indikatorom pack/years. Dakle, više vrijednosti izdisajnog NO su izmjerene kod osoba s dužim pušačkim stažem i većim brojem popušenih cigareta. Odnos između vWf i indikatora pack/years u kontrolnoj skupini pušača je pozitivan, odnosno više vrijednosti vWf su povezane s više

popušenih cigareta i dužim pušačkim stažem. No, treba naglasiti da korelacija nije statistički značajna.

5.7 Analiza kontrolne skupine zdravih sudionika (nepušača)

Kao što je prikazano u Tablici 5.7 u kontrolnoj skupini nepušača odnos između vWf i izdisajnog je NO negativan što znači da su više vrijednosti vWf povezane s nižim vrijednostima izdisajnog NO. U skladu sa očekivanjima kao i u prethodne dvije skupine utvrđena je značajna, pozitivna i umjerena povezanost fibrinogena i CRP-a što pokazuje da višu vrijednost fibrinogena prati i viša vrijednost CRP-a.

Tablica 5.7. Međupovezanost ispitavanih biljega u kontrolnoj skupini (nepušači)

Kontrolna skupina-nepušači (n = 20)													
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1. vWf	-,25	,56*	-,01	,26	,15	-,18	,24	,24	-,23	,04	,06	,12	-,08
2. Izdisajni NO	—	-,08	,08	-,24	,12	,15	-,19	-,18	-,09	,20	,11	,05	-,22
3. Fibronogen		—	,52*	-,08	,42	,24	-,21	-,05	-,49*	-,03	-,33	,26	,03
4. CRP			—	,06	,75†	-,06	-,13	,11	-,36	-,40	-,62†	,42	-,21
5. Kolesterol				—	,15	-,30	,26	,13	,29	-,37	-,32	,44	,17
6.Trigliceridi					—	-,27	-,07	,17	-,37	-,38	-,47*	,24	-,12
7. FEV1						—	-,03	,16	,23	-,13	-,32	-,03	-,06
8. FEV1/FVC							—	,57*	,43	-,45	-,18	,04	-,21
9. DLCO								—	-,44	-,27	-,47*	-,10	-,44
10. pO_2									—	-,44	-,27	-,47*	-,10
11. pCO_2										—	,85†	,01	,05
12. HCO_3^-											—	-,15	,09
13.BMI												—	-,05
14.pack/years													—

Bilješke: *p<0.05, †p< 0.01, ‡p< 0.001

5.8 Usporedba oboljelih i kontrolne (zdrave) skupine ispitanika

S obzirom na navedeno, za usporedbu triju skupina sudionika korištena je analiza kovarijance (ANCOVA). Pri tome je kao nezavisna varijabla uključena skupina (oboljeli, kontrola pušači i kontrola nepušači), kao zavisni ispitivani biljezi, odnosno vWf, izdisajni NO, CRP, fibrinogen, kolesterol, trigliceridi, FEV1, FEV1/FVC i DLCO, dok je kao kovarijat uključena samo dob. U tu analizu spol nije uključen kao kovarijat jer su utvrđene značajne korelacije spola i samo tri markera. Osim toga, dvije od tri korelacije značajne su na razini rizika od 5%. Dakle usporedbe sudionika iz triju skupina provedene su samo uz kontrolu utjecaja dobi. Kao što se može vidjeti iz Tablice 5.8, nakon kontrole dobi utvrđena je značajna razlika između tri skupine s obzirom na vrijednost izdisajnog NO-a, FEV1, FEV1/FVC, DLCO-a i pO_2. S obzirom da *F-omjer* pokazuje da postoji značajna razlika među skupinama, ali ne i između kojih točno skupina, provedena je *post-hoc*-analiza (Games-Howell). *Post-hoc*-testom utvrđeno je da se prema izdisajnom NO-u značajno razlikuju skupina oboljelih i kontrolna skupina pušača. Pri tome su, u prosjeku, više vrijednosti izmjerene kod kontrolne skupine pušača. Nadalje, utvrđeno je da se skupina oboljelih značajno razlikuje i od kontrolne skupine pušača (p = ,001) i od kontrolne skupine nepušača (p = ,001) s obzirom na izmjerene vrijednosti FEV1. Isti rezultati dobiveni su i za FEV1/FVC. Za oba markera oboljeli su imali niže razine od preostale dvije skupine. Slični rezultati dobiveni su i za biljeg DLCO (p= ,01), odnosno i za taj je biljeg skupina oboljelih imala značajno nižu vrijednost od preostale dvije skupine. Utvrđena je razlika i za vrijednost pO_2. Pri tome je kontrolna skupina nepušača imala značajno više rezultate od kontrolne skupine pušača, ali ne i od oboljelih.

Za svaku značajnu razliku izračunata je i veličina učinka te razlike. Kao što je već ranije rečeno, veličina učinka ukazuje na veličinu utvrđene razlike. Kao što se može vidjeti iz Tablice 5.8, veličina je učinka razlike za izdisajni NO i pO_2 umjerena (prema Cohenovim graničnim vrijednostima), a za DLCO, FEV1 i FEV1/FVC velika. U praktičnom smislu to znači da su razlike među skupinama u vrijednostima pojedinih biljega ne samo statistički već i klinički značajne, odnosno relevantne.

Tablica 5.8. Usporedba triju skupina sudionika s obzirom na ispitivane biljege uz kontrolu dobi

Biljeg	Grupa	M(±SD)	Usporedba grupa (*F omjer*)	η_p^2	Post-hoc (Games-Howell)
vWF	Oboljeli	1,54(±0,57)	2,58	0,05	
	Kontrola-pušači	1,48(±0,83)			
	Kontrola-nepušači	1,08(±0,45)			
Izdisajni NO	Oboljeli	14,58(±7,86)	4,19‡	0,08	O < KP
	Kontrola-pušači	19,42(±13,85)			
	Kontrola-nepušači	13,00(±6,11)			
Fibronogen	Oboljeli	4,19(±1,13)	0,38	0,01	
	Kontrola-pušači	3,35(±1,22)			
	Kontrola-nepušači	3,19(±0,96)			
CRP	Oboljeli	5,64(±6,54)	0,33	0,01	
	Kontrola-pušači	2,48(±3,22)			
	Kontrola-nepušači	2,82(±2,69)			
Kolesterol	Oboljeli	5,50(±1,01)	1,01	0,02	
	Kontrola-pušači	5,80(±1,73)			
	Kontrola-nepušači	5,72(±1,03)			
Trigliceridi	Oboljeli	1,41(±0,71)	0,08	0,01	
	Kontrola-pušači	1,70(±1,06)			
	Kontrola-nepušači	1,61(±1,12)			
FEV1	Oboljeli	65,13(±18,69)	54,05*	0,54	O < KP
	Kontrola-pušači	105,51(±13,75)			O < KN
	Kontrola-nepušači	115,62(±10,91)			
FEV1/FVC	Oboljeli	57,65(±9,01)	37,97*	0,45	O < KP
	Kontrola-pušači	80,90(±7,45)			O < KN
	Kontrola-nepušači	85,70(±13,49)			
DLCO	Oboljeli	57,58%(±21,84%)	19,52*	0,29	O < KP
	Kontrola-pušači	78,71%(±12,13%)			O < KN
	Kontrola-nepušači	93,70%(±12,00%)			
pO_2	Oboljeli	9,69(±1,37)	3,69*	0,07	KP < KN
	Kontrola-pušači	10,68(±3,87)			
	Kontrola-nepušači	12,23(±1,33)			
pCO_2	Oboljeli	5,26(±0,54)	0,12	0,01	
	Kontrola-pušači	5,17(±0,41)			
	Kontrola-nepušači	5,25(±0,62)			
HCO_3	Oboljeli	25,56(±2,12)	0,15	0,01	
	Kontrola-pušači	25,15(±1,37)			
	Kontrola-nepušači	25,48(±2,18)			

Bilješke. *p< ,001; †p< ,01; ‡p< ,05; O = oboljeli, KP = kontrola-pušači; KN = kontrola-nepušači; η_p^2 = mjera veličine učinka

Za razliku od toga, tri skupine sudionika nisu se značajno razlikovale s obzirom na vWf, CRP, fibrinogen, kolesterol i trigliceride, pCO_2 i HCO_3. Iako su vrijednosti vWf-a, fibrinogena i CRP-a bile najviše u skupini oboljelih, njihove se vrijednosti nisu statistički značajno razlikovale od onih u kontrolnoj skupini, odnosno skupinama pušača i nepušača.

Nadalje, provjereno je razlikuju li se oboljeli i kontrolna skupina pušača s obzirom na prosječnu vrijednost indikatora *pack/year* (broj cigareta popušenih u danu) × (pušački staž u godinama)/20. T-testom za nezavisne uzorke utvrđena je značajna razlika u vrijednosti indikatora *pack/years* između dviju skupina, $t(77)=2,74$, $p= ,008$. Pri tome je prosječna vrijednost indikatora pack/years bila značajno veća kod oboljelih (M = 37,80, SD = 33,90) nego kod kontrolne skupine pušača (M = 16,10, SD = 10,36).

Usporedbom oboljelih iz svake pojedine skupine (A, B, C, D) s kontrolnom skupinom, pušača i nepušača s obzirom na vWf i izdisajni NO nije utvrđena statistički značajna razlika među skupinama (Tablica 5.9.). Najvišu vrijedno vWf su imali oboljeli iz skupine A, a najmanju nepušači iz kontrolne skupine. Što se tiče izdisajnog NO, najviša vrijednost izmjerena je kod pušača iz kontrolne skupine, nakon čega slijede oboljeli s A stupnjem oboljenja, dok je najmanja razina izmjerena kod oboljelih s D stupnjem.

Tablica 5.9. Usporedba svake pojedine skupine oboljelih sa kontrolnim skupinama obzirom na vrijednosti vWf i izdisajnog NO

	Skupina	**N**	**M(±SD)**	***p***
vWF	Oboljeli-A	20	1,62 (± 0,57)	0,12
	Oboljeli-B	26	1,51 (± 0,59)	
	Oboljeli-C	7	1,54(±0,65)	
	Oboljeli-D	7	1,43(±0,48)	
	Kontrolna-Nepušači	20	1,07(±0,45)	
	Kontrolna-Pušači	20	1,48(±0,82)	
Izdisajni NO	Oboljeli-A	20	16,35(±8,26)	0,13
	Oboljeli-B	26	15,19(±8,81)	
	Oboljeli-C	7	11,43(±4,42)	
	Oboljeli-D	7	10,43(±2,14)	
	Kontrolna-Nepušači	20	13,00(±6,11)	
	Kontrolna-Pušači	20	19,42(±7,85)	

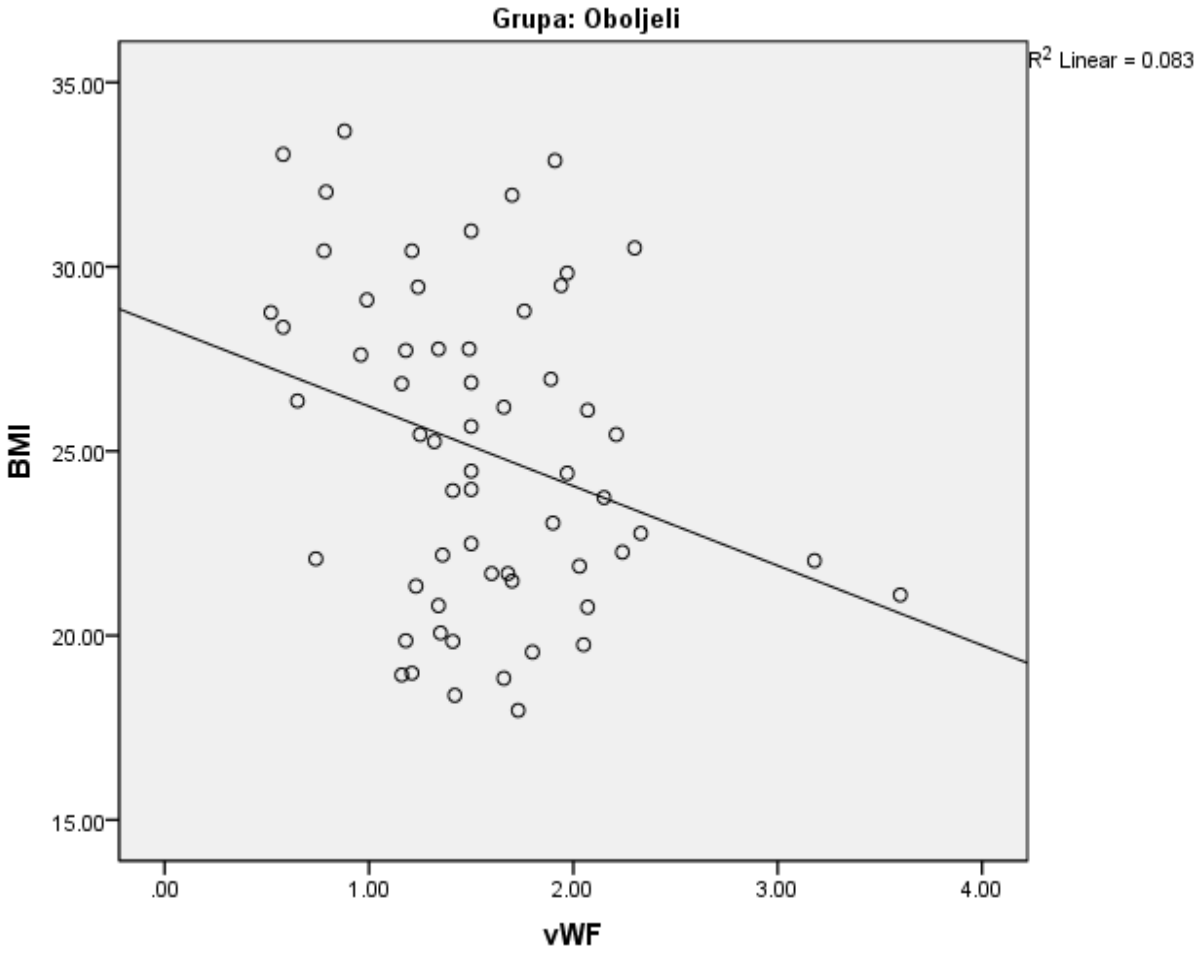
5.9 Analiza utjecaja kardiovaskularnih čimbenika razika na (kolesterola i triglicerida) na razinu biljega endotelne disfunkcije

U skupini oboljelih njih 42 (70%) je imalo povišeni kolesterol, a njih 18 (30%) povišene trigliceride. U kontrolnoj skupini pušača sličan postotak (63.2%) je imao povišeni kolesterol, a trećina (31.6%) ih je imala povišene i trigliceride. U kontrolnoj skupini nepušača čak 71,85% ih je imalo povišeni kolesterol, a oko trećine (31,2%) ih je imalo povišene trigliceride. T-testom za nezavisne uzorke je provjereno razlikuju li se oni s povišenim kolesterolom/trigliceridima od ostalih sudionika s obzirom na vWf i fibrinogen. Pri tome nisu utvrđene razlike niti za vWf, $t(96) = 0{,}20$, $p = {,}841$, niti za fibrinogen, $t(96) = 1{,}31$, $p = 193$.

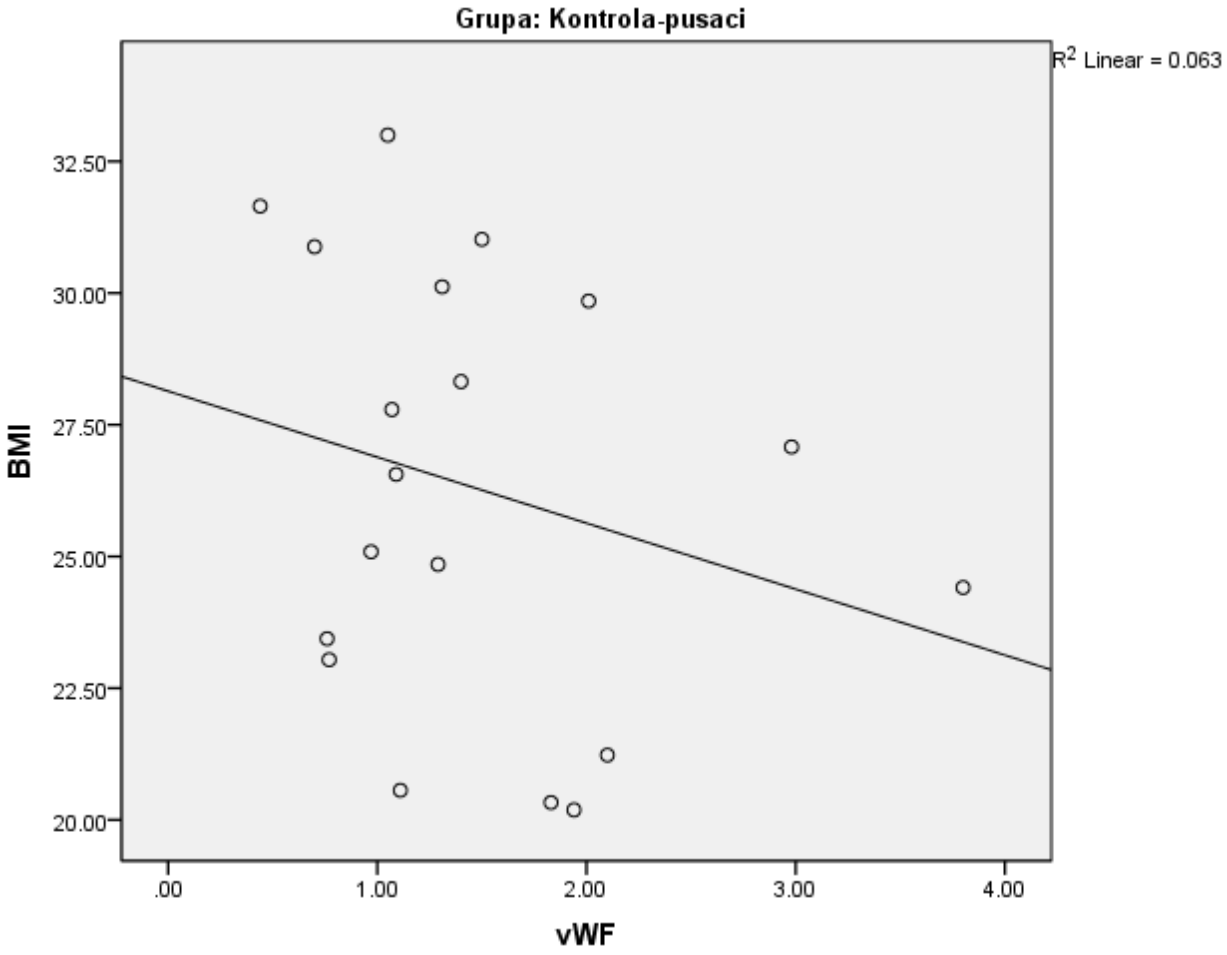
Razina kolesterola je bila najviša u kontrolnoj skupini pušača, a najniža među oboljelima. Slično tome, razina triglicerida je bila najniža među oboljelima, dok je najviša vrijednost izmjerena kod kontrolne skupine pušača. No, razlike nisu bile statistički značajne niti za trigliceride niti za kolesterol.

5.10 Analiza povezanosti BMI sa razinom biljega endotelne disfunkcije

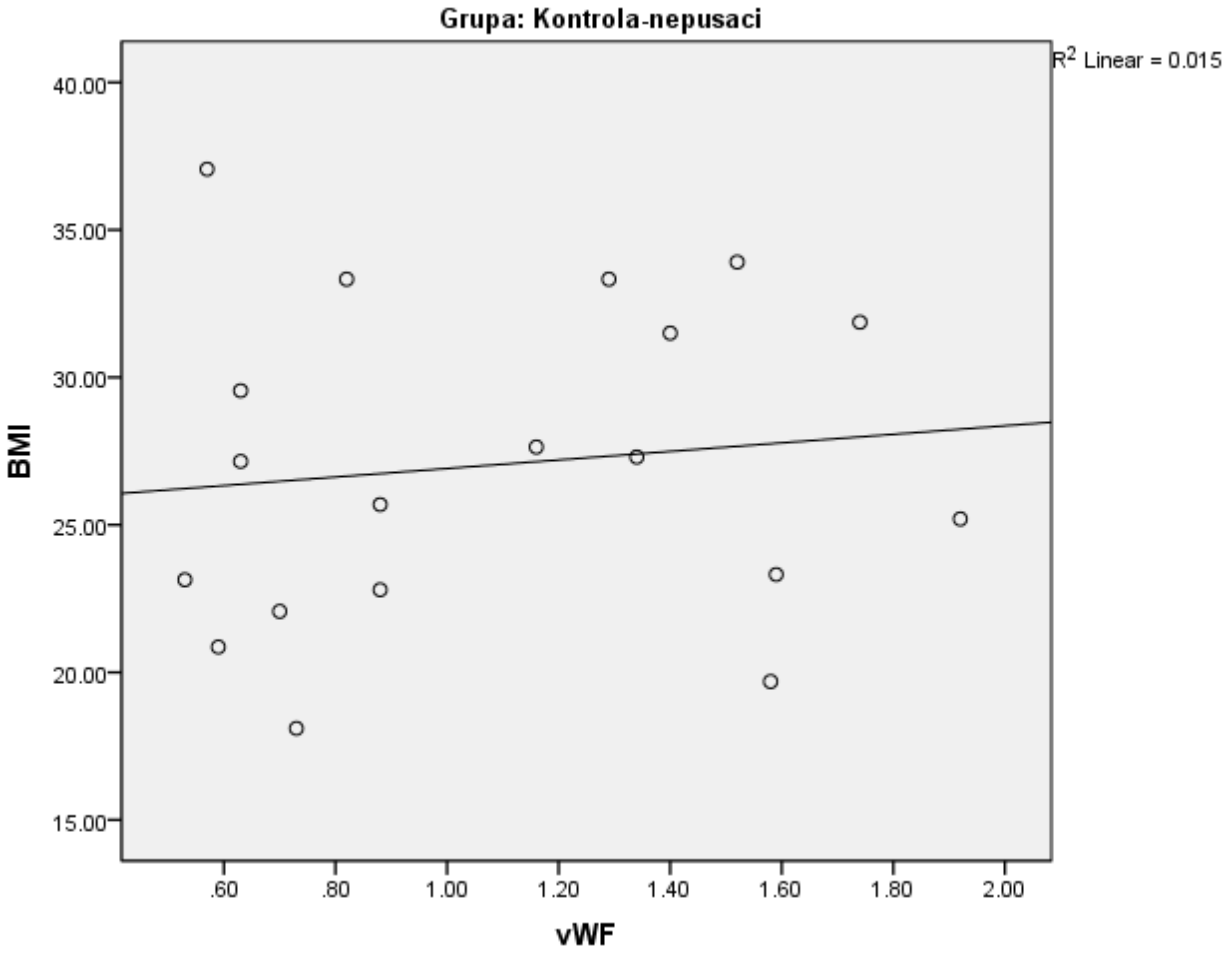
U skupini oboljelih utvrđena je značajna, negativna, iako niska povezanost vWf-a s vrijednošću BMI-ja (kg/m^2), što upućuje da su više vrijednosti vWf-a povezane s nižim vrijednostima BMI-ja (Slika 5.6). Sličan odnos utvrđen je i u kontrolnoj skupini pušača, međutim korelacija nije statistički značajna (Slika 5.7). U kontrolnoj skupini nepušača odnos je pozitivan, što znači da su više vrijednosti vWf-a povezane s višim vrijednostima BMI-ja (Slika 5.8).



Slika 5.6. Negativna povezanost vrijednosti BMI-ja s vrijednošću vWf-a u skupini oboljelih



Slika 5.7. Negativna povezanost vrijednosti BMI-ja s vrijednošću vWf-a u kontrolnoj skupini pušača



Slika 5.8. Pozitivna povezanost vrijednosti BMI-ja s vrijednošću vWf-a u kontrolnoj skupini nepušača

6. RASPRAVA

Ovo istraživanje proučavajući postojanje endotelne disfunkcije kod oboljelih od KOPB-a, u stabilnom stadiju bolesti koristeći pritom kao biljege serumsku razinu vWF-a i izdisajni NO (1,70-73) nije utvrdilo postojanje značajne razlike u razini istih biljega u odnosu na kontrolnu skupinu, zdravih ispitanika (Tablica 5.8.). Time se ne može isključiti činjenica da je KOPB multisistemska bolest, nego samo potvrditi da adekvatna prevencija KOPB-a, prestanak pušenja, te rani početak liječenja mogu spriječiti sistemske posljedice na razini cijelog organizma, odnosno razvoj pridruljenog komorbiditetom. Za razliku od većine dosadašnjih istraživanja koja su ispitivala endotelnu disfunkciju kod oboljelih od KOPB-a, u ovom istraživanju isključeni su oni oboljeli koji nisu imali pridruženi kardiovaskularni komorbiditet. Isključivši kardiovaskularni komorbiditet kao jedan od najvažniji čimbenika koji utječe na endotelnu disfunkciju te uključivši samo oboljele u stabilnom stadiju bolesti, istraživanje je imalo za cilj što preciznije i realnije procijeniti postojanje endotelne disfunkcije, odnosno sistemske posljedice KOPB-a. Zbog visokog postotka pridruženog kardiovaskularnog komorbiditeta koji raste napredovanjem KOPB-a, istraživanje je ograničeno na izdvojenu populaciju oboljelih od KOPB-a čime se može objasniti veličina uzorka u ovom istraživanju (57,71). Osim tog ograničenja, na broj ispitanika bitno je utjecala činjenica da su svi oboljeli morali biti u stabilnom stadiju bolesti.

Dosadašnja istraživanja, obrađujući temu endotelne disfunkcije, koristila su različite biljege, no nijedno od provedenih nije istovremeno uspoređivalo biljege koji su uzeti u obzir u ovom istraživanju. Za razliku od ranijih istraživanja da jedno od ciljeva ovog istraživanja bilo je usporediti odnos dva biljega endotelne disfunkcije, izdisajnog NO i vWf.

Prema istraživanjima izloženost hipoksiji rezultira povečenom razinom vWf koji posljedično smanjuje aktivnost eNOS, što rezultira smanjenom razinom NO. Fiziološki proces otpuštanja vWf iz endotelnih stanica reguliran je prvenstveno upalom i trombozom, a važnu ulogu u regulaciji istog procesa ima antagonistički učinak povišene razine NO (74).

Tako su postojanje endotelne disfunkcije potvrdili Bartholo i sur. (73) u svom istraživanju, pri čemu su uzimali u obzir samo vWf i time potvrdili visok mortalitet oboljelih od KOPB-a, uz pridruženi kardiovaskularni komorbiditet. Celli i sur. (75) potvrđuju postajanje endotelne disfunkcije i poremećaja koagulacije kod oboljelih od KOPB-a na osnovi NO-a, trombomodulina, tkivnog inhibitorskog faktora. Eickhoff i sur. (68) u svom su radu potvrdili

sistemske učinke KOPB-a, pri tom koristeći viskorezolucijski ultrazvučni test protokom posredovane dilatacije perifernih arterija (engl. *flow mediated dilatation*, FMD), uz fibrinogen, CRP, IL-6 i ponovno potvrdili povećani rizik od kardiovaskularnog oboljenja kod oboljelih od KOPB-a.

Za razliku od provedenih istraživanja, sudionici su u ovom istraživanju podijeljeni po skupinama (A,B,C,D) prema smjernicama GOLD-a, revizija 2013. gdje su osim procjene plućne funkcije, uzete u obzir subjektivne smetnje oboljelih kao i rizik od egzacerbacije tako da ispitanici nisu podijeljeni samo u dvije osnovne grupe stabilnih te onih s akutnim pogoršanjem. Upravo zbog činjenice da procjena endotelne funkcije bude učinjena na precizniji način, isključivši faktore koji bi mogli utjecati na procjenu iste, oboljeli u akutnom pogošanju nisu bili uključeni u istraživanje.

Osim toga za razliku od dosadašnjih istraživanja koji su stupanj težine KOPB-a procjenjivali na osnovu razine FEV1, u ovom istraživanju kao što je ranije navedeno uzeti su u obzir i subjektivne smetnje. Őzbe B i sur. (76), koristeći kao metodu procjene FMD što je „zlatni standard“ u procjeni endotelne disfunkcije, u svom su radu dokazali da kod oboljelih postoji konstantna endotelna disfunkcija koja se sa svakom egzacerbacijom pogoršava. S obzirom na sve isključujuće kriterije, te na činjenicu da se porastom težine bolesti, odnosno pogoršanjem plućne funkcije povečava pridruženi komorbiditet, što su potvrdila i ranija istraživanja, najveći je broj ispitanika u skupini A i B (77,78). Pritom je važno naglasiti, da u navedene dvije skupine ne postoji značajna razlika u razini bronhoopstrukcije što je potvrđeno i u ovom istraživanju (Tablica 5.1).

Jedan je od razloga odabira biljega koji su korišteni u procjeni endotelne disfunkcije u ovom istraživanju i u njihovoj dostupnosti te mogućoj krajnjoj primjeni u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

U skladu s očekivanjem, s obzirom na dosadašnje rezultate koji su dobiveni u istraživanjima, skupina oboljelih od KOPB-a imala je najviše vrijednosti vWf-a u odnosu na obje kontrolne skupine iako ne statistički značajno (Tablica 5.8), što se može objasniti činjenicom da su oboljeli u ranom stadiju bolesti, bez pridruženog komorbiditeta i svih čimbenika koji mogu utjecati na navedene biljege. Takvi su rezultati u skladu s onima koje su u svom radu dobili Pollati i sur. (79). Za razliku od razine vWf, utvrđena je značajna razlika u razini izdisajnog NO između kontrolne skupine pušača i skupine oboljelih (Tablica 5.8). U skladu sa očekivanjem niže vrijednosti izmjerene su u skupini oboljelih, jer se u istoj skupini očekuje razvoj endotelne

disfunkcije, a posljedično i smanjene sinteze NO. Jednake rezultate smo dobili kad se usporedila svaka pojedina skupina oboljelih, sa kontrolnim skupinama (Tablica 5.9). Takvi rezultati govore u prilog da kod stabilnih bolesnika, u ranoj fazi kad ne postoji značajna razina bronhoopstrukcije nema niti značajne razlike u razini ispitivanih biljega endotelne disfunkcije.

U skladu s pretpostavkama, ovo je istraživanje pokazalo obrnuto proporcionalni odnos dvaju biljega endotelne disfunkcije, što znači da su više vrijednosti vWf-a pratile niže vrijednosti izdisajnog NO-a (Slika 5.1). Takvi su rezultati u skladu sa zaključcima koje su u svojem istraživanju dobili Pernerstorfer i sur (80), a prema kojima je snižena produkcija NO-a u razvoju aterosklerotskog procesa posljedica povećane razine vWf-a koji parcijalno blokira NO-sintetazu. Koprivica Z. i sur (81). dolaze do istog zaključka i time potvrđuju međuovisnost NO-a i vWf-a prema kojoj povišena razina NO-a blokira sekreciju vWf-a.

U skupini oboljelih, a s obzirom na stupanj težine bolesti, nije utvrđena statistički značajna razlika s obzirom na vrijednost vWf-a (Tablica 5.3). Takvi rezultati mogu se opravdati činjenicom da je većina oboljelih u skupini A i B. Obzirom na to da navedene skupine predstavljaju početni stadij bolesti, a početak razvoja sistemskih posljedica osnovne bolesti nije izražen, a time ni porast vWf kao biljega endotelne disfunkcije. Jednako tako nije utvrđena značajna razlika u razini vWf-a porastom razine bronhoopstrukcije, odnosno padom razine postbronhodilatacijskog FEV1 (Tablica 5.1).

Clini i sur. (82) su u svom radu dokazali da oboljeli od KOPB-a neovisno o razini FEV1 imaju nižu vrijednost izdisajnog NO-a u odnosu na zdrave ispitanike. Kod navedenog istraživnja nije isključen pridruljeni kardiovaskularni komorbiditet. Maziak i sur. (83) iznijeli su suprotan zaključak prema kojem padom razine FEV1 raste vrijednost izdisajnog NO-a te su najviše vrijednosti izmjerene u oboljelih s akutnim pogoršanjem. U skladu s tim rezultatima jednaka su ona Ansarina i sur. (84). Osim malog broja ispitanika, ni jedno od navedenih ispitivanja nije kao isključni kriterij imalo pridruženi kardiovaskularni komorbiditet.

Ovo je istraživanje pokazalo da su, iako unutar skupine oboljelih nije bilo značajne razlike u razini izdisajnog NO-a, ali u skladu s pretpostavkom da porastom stupnja težine bolesti napreduje i endotelna disfunkcija, a time se smanjuje razina NO-a, najniže vrijednosti izmjerene su skupini D (Tablica 5.3). Mali broj oboljelih u skupini D posljedica je činjenice da oboljeli koji pripadaju navedenoj skupini imaju pridruženi kardiovaskularni komorbiditet u visokom postotku, kao i

druge sistemske posljedice KOPB-a koji bitno utječu na razinu navedenih parametara, a potom i interpretaciju rezultata.

U skladu s podatcima koje su dobili Maziak i sur. (83), može se zaključiti da se napredovanjem bolesti, odnosno porastom stupnja težine KOPB-a, smanjuje vrijednost izdisajnog NO-a. Napredovanje bolesti istovremeno podrazumijeva i razvoj plućne hipertenzije, što je još jedan od čimbenika koji utječe na razinu izdisajnog NO-a. Do jednakih rezultata u svom radu došli su McCurdy i sur. (85) kada su kod oboljelih u 3 i 4 stupnju težine KOPB-a proučavali odnos razine izdisajnog NO-a s funkcionalnim statusom oboljelog. Rouhos A i sur. (86) u svojem radu zaključuju da su kod oboljelih u stabilnom stadiju KOPB-a moguće minimalne promjene u razini izdisajnog NO-a (do 24 %).

Osim navedenih dvaju biljega endotelne disfunkcije, u ovom je istraživanju kao biljeg korišten fibrinogen čije su vrijednosti u pozitivnoj korelaciji s vWf-om, a obrnutoproporcionalne razini izdisajnog NO-a (Slika 5.1). Navedeno je u skladu s rezultatima koje su dobili Eickoff i sur. (66) kada su proučavali endotelnu disfunkciju te pritom utvrdili porast fibrinogena kod oboljelih od KOPB-a, što istovremeno pozitivno korelira s FMD-metodom u procjeni endotelne disfunkcije. Liu i sur. (87), proučavajući sistemsku upalu kod pušača i nepušača, utvrdili su više razine fibrinogena, vWf-a i ostalih biljega kod pušača u odnosu na nepušače, što je u skladu s rezultatima dobivenim u ovom istraživanju.

U skladu s očekivanjem, porast vrijednosti fibrinogena kao biljega sistemske upale praćen je nižim vrijednostima FEV1, što ukazuje da kardiovaskularni rizik raste kod oboljelih od KOPB-a pogoršanjem plućne funkcije (88).

U grupi ispitanika oboljelih od KOPB-a utvrđen je pozitivan odnos između fibrinogena i vWF-a s CRP-om, što je ponovno potvrdilo činjenicu da se povećana sistemska upala odražava na sistemske posljedice KOPB-a (Tablica 5.1). CRP je jedan od najznačajnijih prediktora kardiovaskularnih incidenata te ne predstavlja samo biljeg nego je i medijator arteroskleroze. On izravno potiče raznolike procese u ranom stadiju aterosklerotskog procesa (89). Verma i sur. (90) su u svojem radu pokazali da povišene vrijednosti CRP-a izravno djeluju na endotelne stanice, odnosno sintazu dušikova oksida, što rezultira posljedičnim smanjenjem bazalne razine NO te smanjenjem endotelne ovisne vazodilatacije koja predstavljalja jednu od najznačajnih promjena u ranoj fazi ateroskleroskog procesa. Iako u ovom istraživanju nisu dobiveni rezultati koji govore o značajnom sniženju vrijednosti NO-a s porastom CRP-a, to se može objasniti činjenicom da se

ovdje radi o pacijentima u stabilnom, odnosno početnom stadiju KOPB-a, bez pridruženog komorbiditeta, ali CRP je zasigurno biljeg sistemske upale i ima značajnu ulogu u razvoju aterosklerotskog procesa. Do jednakih zaključaka u svojem istraživanju došla je i Lazović B. (91) u svojem istraživanju kad, obrađujući jednaku populaciju oboljelih, nije utvrdila značajnu razliku u razini CRP-a ovisno o vrijednosti FEV1.

Jedno je od obilježja KOPB-a, napredovanjem bolesti je respiratorna insuficijencija, odnosno snižavanje razine parcijalnog tlaka kisika. Obzirom da su u istraživanje uključeni bolesnici u stabilnom stadiju bolesti, odnosno u skupini A i B očekivano nije utvrđena značajna povezanost biljega endotelne disfunkcije i pO_2. U ovom istraživanju, kao i kod ranije provedenih, utvrđeno je da razina biljega endotelne disfunkcije raste snižavanjem vrijednosti pO_2. (92). Svakim akutnim pogoršanjem osnovne bolesti, odnosno pogoršanjem plućne funkcije, dolazi do porasta biljega sistemske upale, a time se povećava rizik od embolijskih incidenata (93). Odgovarajuća respiratorna suficijentnost, odnosno više vrijednosti pO_2, kako i u ranijim istraživanjima tako i u ovom, praćena je nižim vrijednostima biljega endotelne disfunkcije. U skladu s očekivanjima i s obzirom na ranije istraživanje Belika i sur. (95) koje je utvrdilo utjecaj kronične hiperkapnije na endotelnu disfunkciju, i ovom je radu potvrđeno da porast vrijednosti pCO_2 prati porast vrijednost vWf-a .

Redukcija difuzijskog kapaciteta za CO vezana je uz uznapredovali stadij KOPB-a, odnosno posljedično promjenama na razini plućne cirkulacije. Prema rezultatima dobivenim u ovom istraživanju nije utvrđeno da je redukcija DLCO-a povezana sa sniženjem razine izdisajnog NO, niti porastom vWf kao što je prikazano u Tablici 5.2. Takvi se rezultati mogu objasniti i uzorkom oboljelih ispitanika, gdje su uključeni ispitanici u stabilnom stadiju bolesti, a plućna hipertenzija je bila jedan od isključujućih kriterij. Unutar skupine oboljelih niže vrijednosti DLCO imala je skupina D, te je u istoj očekivano utvrđena negativna povezanost sa vWf. Za razliku od toga u preostale tri skupine taj odnos je pozitivan, te je statistička značajna povezanost u skupini B. Takvi rezultati proizlaze iz činjenice da unutar navedene tri skupine ne postoji značajno sniženje DLCO, a istovremeno je skupini B izmjerena najviša vrijednost vWf. Dobivena korelacija zasigurno zahtjeva dodatnu analizu, odnosno proučavanje odnosa DLCO na većem uzorku ispitanika, te uzimanje u obzir druge metode za procjenu endotelne disfunkcije. U kontrolnoj skupini pušača odnos vWf i DLCO je očekivano negativan je aktivno pušenje uzrokuje promjene

u području plućnog intersticija, smanjuje ukupnu respiracijsku površinu, dovodi do promjena na razini endotela što dovodi do porasta vWf.

S obzirom na to da pušenje predstavlja vodeći uzročni čimbenik u nastanku KOPB-a, u ovom radu posebno je analiziran odnos pušenja s endotelnom disfunkcijom. Značenje njegove uloge postaje osobito važno kada znamo i njegove izvanplućne učinke u razvoju ateroskleroze s posljedičnim razvojem sistemskih vaskularnih oboljena. S obzirom na to da su u istraživanje uključeni oboljeli u stabilnom stadiju bolesti, gdje se većina oboljelih nalazi u grupi A i B (smjernice GOLD-a 2013.), u ovom radu nije utvrđeno značajno sniženje vrijednosti FEV1 povećanjem *pack/years* (Tablica 5.1). Kada se u obzir uzmu vrijednosti izdisajnog NO-a u sve tri skupine sudionika, statistički više vrijednosti bile su u kontrolnoj grupi pušača. Dobiveni podatci mogu se objasniti činjenicom da aktivno pušenje transitorno povećava razinu izdisajnog NO-a (83,84). Osim navedenog bitna je činjenica akutalni pušači u skupini oboljelih niže vrijednosti izdisajnog NO u odnosu na bivše pušače kao što je prikazano u Tablici 5.5, te kod njih je prisutna negativna korealacija s *pack/years*. Navedeno sa može objasniti da su oboljeli zasigurno imali duži pušački staž, ali po dijagnosticiranju bolesti broj popušenih cigareta dnevno su smanjili. Kronično pušenje smanjuje razinu izdisajnog NO-a, suprimirajući aktivnost NO-sintetaze. Kao posljedica snižene vrijednosti endogenog NO-a smanjuje se mukocilijarna prokretljivost i baktericidna aktivnost fagocita, što kao posljedicu ima veću sklonost respiratornim infekcijama kako kod oboljelih od KOPB-a tako i kod svih aktulanih pušača (96).

Kad se radilo o proučavanju odnosa vWf-a s *pack/years*, pronađena je negativna korelacija, ali kad su uzeti u obzir akutalni pušači iz grupe oboljelih, ta je korelacija bila očekivano pozitivna što je u skladu s ranijim istraživanjima (97). Činjenica da nisu dobivene statističke značajne razlike u razini vWf unutar skupine oboljelih obzirom na pušački status mogu se objasniti rezultatima koji su dobili Kumari M. i sur. (98) u svom istraživanju, ispitujući odnos čimbenika koji utječu na endotelnu disfunkciju s vWf-om, a koje je uključilo preko 10000 ispitanika, utvrdili su povezanost pušenja i vWf-a samo u populaciji muških ispitanika koji konzumiraju više od 21 cigarete dnevno. Na temelju dobivenih rezultata i dosadašnjih istraživanja može se potvrditi da pušenje osobito aktualno ima značajan utjecaj na sistemsku vaskularnu funkciju.

Uzimajući u obzir BMI, vrijednost vWf-a bila je povišena kod oboljelih s nižom vrijednosti BMI-ja, što proizlazi iz činjenice da je gubitak na tjelesnoj težini posljedica povećane razine upalnih markera, hipoksije i hormonskih promjena te predstavlja negativan prediktor kod

preživljavanja. Mnogo istraživanja obrađivalo je temu „paradoksa debljine“ kod oboljelih od KOPB-a, što znači da su snižene vrijednosti BMI-ja praćene lošijom prognozom te povećanim mortalitetom, a što je upravo suprotno od preostale populacije. Patofiziološki mehanizam nastanka navednog parodoksa koji razlikuje oboljele od KOPB-a od preostale populacije, predmet je mnogih istraživanja i danas. Tako je Sood A. (99) u svom radu navedeni učinak protumačio kao posljedicu povišenih vrijednosti adiponektina te sniženih vrijednosti leptina kod oboljelih u stabilnom stadiju KOPB-a. Harik-Khan i sur. (100) su u svom radu loš prognostički značaj niske vrijednosti BMI-ja kod oboljelih od KOPB-a objasnili činjenicom da je zbog pušenja niži unos kalorija, a nizak BMI predstavlja osjetljivi pokazatelj sistemskog učinka pušenja. Higashi i sur. (101) su u svom radu potvrdili da snižene vrijednosti BMI jednako predstvalju značajan faktor za ravoj endotelne disfunkcije, a ključnu ulogu ima oksidativni stres odnosno poremaćaj vazodilatacije.

S obzirom na to da BMI predstavlja jedan od značajnih čimbenika za razvoj endotelne disfunkcije, osobito je važno ispitati odnos BMI-ja s biljezima endotelne disfunkcije. U skladu s očekivanjima može se zaključiti da s obzirom na prisutnost konstantne kroniče upale kod oboljelih dolazi do sniženja vrijednosti BMI-ja (Slika 5.6). Kod kontrolne skupine nepušača taj je odnos obrnut, što govori u prilog tezi da je u osoba kod kojih nije razvijena kronična opstruktivna plućna bolest, porast BMI-ja povezan s razvojem endotelne disfunkcije. (Slika 5.8).

Oboljeli od KOPB-a imaju 2-3 puta veći kardiovaskularni rizik, a s obzirom na to da endotelna disfunkcija, uz ostale čimbenike rizika ateroskleroske bolesti među kojima je dislipidemija, ima značajan utjecaj na razvoj ateroskleroze, u ovom se radu posebno željelo utvrditi koliko se u vrijednostima kolesterola i triglicerida razlikuju skupina oboljelih i kontrolne skupine. Prema dosadašnjim radovima ključnu ulogu u mehanizmu nastanka hiperkolesterolemije ima oksidativni stres koji uzrokuje stanično oštećenje, mijenja redukcijski potencijal stanice te uzrokuje oslobađanje slobodnih radikala kisika (102). Istovremeno oksidativni stres ima značajnu ulogu u patofiziološkom mehanizmu nastanka KOPB-a. Zbog navedenog su mnoga istraživanja, uzimajući u obzir protuupalni učinak statina, povrdila njegov istovremeni učinak na smanjenje razine bronhoopstrukcije (103). U ovom je istraživanju u skupini oboljelih, kao i u objema kontrolnim skupinama, nije utvrđena značajna povezanost s biljezima endotelne disfunkcije (Tablice 5.1, 5.6, 5.7). Navedeno se može objasniti činjenicom da se većina oboljelih nalazi u stabilnom stadiju KOPB-a, a istovremeno su svi ostali kardiovaskularni rizični čimbenici bili

isključeni. Takvi su rezultati u skladu s rezultatima koje su u svom radu dobili Eickhoff i sur. (69) kada su ispitanicima u stabilnom stadiju KOPB-a procjenjivali endotelnu disfunkciju metodom FMD.

Naposljetku smo ispitali odnos duljine liječenja s biljezima endotelne disfunkcije, koji je očekivano pokazao da s duljim liječenjem vrijednosti biljega rastu. Posebno je zanimanje mnogih istraživanja koja su obrađivala temu endotelne disfunkcije kod oboljelih od KOPB-a utjecaj inhalacijskih kortikosteroida koji su dio terapije na endotelnu disfunkciju odnosno njezine biljege. Waner A. i sur. (104) su u svom radu potvrdili da upotreba inhalacijskih kortikosteroida istovremeno dovodi do smanjenja endotelne disfunkcije, posredno smanjenjem oksidativnog stresa. Mendes ES i sur. (105) u svom radu također su potvrdili odgovarajući učinak primjene inhalacijskih kortikosteroida na endotelnu disfunkciju. U skladu s očekivanjima, rezultati su ovog rada pokazali da su više vrijednosti vWf-a, biljega endotelne disfunkcije, izmjerene kod osoba koje nisu u svojoj terapiji imale inhalcijske kortikosteroide.

Utjecaj inhalacijskih kortikosteroida na razinu izdisajnog NO-a, odnosno njihov međusobni odnos, predmet je mnogih istraživanja. Dosadašnji radovi pokazali su da kortikosterodi istovremneno imaju dvostruko djelovanje, smanjujući oksidativi stres i djelujući na povećanje razine NO-sintetaze (83). U ovom radu, kao i onom koji su učinili Ansarin i sur. (82), vrijednosti izdisajnog NO-a bile su niže kod onih koji su primjenjivali kortikosteroide za razliku od skupine bez navedene terapije. Snižene vrijednosti biljega endotelne disfunkcije kod oboljelih koji su u svojoj terapiji imali inhalacijske kortikosteroide potvrđuju činjenicu da rano započinjanje liječenja ima ulogu u sprečavanju daljnjeg napredovanja upalnog procesa, a time i utjecaja na razvoj endotelne disfunkcije. Zasigurno će navedeni odnos i dalje biti predmet mnogih istraživanja, osobito zbog istovremenog razloga liječenja sistemskih posljedica KOPB-a i njegova lokalnog plućnog procesa.

Rezultati ovog istraživanja pokazali da nema značajne razlike u razini biljega endotelne disfunkcije izdisajnog NO i vWf, kada je riječe o oboljelima u stabilnom stadiju KOPB-a, bez pridruženog kardiovaskularnog komorbiditeta. Također ne postoji značajna razlika razini navedenih biljega porastom stupnja težine KOPB-a, iako postoji tendencija snižavanja razine NO porastom težine KOPB-a.

Takvi se rezultati mogu objasniti malim uzorkom, ali se mora naglasiti da je veličina uzorka posljedica činjenice da je samo oko 10% oboljelih od KOPB-a, bez pridruženog komorbiditeta i

ne uzimaju lijekove koji utječu na interpretaciju biljega endotelne disfunkcije. Prednost je navedenih dvaju biljega endotelne disfunkcije u odnosu na ostale u njihovoj kliničkoj dostupnosti. Svakako na posljetku možemo zaključiti da procjena endotelne disfunkcije, obzirom na visoki postotak pridruženog komorbiditeta u KOPB-u jednako tako predstavlja i značajan prognostički čimbenik.

Poznavanje endotelne disfunkcije kod oboljelih od KOPB-a iznimno je korisno kako bi se identificirale osobe s povečanom opasnošću od razvoja kardiovaskularnog komorbiditeta, neovisno o prisutnosti već razvijenih rizičnih čimbenika. To bi omogučilo da se prepoznaju oboljeli u ranoj fazi kako bi se odmah pristupilo uklanjaju rizičnih čimbenika, te inteziviranju terapije. Pristup terapije odnosi se na farmakološki i nefarmakološki pristup. U ovom slučaju ponajprije je naglasak na farmakološkom pristupu, odnosno da se kod bolesnika započne sa primjenom inhibitora angiotenzin konvertaze, blokatorima angiotenzinskih receptora i statina, koji prema dosadašnjim istraživanjim pokazali značajnu ulogu u poboljšanju endotelne disfunkcije. Temeljeno na navedenim spoznajama ovo istraživanje imalo za cilj naglasiti važnost procjene endotelne disfunkcije, te inicijalne farmakološke intervencije kako bi se spriječile multisistemske posljedice KOPB-a.

Dostupne metode procjene endotelne disfunkcije, sa nagaskom na one neinvazivne nisu dovoljno standardizirane, odnosno podložne su brojnim utjecajima drugih fakrora rizika, te upalnih parametara. Istovremeno jedan od nedostataka drugih, ponajprije invazivnih metoda je njihova nedostupnost u svakodnevnoj kliničkoj praksi, te visoka cijena. Odabir biljega endotelne disfukcije koji su korišteni u ovom istraživanju imao je za cilj koristiti one koji su dostupni u svakodnevnoj kliničkoj praksi, a kako bi se na posljetku mogli i koristiti u daljnjem prognostičkom praćenju. Istovremeno utjecaj brojnih faktora na ispitivane biljege, predstavljao je glavno ograničenje istraživanja, rješenju tog problema pristupilo se na način da u istraživanje nisu pristupili ispitanici kod koji su prisutni faktori ili su uzimali medikamentoznu terapiju koja bi mogla utjecati na razinu korištenih biljega endotelne disfunkcije. Kao posljedica navednog malen broj bolesnika u skupini C i D prema težini KOPB-a, jer napredovanjem bolesti razvoj kardiovaskularnog komorbiditeta je znatno veći.

Rezultati istraživanja koji su pokazali da nema razlike u razini ispitivanih biljega endotelne disfunkcije kod oboljelig u stabilnom stadiju KOPB-a u odnosu na zdravu ispitivanu populaciju, pušača i nepušača. S patofiziološkog stajališta to znači da u nevedenoj skupini bolesnika prema

biokemijskim znakovima nije utvrđeno postojanje endotelne disfunkcije, što sa kliničkog stajališta znači da rano dijagnosticiranje bolesti, prestanak pušenja, te započinjanje liječenja odgovarajućom bronhodilatacijskom terapijom značajno pridonosi sprečavanju razvoja endotelne disfunkcije, a posljedično i multisistemskih komplikacija. Na temelju ovog može se zaključiti da povišene razine biljega endotelne disfunkcije u ranoj fazi predstvljala lošiji progonostički kriterij u smislu brže razvoja multisistemskih posljedica KOPB-a.

Na posljetku se može zaključiti da rano dijagnosticiranje bolesti, prestanak pušenja, te započinjanje liječenja odgovarajućom bronhodilatacijskom terapijom predstavlja značajno pridonosi sprečavanju razvoja endotelne disfunkcije, a posljedično i multisistemskih komplikacija.

Buduća bi istraživanja trebala utvrditi kako navedene biljege endotelne disfunkcije primijeniti u svakodnevnoj kliničkoj praksi kao prognostičke kriterije u praćenju sistemskih posljedica KOPB-a.

7. ZAKLJUČCI

- Porastom aktivnosti von Willenbrandova faktora smanjuje se razina izdisajnog dušikova oksida u skupini oboljelih od KOPB.

- Porast aktivnosti von Willenbrandova faktora praćen je porastom vrijednosti fibrinogena, koji također predstavlja jedan od biljega endotelne disfunkcije u skupini oboljelih, kontrolnoj skupini nepušača, dok je kontrolnoj skupini pušača korelacija također pozitivna, iako ne statistički značajna.

- Porastom težine KOPB-a, uzimajući u obzir razinu bronhoopstrukcije, subjektivno stanje oboljelih te rizik od egzacerbacije (skupine oboljelih A, B, C, D), nije utvrđena značajna razlika u razini vWf i izdisajnog NO.

- Sniženje vrijednosti FEV1 nakon primjene bronhodilatatora nije praćeno značajnim promjenama u razini vWf i izdisajnog NO u skupini oboljelih

- Nije utvrđena, značajna razlika u razini vWf između skupine oboljelih u stabilnom stadiju KOPB-a i kontrolne skupine zdravih (pušača i nepušača).

- U kontrolnoj skupini pušača utvrđena je statistički viša vrijednost izdisajnog NO u odnosu na skupinu oboljelih i kontrolnu skupinu nepušača jer aktivno pušenje transitorno povečava razinu izdisajnog NO.

- Niže vrijednosti *body mass indexa* u skupini oboljelih od KOPB-a prati porast aktivnost von Willenbrandova faktora.

8. SAŽETAK

Ključne riječi: KOPB, endotelna disfunkcija, von Willenbrandov faktor, izdisajni dušikov oksid, fibrinogen

Cilj istraživanja: Kronična opstruktivna plućna bolest multisistemska je bolest, jedan od vodećih uzroka mortaliteta i morbiditeta u svijetu. Cilj je ovog istraživanja procijenti razinu biljega endotelne disfunkcije vWF-a i izdisajnog dušikova oksida (NO) kod oboljelih od KOPB-a te usporediti njihovu razinu ovisno o stupnju težine KOPB-a.

Nacrt studije: Radi se o presječnom istraživanju koje uključuje tri skupine ispitanika: (1) skupinu oboljelih od KOPB-a, bez pridruženog komorbiditeta, (2) kontrolnu skupinu pušača, bez pridruženog komorbiditeta, (3) kontrolnu skupinu nepušača, bez pridruženog komorbiditeta

Ispitanici i metode: U istraživanje je uključeno ukupno 100 ispitanika, 60 oboljelih od KOPB-a bez pridruženog kardiovaskularnog komorbiditeta, a 40 ispitanika predstavlja kontrolne skupine. Ispitanici su učinili FeNO-test, spirometrijsko testiranje imjerenje difuzijskog kapaciteta za CO. Uzeti su im uzorci venske krvi za analizu razine vWf-a (metodom vWF:RCO), C-reaktivnog proteina (CRP), fibrinogena, kolesterola, triglicerida te je provedena analiza acidobaznog statusa. Oboljeli od KOPB-a potom su ispunili odgovarajuće upitnike - CAT-test i mMRC.

Rezultati: Istraživanje je pokazalo da je u skupini oboljelih odnos između vWf-a i izdisajnog NO-a negativan, što znači da su više vrijednosti vWf-a povezane s nižim vrijednostima izdisajnog NO-a. Usporedbom oboljelih ovisno težini KOPB-a nije utvrđena razlika u razini vWf-a [F (3, 56) = 0,24, p =,869], dok je, iako ne statistički značajna, najviša razina izdisajnog NO-a utvrđena u skupini A, a najniža u skupini D. Porast vrijednosti vWf-a praćen je porastom vrijednosti fibrinogena, još jednog biljega endotelne disfunkcije. Usporedbom aktualnih i bivših pušača unutar skupine oboljelih nije utvrđena statistički značajna razlika u razini ispitivanih biljega. Usporedbom oboljelih s kontrolnim skupinama nije utvrđena statistička razlika u razini vWf, dok je kontrolna skupina pušača imala statističke više vrijednosti izdisajnog NO. Kod oboljelih je utvrđena značajna, negativna, povezanost vWf-a s vrijednošću indeksa tjelesne mase (BMI).

Zaključak: Rezultati ovog istraživanja pokazali su da oboljeli u stabilnom stadiju KOPB-a, bez pridruženog kardiovaskularnog komorbiditeta nemaju biokemijske znakove endotelne disfunkcije, vWf-a i izdisajnog NO-a u odnosu na obje kontrolne skupine, pušača i nepušača.

9. SUMMARY

The assessment of endothelial dysfunction among patients with chronic obstructive pulmonary disease

The aim of the research: Chronic obstructive pulmonary disease is a multisystemic disease, one of the leading causes of mortality and morbidity. The aim of this research is to assess the level of the markers of endothelial dysfunction, vWf (von Willenbrand factor), and the exhaled nitric oxide (NO) among the patients with COPD and compare their level depending on the severity of COPD.

Study design: This is a cross-sectional research which includes three categories of subjects: (1) the group of patients with COPD without adjoining comorbidity, (2) the control group of smokers without adjoining comorbidity, (3) the control group of non-smokers without adjoining comorbidity.

Materials and methods: One hundred participants were included in this research, sixty of which had COPD without adjoining cardiovascular comorbidity, and forty subjects belonged to the control group. The subjects took the FeNO test, underwent spirometry testing and the measuring of the diffusion capacity of CO, samples were taken of their vein blood to analyze the level of vWf (using the vWf:RCO method), C-reactive protein (CRP), fibrinogen, cholesterol, triglycerides as well as the acid base status. COPD patients then filled in the corresponding questionnaires, CAT test, mMRC.

Results: The research has shown that in the ill-group the relation between vWf and exhaled NO was negative, which means that higher levels of vWf are associated with lower values of exhaled NO. By comparing the ill subjects depending of severity disease, a difference was established between the level of vWf [$F(3, 56) = 0.24$; $p = .869$], while, although statistically not significant, the highest level of exhaled NO was found in group A and the lowest in group D. The rise in the value of vWf is simultaneously followed by the rise of fibrinogen values, which is another marker of endothelial dysfunction. A comparison of current and former smokers in the group of ill subjects hasn't show any statistically significant difference in the levels of the markers. By

comparing patients with control groups weren't statistically difference in the level of vWf, while the control group of smokers had more statistical value exhaled NO.

Within the ill ones a significant, negative association of vWf with the readings of body mass index (BMI) was found.

Conclusion: The results of this research have shown that patients in stable stage COPD, without the associated cardiovascular comorbidities don't have biochemical sings of endothelial dysfunction, vWf and exhaled NO in comparison to both control groups, smokers and non-smokers.

Key words: **COPD, endothelial dysfunction, nitric oxide, von Willenbrand factor, fibrinogen**

10. LITERATURA

1. Goldcopd.org [homepage on the Internet]. London:Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2013. [updated February 2013; cited May 2013]. Available from: http://www.goldcopd.org/
2. Pavicic F, Tudoric N. Kronična opstruktivna plućna bolest. U: Francetić I, Jakšić B, Labar B, Vučelić B, urednici. Interna medicina. 2.izd. Zagreb:Naprijed; 2003; str. 707-14.
3. Gegick S, Coore HA, Bowling MR. Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Epidemiology, Management, and Impact on North Carolina. N C Med J. 2013;74:411-14.
4. Grumelli S, Corry DB, Song LZ. An immune basis for lung parenchymal destruction in chronic obstructive pulmonary disease and emphysema. Plos Med 2004;1:8.
5. Finkelstein R, Fraser RS, Ghezzo H, Cosio MG. Alveolar inflamation and its relation to emphysema in smokers. Am J Resp Crit Care Med 1995; 152:1666-1672.
6. Barmes PJ. New concepts in chronic obstructive pulmonary disease. Annu Rev Med 2003; 54: 113–29.
7. Rutgers SR, Timens W, Kaufmann HF. Comparison of induced sputum with bronchial wash, broncho–alveolar lavage and bronchial biopsies in COPD. Eur Respir J 2000; 15: 109–15.
8. Brightling CE, Monteiro W, Ward R. Sputum eosinophilia and short-term response to prednisolone in chronic obstructive pulmonary disease: a randomized controlled trial. Lancet 2000; 356: 1480–5.
9. Brantly M, Nukiwa T, Crystal RG. Molecular basis of alpha 1- antitrypsin deficiency. Am J Med 1988;84:13–27.
10. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. The Oxidative Stress Study Group. Am J Respir Crit Care Med 1997;156: 341–57.
11. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. Annu Rev Nutr 1996; 6: 33–50.
12. MacNee W. Oxidants/ antioxidants and COPD.Chest 2000;117:303–17.
13. Kim WD, Eidelman DH, Izquierdo JL. Centrilobular and panlobular emphysema in smokers. Two distinct morphologic and functional entities. Am Rev Respir Dis 1991; 144: 1385–90.

14. Matsuba K, Wright JL, Wiggs BR. The changes in airway structure associated with reduced forced expiratory volume in one second. Eur Respir J 1989; 2: 834–9.
15. Matanić D, Flego V, Barković I, Zeba I, Kupanovac Ž. Kronična opstruktivna plućna bolest-multisistemska bolest. Medicina 2009;45:60-4.
16. Smith C. COPD is systemic disease-the extrapulmonary manifestations.Respir.Med. CME. 2009;27:159-61.
17. Maclay JD, McAllister DA, MacNee W. Cardiovascular risk in COPD. Respirology. 2007;12:634-41.
18. Anthonisen NR, Connett JE, Enright PL, Manfreda J. Hospitalization and mortality in the Lung Heart Study. Am J Resp Crit Care Med. 2002; 166:333-39.
19. Clarenbach CF, Thurnheer R, Kohler M. Vascular dysfunction in chronic obstructive pulmonaray disease: current evidence and perspectives. Expert Rev Respir Med, 2012; 6:37-43.
20. Lee HM, Chung SJ, Lopez VA, Wong ND. Association of FVC and total mortality in US adults with metabolic syndrome and diabetes. Chest. 2009;136:171-76.
21. Manson JE, Ajani UA, Liu S, Nathan DM, Hennekens CH. A prospective study of cigarette smoking and the incidence of diabetes mellitus among US male physicians. Am J Med. 2000;109:538-42.
22. Van Staa TP, Leufkens HG, Cooper C. The epiemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a meta-analysis. Osteoporosis Int. 2002;13:777-87
23. Couillard A, Prefaut C. From muscule disuse to myopathy in COPD: potential contribution of oxidative stress. Eur Resp J.2005;26:703-19.
24. Wouters EF, Creutzberg EC, Schols AM. Systemic effects in COPD. Chest. 2002;121:121-30.
25. Norwood RJ. A review of etiologies of depression in COPD. Int J Chron Obstruct Pulm Dis. 2007;2:485-91.
26. Sevenoaks MJ, Stockley RA. Chronic obstructive pulmonary disease, inflammation and comorbidity–a common inflammatory phenotype? Resp Res. 2006;186:70-7.
27. Rizkallah J, Man SF, Sin DD. Prevalence of pulmonary embolism in acute exacerbations of COPD: a systematic review and meta-analysis. Chest. 2009; 135:786-93.

28. MacNee W. Update in chronic obstructive pulmonary disease 2007. Am J Resp Crit Care Med. 2008;177:820-9.
29. Agusti A. Systemic Effects of Chronic Obstructive Pulmonary Disease What We Know and What We Don't Know (but Should). Proc Am Thorac Soc. 2007;4:522-25.
30. Dubey S, Powell CA. Update in lung cancer. Am J Resp Crit Care Med 2008; 177:941-6.
31. Sin DD, Wu L, Anderson JA, Anthonisen NR, Buist AS, Burge PS i sur. Inhaled corticosteroids and mortality in chronic obstructive pulmonary disease. Thorax 2005; 60:992-7.
32. Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. J Am Soc Nephrol. 2004;15:1983-994.
33. Mizia-Steck K. Cytokines and adhesive molecules in detection of endothelial dysfunction Pharmacol Rep. 2006;58:21-32.
34. Bhagat K, Vallance P. Inflammatory cytokines impair endothelium-dependent dilatation in human veins in vivo. Circulation. 1997;96:3042-7.
35. Martin J, Collot-Teixeira S, McGregor JL. The dialogue between endothelial cells and monocytes/macropahges in vascular syndromes. Curr Pharm Des. 2007;13:1751-9.
36. Holvoet P, Collen D. Thrombosis and atherosclerosis. Curr Opin Lipidol. 1997;8:320-8.
37. Reiner Ž. Ateroskleroza. U:Vrhovac B i sur. Interna medicina. 4. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2008:568-73
38. Parker Iii C, Vita JA, Freedman JE. Soluble adhesion molecules and unstable coronary artery disease. Atherosclerosis. 2001;156:417-24.
39. Pekić S, Cvijović G, Stojanović M, Kendereski A, Micić D, Popović V. Hypopituitarisam as a late complication of hemorrhagic fever. Endocrine. 2005;26:79-82.
40. Ružić A, Miletić B, Nola AI, Peršić V, Ražov Radas M, Včev A. Endotelna disfunkcija u "enigmatskoj slagalici" kardiovaskularnih bolesti. Med Glas. 2009;6:2-15.
41. Scächinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. Circulation. 2000;101:1899–906.
42. Malik AB, Vogel SM, Minshall RD, Tiruppathi C. Pulmonary circulation and regulation of fluid balance. In: Murray JF, Nadel JA, eds. Textbook of Respiratory Medicine. 3 izdanje. Philadelphia, PA: WB Saunders; 2000:119–54.

43. West JB, Tsukimoto K, Mathieu-Costello O, Prediletto R. Stress failure in pulmonary capillaries. J Appl Physiol. 1991;70:1731–42.
44. Tsukimoto K, Mathieu-Costello O, Prediletto R, Elliott AR, West JB. Ultrastructural appearances of pulmonary capillaries at high transmural pressures. J Appl Physiol. 1991;71:573–82.
45. Albertine KH, Williams MC, Hyde DM. Anatomy of the lungs. U: Murray JF, Nadel JA, eds. Textbook of Respiratory Medicine. 3 izdanje. Philadelphia, PA: WB Saunders; 2000:3–33
46. Kasahara Y, Tuder RM, Taraseviciene-Stewart L, et al. Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. J Clin Invest. 2000;106:1311-19.
47. Arao T, Takabatake N, Sata M, Abe S, Shibata Y, Honma T. In vivo evidence of endothelial injury in Chronic Obstructive Pulmonary Disease by Lung scintigraphic assessment of ^{123}I-Metaiodobenzylguanidine. J Nucl Med; 2003;44:1747-54.
48. Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Budiwala MV, i sur. Endothelial dysfunction in stable COPD- a link between systemic inflammation and cardiovascular morbidity? Eur Respir J. 2006;28:756.
49. Gewaltig MT, Kojda G. Vasoprotection by nitric oxide: mechanisms and therapeutic potential. Cardiovasc Res. 2002;55:250-60.
50. Yang Q, Underwood, MJ, Hsin MKJ, Liu XC, He GW. Dysfunction of pulmonary vascular endothelium in chronic obstructive pulmonary disease: Basic considerations for future drug development. Current Drug Metabolism. 2008;9:661-67.
51. Lin GY, Blann A. von Willenbrand factor: a marker of endothelial dysfunction in vascular disoders? Cardiovasc Res. 1997;34:255-65.
52. Horvath B, Hegedus D, Szapary L, Marton Z, Alexy T, Koltai K, i sur. Measurement of von Wilenbrend factor as the marker of endothelial dysfunction in vascular diseases. Exp Clin Cardiol. 2004;9:31-4.
53. Sadler JE. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. Annu Rev Biochem. 1998;67:395–424.
54. Blann AD, McCollum CN. von Willebrand factor, endothelial cell damage and atherosclerosis. Eur J Vasc Surg. 1994;8:10–5.

55. Wang ZL. Evolving role of systemic inflammation in comorbidites of chronic obstructive pulmonary disease. Chin.Med. J. 2010;123:3467-78.
56. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cell in the relaxation of arterial smooth muscle by acetycholine. Nature 1980;288:373-6.
57. Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. Biochem Biophys Res Commun. 1991;181:852–7.
58. Mohammed F. S. Beg, Mohammad A. Alzoghaibi, Abdullah A. Abba, Syed S. Habib. Exhaled nitric oxide in stable chronic obstructive pulmonary disease. Ann Thorac Med. 2009;4(2):65–70.
59. Jones PW, Harding G, Berry P, Wiklund I, Chen WH, Kline Leidy N. Development and first validation of the COPD Assement Test. Eur Respir J. 2009;34:648-54.
60. Doherty DE, Belfer MH, Brunton SA, Fromer L, Morris MC, Snader TC. Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Consensus Recommendations for Early Diagnosis and Treatment. J Fam Pract. 2006;55:1-8.
61. Quanjer PhH TG, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault J-C. Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party "Standardization of lung function tests". European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. Eur Respir J. 1993;6(16):5-40.
62. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO i sur. An Official ATS Clinical Practice Guideline: Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FENO) for Clinical Applications. Am J Respir Crit Care Med. 2011; 184:602–15.
63. Hyatt RE, Scanlon PD, Nakamura M. Interptretation of pulmonary function tests-A practical guide. 2. izd. Philadelphia: Lippincot Williams and Wilkins;2003.
64. Tabachnick B, Fidell L. Using Multivariante Statitics. 5th Edition: Allyn & Bacon, Inc. Needham Heights, MA, USA;2006.
65. Howell DC. Statistical Methods for Psychology. 6. izd. London: Thomson;2006.
66. Hyde SJ. The Gender Smilarities Hypothesis. American Psychologist. 2005;60(6):581-92
67. Cohen J. Statistical power analysis for the behavioral sciences. Second Edition. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates, Publishers. 1988:25.

68. G*Power3 [homepage on the Internet]. Düsseldorf: 2013]. Available from:http://www.psycho.uni-duesseldorf.de/aap/projects/gpower/Institut für Experimental Psychologie.[uptaded August 2012; cited May
69. Eickhoff P, Valipour A, Kiss D, Schreder M, Cekici L, Geyer K i sur. Determinants of systemic function in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. Am Respir Crit Care Med. 2008;178:1211-8.
70. Gewaltig MT, Kojda G. Vasoprotection by nitric oxide: mechanisms and therapeutic potential. Cardiovasc Res. 2002;55:250-60.
71. Katz SD, Hryniewicz K, Hriljac I, Balidemaj K, Dimayuga K, Hudaihed A i sur. Vascular endothelial dysfunction and mortality risk in patients with chronic heart failure. Circulation. 2005;111:310-4.
72. Wang ZL. Evolving role of systemic inflammation in comorbidites of chronic obstructive pulmonary disease. Chin Med J. 2010;123:3467-78.
73. Bartholo T.P, Itajaha L, Rufino R, Costa C. The Relationship Between Von Willenbrand Factor And COPD Severity. Am J Respir Crit Care Med. 2012;185:A4513
74. Singh B, Biswas I, Garg I, Sugadev R, Singh AK, Dey S i sur. Von Willebrand factor antagonizes nitric oxide synthase to promote insulin resistance during hypoxia. Biochemistry. 2014;14(1):115-26.
75. Cella G, Sbarai A, Mazzaro G, Vanzo B, Romano S, Hoppensteadt D i sur. Plasma Munction in Chronic Markers of Endothelial Dysfunction in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Clin Appl Thromb Hemost. 2001;7(3):205-8.
76. Őzben B, Eryüksel E, Tanrikulu AM, Papila-Topal N, Celikel T, Basaran Y. Acute axcerbation impairs endothelial fnction in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Arch Turk Soc Cardiol. 2010;38(1):1-7
77. Engström G, Lind P, Hedblad B, Wollmer P, Stavenow L, Janzon L i sur. Lung function and cardiovascular risk: relationship with inflammation-sensitive plasma proteins. Circulation. 2002: 106:2555-60.
78. Friedman GD, Klastky AL, Siegelaub AB. Lung function and risk of myocardial infarction and sudden cardiac death. N Engl J Med 1976;294:1071-5.

79. Polatli M, Çakir A, Cildag O, Bolaman AZ, Yenisey C, Yenicerioglu Y. Microalbuminuria, von Willebrand Factor and Fibrinogen Levels as Markers of the Severity in COPD Exacerbation. J Thromb Thrombolysis. 2008;26:97-102.
80. Pernerstofer T, Stohlawetz P, Kapiotis S, Eichler HG, Jilma B. Partial inhibition of nitric oxide synthase primes the stimulated pathway of vWf-secretion in man. Atheroscler. 2000;148:43-7.
81. Koprivica Z, Djordjević D, Vuletić M, Živkovic V, Barudžić N, Andjelković N i sur. Von Wilenbrandov factor and Oxidative Stress Parameters in Acute Coronary Syndromes. Oxid Med Cell Longev 2011:918312.
82. Clini E, Bianchi L, Pagani M, Ambrosino N. Endogenous nitric oxide in patients with stable COPD: correlates with severity of disease. Thorax. 1998;53:881-3.
83. Maziak W, Loukides S, Culpitt S, Sullivan P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med. 1998;157:3998-4002.
84. Ansarin K, Chatkin JM, Ferreira IM, Gutierrez CA, Zamel N, Chpman KR. Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease: relationship to pulmonary function. Eur Respir J. 2001;17:934-8.
85. McCurdy MR, Sharafkhaneh A, Abdel-Monem H, Rojo J, Tittel FK. Exhalednitric oxide parameters and functional capacity in chronic obstructive pulmonary disease. J. Breath Res.2011;5 doi: 10.1088/1752-7155/5/1/016003.
86. Rouhos A, Kainu A, Piirila P, Sarna S, Lindqvist A, Karjalainen J, et al. Repeatability of exhaled nitric oxide measurements in patients with COPD. Clin Physiol Funct Imaging. 2011;31:26-31.
87. Liu J, Liang Q, Frost-Pineda K, Muhammad-Kah R, Rimmer L, Roethig H i sur. Cancer Epidemid Biomarkers Prev. 2011;20:1760-9.
88. Sabit R, Bolton CE, Edwars PH, Pettit RJ, Evans WD, McEniery CM i sur. Arterial stiffness and osteoporosis in chronic obsructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med. 2007;175:1259-65.
89. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C- reactive protein on human endothelial cells. Circulation. 2000;102:2165-68.

90. Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV i sur. A self-lefulfiling prophecy: C- reactive protein attenues nitric oxide production and inhibits angiogenesis. Circulation. 2002;106:913-19.
91. Lazović B. Correlation of CRP and Serum Level of Fibrinogen wity Severity of Disease in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients.Med Arh. 2012;66(3):159-60.
92. Sabit R, Thomas P, Shale D, Collins P, Linnane SJ. The Effecs of Hypoxia on Markers of Coagulation and Systemic Inflammation in Patients With COPD. Chest. 2010;138:47-51.
93. Song L, Dong X, Zhan Y. Changes of vWF in vascular endothelial cells with acute hypoxia. Zhonghma Xue Ye Xue Za Zhi. 2000;21(9)465-7.
94. Arregui MA, Ezquerra KL, López FC, Lacasa RC. Hypercoagulability state and endotelial injury in stable chronic obstructive pulmonary disease patients. An Sist Sanit Navar. 2010;33(1):43-50.
95. Belik J, Stevens D, Pan J, Shehnaz D, Ibrahim C, Kantores C i sur. Chronic hypercapnia downregulates arginase expression and activity and increases pulmonary arterial smooth muscle relaxation in the newborn rat. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2009;297:777–84.
96. McGarvey LP, John M, Anderson JA, Zvarich M, Wise RA. Ascertainment of cause—specific mortality in COPD: operations of the TORCH Clinical Endpoint Committee. Thorax. 2007;62:411-5.
97. Boldy DA, Short PE, Cowen P, Hill FG, Chambers DC, Ayres JG. Plasma levels of von Willenbrand Factor antigen in acute bronchitis and in a normla population. Respir Med 1998;92:395-400.
98. Kumari M, Marmot M, Brunner E. Social determinants of von Willebrand factor: the Whitehall II study. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2000;20:1842–7.
99. Sood A. Obesity, adipokines, and lung disease. J Appl Physiol. 2010;108:744–53.
100. Harik Khan RI, Fleg JL, Wise RA. Body Mass Index and the Risk of COPD. Chest 2002;121:370–76.
101. Higashi Y, Sasaki S, Nkagawa K, Kimura M, Noma K, Sasaki S i sur. J Am Coll Cardiol. 2003;42:25-63.

102. Murrow JR, Sher S, Ali S, Uphoff I, Patel R, Porkert M i sur. The differential effect of statins on oxidative stress and endothelial function: Atorvastatin versus pravastatin. J Clin Lipidol. 2012;6:42-9.
103. Bando M, Miyazawa T, Shinohara H, Owada T, Terakado M, Sugiyama Y. An epidemiological study of the effects of statin use on airflow limitation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Respirology. 2012;17:493-8.
104. Wanner A, Mendes ES. Airway Endothelial Dysfunction in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Am J Respir Crit Care Med. 2010;182:1344-51.
105. Mendes ES, Cancado JE, Rebolledo P, Arana J. Airway Vascular Endothelial Function in Healty Smokers Without Systemic Endothelial Dysfunction. Chest. 2013;143:1733-39.

11. ŽIVOTOPIS

Lana Maričić, dr.med
Adresa: J.Huttlera 20 c, Osijek
Telefon: 098/9359-695; 031/564-784
e-pošta: lana.maricic@gmail.com
Državljanstvo: hrvatsko
Mjesto rođenja: Osijek
Datum rođenja: 6.1.1984.

OBRAZOVANJE

- 2002. – 2008. studij medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku
- 2009. državni ispit
- od 2009. Poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo na Medicinskom fakultetu Sveučilišta J.J Strossmayera u Osijeku

RADNO ISKUSTVO

- 2008. -2009. liječnički pripravnički staž u Kliničkom bolničkom centru Osijek
- 2010.- 2014. specijalizant interne medicine na Klinici za internu medicinu KBC-a Osijek
- od 2014. specijalist interne medicine na Klinici za internu medicinu KBC-a Osijek

STIPENDIJE

- 2003. - 2004. stipendija Sveučilišta J. J. Strossmayera
- 2004. – 2008. stipendija Osječko – baranjske županije
- 2007. nagrada Lions Club Osijek za uspješno studiranje
- 2010. potpora za poslijediplomski studij Osječko – baranjske županije
- 2011. potpora za poslijediplomski studij Osječko – baranjske županije
- 2012. potpora za poslijediplomski studij Osječko – baranjske županije

USAVRŠAVANJE

- 2010. Osijek, Medicinski fakultet Osijek, Poslijediplomski tečaj trajnog usavršavanja: Klinički terapijski pokus
- 2010. Osijek, Medicinski fakultet Osijek, Poslijediplomski tečaj trajnog usavršavanja: Dijagnostika i liječenje upalnih bolesti crijeva
- 2012. Osijek, Medicinski fakultet Osijek, Poslijediplomski tečaj trajnog usavršavanja: Klinička prehrana

OSOBNE VJEŠTINE I KOMPETENCIJE

- 2009. diploma o završenom tečaju engleskog jezika

TEHNIČKE VJEŠTINE I KOMPETENCIJE

- 2009. diploma ECDL-specijalist

ORGANIZACIJE

- od 2009. član Hrvatske liječničke komore

PUBLIKACIJE

- **Maričić L**, Včeva A, Višević R, Včev A, Milić M, Šerić V, Fijačko V. Assessment of Endothelial Dysfunction by Measuring Von Willenbrand Factor and Exhaled Nitric Oxide in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Coll Antropol 2013;37(4):1153-60.
- **Maričić L**, Višević R, Včeva A, Včev A, Labor S. Procjena rizika za sindrom apneje u spavanju i prekomjerne dnevne pospanosti u bolesnika oboljelih od kronične opstruktivne plućne bolesti. Acta Med Croatica. 2013;(67):219-24
- **Maričić L**, Včeva A, Včev A, Zubčić Ž. The Role of Tonsillectomy in the Prevention of Helicobacter Pylori Infection. Coll Antropol 2011: prihvaćen za objavu
- Džumhur A, **Maričić L**, Jelić K, Makarović S. Case report- pulmonary embolism and necessity of echocardiography use in Emergency Department. Cardiologia Croatica. 2013;8(5-6):212 – prošireni sažetak

- Višević R, Ručević S, **Maričić L**, Prus V, Milas-Ahić J, Kovačević I. Utility of six minute walking test in systemic sclerosis, experience from 20 Croatian patients (3rd Systemic Sclerosis World Congress) - poster
- **Maričić L**, Višević R, Škrinjarić-Cincar S, Fijačko V, Labor S, Begić I, Čuljak V. Klinička obilježja novootkrivenih karcinoma pluća na Odjelu za pulmologiju KBC Osijek u 2011. godini (7. Hrvatski internistički kongres s međunarodnim sudjelovanjem) Liječ Vjesn 2012:133(Supl.3) – poster
- Čuljak V, Knezović A, Sinčić-Petričević J, Ladenhauser T, Marković M, Kojić B, Marijanović M, **Maričić L.** Liječenje difuznih B velikostaničnih limfoma-iskustva KBC Osijek. (7. Hrvatski internistički kongres s međunarodnim sudjelovanjem) Liječ Vjesn 2012:133(Supl.3) - poster
- Begić I, Višević R, Jakić M, Zibar L, Milas-Ahić J, Prus V, **Maričić L**, Minažek M. Sklerodermijska bubrežna kriza-prikaz bolesnice. (7. Hrvatski internistički kongres s međunarodnim sudjelovanjem) Liječ Vjesn 2012:133(Supl.3) -poster