



UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET



VALENTINA T. MITIĆ

**ANALIZA BIOMARKERA MIOKARDNOG
REMODELOVANJA I NJIHOV ZNAČAJ U PROCENI
KLINIČKIH PARAMETARA KOD PACIJENATA SA
HRONIČNOM SRČANOM SLABOŠĆU**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Niš, 2020.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



VALENTINA T. MITIĆ

**THE ANALYSIS OF CARDIAC REMODELING
BIOMARKERS AND THEIR SIGNIFICANCE IN THE
ASSESSMENT OF CLINICAL PARAMETERS IN
PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE**

DOCTORAL DISSERTATION

Niš, 2020.

Podaci o doktorskoj disertaciji

Mentor:	Doc. dr Dijana Stojanović, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu
Naslov:	Analiza biomarkera miokardnog remodelovanja i njihov značaj u proceni kliničkih parametara kod pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću
Rezime:	<p>Uvod. Srčana insuficijencija predstavlja heterogen klinički sindrom koji se karakteriše simptomima i znacima nastalim usled strukturnih i/ili funkcionalnih abnormalnosti miokarda. To dovodi do smanjenja istisne moći srca ili do porasta intrakardijalnog pritiska u stanju napora ili mirovanja. Biomarkeri miokardnog remodelovanja, za koje postoje relevantni dokazi da bi se mogli koristiti u kliničkom radu u svrhu monitoringa, prognoze i stratifikacije rizika kod pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću su: solubilni supresor tumorigeneze 2 (sST2), galektin-3, faktor rasta i diferencijacije 15 (GDF-15) i sindekan-1.</p> <p>Ciljevi studije. Ciljevi istraživanja proizašli su iz hipoteze da ukoliko biomarkeri miokardnog remodelovanja reflektuju različite patofiziološke mehanizme tokom nastanka i progresije srčane slabosti, njihove koncentracije bi se značajno razlikovale u odnosu na stratifikaciju pacijenata prema jačini ejeckione frakcije. Nakon toga, treba utvrditi moguće korelacije ovih biomarkera sa relevantnim kliničkim, laboratorijskim i ehokardiografskim karakteristikama u podgrupama klasifikovanim kao očuvana, granična i redukovana ejeckiona frakcija. Konačno, neophodno je utvrditi koji se od ispitivanih biomarkera miokardnog remodelovanja izdvajaju kao faktori rizika (u univarijantnom i multivarijantnom modelu) za promenu različitih kliničkih i funkcionalnih parametara, u podgrupama ispitanika podjeljenih prema jačini ejeckione frakcije.</p> <p>Pacijenti i metode istraživanja. Ova studija preseka realizovana je u Institutu za lečenje i rehabilitaciju „Niška Banja” u Niškoj Banji i uključila je 77 pacijenata sa postavljenom dijagnozom hronične srčane insuficijencije. Dijagnoza srčane slabosti postavljena je prema aktuelnim ESC preporukama (2016). Svim učesnicima ispitivanja određeni su osnovni klinički, funkcionalni i biohemijski parametri, a nakon toga klasifikovani su prema kategoriji ejeckione frakcije, na pacijente sa očuvanom ejeckionom frakcijom (>50%), sa graničnom (40-49%) i redukovanom ejeckionom frakcijom (<40%).</p> <p>Rezultati. Koncentracije svih ispitivanih biomarkera bile su najviše u grupi pacijenata sa redukovanom ejeckionom frakcijom i najniže kod pacijenata sa očuvanom ejeckionom frakcijom, $p < 0,001$. U grupi očuvane ejeckione frakcije biomarkeri miokardnog remodelovanja nezavisno su korelisali sa indeksom mase leve komore: sST2 ($p=0,002$), galektin-3 ($p < 0,001$), GDF-15 ($p=0,011$), sindekan-1 ($p=0,006$), dok je galektin-3 značajno korelisao i nakon multivarijantnog prilagođavanja, ($p=0,001$). Značajna i nezavisna</p>

korelacija dokazana je između parametara koji ukazuju na hipertrofiju leve komore i koncentracija biomarkera: septum/zadnji zid i sST2 (p=0,019; p=0,026), galektin-3 (p=0,011; p=0,009), GDF-15 (p=0,007; p=0,001) i sindekan-1 (p=0,005; p=0,002), ali samo kod pacijenata sa očuvanom ejeccionom frakcijom. U grupi pacijenata sa redukovanom ejeccionom frakcijom, samo sST2, nakon multivarijantnog prilagođavanja, korelisao je sa indeksom mase leve komore, (p=0,010), dok je koncentracija BNP u plazmi nezavisno korelisala sa LVMI (p=0,002) i jačinom ejeccione frakcije (p=0,001). Koncentracija GDF-15 u plazmi značajno je korelisala sa stepenom dijasolne disfunkcije, u grupi pacijenata sa očuvanom (p=0,046) i redukovanom ejeccionom frakcijom (p=0,024).

Zaključak. Biomarkeri miokardnog remodelovanja poseduju značajan prediktorni potencijal i mogu se smatrati cirkulišućim indikatorima za hipertrofiju leve komore, ali samo u populaciji pacijenata sa ejeccionom frakcijom>50%. Na taj način mogu da se koriste u svrhu stratifikacije rizika, što bi omogućilo blagovremenu identifikaciju pacijenata koji su pod povećanim rizikom za progresiju bolesti.

Naučna
oblast:
Naučna
disciplina:

Medicinske nauke

Patofiziologija

Ključne reči:

BNP, EF, galektin-3, GDF-15, sindekan-1, sST2,
srčana insuficijencija sa očuvanom EF, srčana insuficijencija sa
graničnom EF, srčana insuficijencija sa redukovanom EF

UDK:

616.12-008.46-036.1-074(043.3)

CERIF
klasifikacija:

B 530

Tip licence
kreativne
zajednice:

CC BY-NC-ND

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral
Supervisor:

Assistant Professor, Dijana Stojanović,
Faculty of Medicine, University Niš

Title:

The analysis of cardiac remodeling biomarkers and their significance in the assessment of clinical parameters in patients with chronic heart failure

Abstract:

Introduction. Heart failure (HF) is a heterogeneous clinical syndrome characterized by signs and symptoms caused by structural and/or functional cardiac abnormalities, resulting in reduced cardiac output or elevated intracardiac pressures during stress or rest. Cardiac remodeling biomarkers which are currently supported with relevant evidence regarding their monitoring and prognostic accuracy in chronic HF include: the soluble suppressor of tumorigenicity 2 (sST2), galectin-3, growth differentiation factor (GDF)-15 and syndecan-1.

Aim of the study. We established new objectives: by reflecting different pathophysiological processes in the course of HF progression, our hypothesis was that concentrations of cardiac remodeling biomarkers (sST2, galectin-3, GDF-15, syndecan-1) and BNP may vary significantly according to patients' classification based on the left ventricular ejection fraction (LVEF). Afterwards, we sought to assess the possible correlations of these biomarkers with relevant clinical, laboratory, and echocardiographic characteristics in the HF subgroups with: reduced, mid-range and preserved ejection fraction. Finally, we wanted to establish which biomarkers may be considered as predictors (independent and after multivariable adjustments) of changes in different clinical and echocardiographic parameters.

Patients and methods. This cross-sectional, single-center study was conducted at the Institute for Treatment and Rehabilitation „Niska Banja”, Niska Banja, and included 77 patients previously diagnosed with chronic heart failure, regardless of etiology. The diagnosis of HF was clinically confirmed according to current ESC 2016 guidelines. All patients underwent complete medical history assessment, physical examination, standard 12-lead electrocardiography, blood sampling, echocardiography and exercise stress test and afterwards the results were analyzed according to the stratification based on the ejection fraction category.

Results. We found that plasma concentrations of four cardiac remodeling biomarkers were highest in HFrEF and lowest in HFpEF, $p < 0.001$. In HFpEF, remodeling biomarkers independently correlated with LVMI: sST2 ($p = 0.002$), galectin-3 ($p < 0.001$), GDF-15 ($p = 0.011$), syndecan-1 ($p = 0.006$), whereas galectin-3 correlated after multivariable adjustments ($p = 0.001$). Independent correlates of septum/posterior wall diameters, in HFpEF, were: sST2 ($p = 0.019$; $p = 0.026$), galectin-3 ($p = 0.011$; $p = 0.009$), GDF-15 ($p = 0.007$; $p = 0.001$), syndecan-1 ($p = 0.005$; $p = 0.002$). In HFrEF, only sST2,

adjusted, correlated with LVMI ($p=0.010$), whereas BNP independently correlated with LVMI ($p=0.002$), and EF ($p=0.001$). GDF-15 correlated with diastolic dysfunction in HFpEF ($p=0.046$) and HFrEF ($p=0.024$).

Conclusion. Cardiac remodeling biomarkers may be potential circulating markers of LV hypertrophy in HFpEF, which may help initiate the timely recognition of high-risk patients for disease progression.

Scientific Field: Medicine

Scientific Discipline: Pathophysiology

Key Words: BNP, ejection fraction, galectin-3, GDF-15, HFpEF, HFmrEF, HFrEF, sST2, syndekan-1

UDC: 616.12-008.46-036.1-074(043.3)

CERIF Classification: B 530

Creative Commons License Type: CC BY-NC-ND

Kada je američki astronaut Neil Armstrong prvi put zakoračio na tlo Meseca, izgovorio je da je to mali korak za njega, ali veliki za čovečanstvo. Iako je malo ljudi u životu imalo priliku učiniti male korake za čovečanstvo, a opet velike za nas, usudila sam se da se i ja oprobam u tom "iskoraku", za mene dosad možda i najvećem. Nisam se plašila, jer sam znala da uz sebe imam ljude na koje se mogu osloniti.

Ova stranica pisanih reči premalo je prostora da bih se zahvalila svima koji su u taj moj "korak" ugradili deo sebe.

Pre svega se zahvaljujem doc. dr Dijani Stojanović, na mentorstvu i stručnom vođstvu tokom izrade ove doktorske disertacije. Pravom učitelju, koji mi je pružio priliku da budem njen učenik i koja je iskreno verovala u mene. Prijatelju, koji je bio tu da me vrati na pravi put, kada bih zalutala...Hvala joj na neprocenjivoj pomoći i velikoj podršci, doslednosti i posvećenosti u istraživačkom radu, počev od ideje, teme i metodologije ove disertacije, nabavke reagenasa, laboratorijskog dela, preko sređivanja i tumačenja rezultata, do pisanja i uobličavanja disertacije.. Hvala joj što je u svakom pogledu doprinela da ova disertacija imponuje kvalitetom i da se sa pravom svrstava u teze od izuzetnog naučnog značaja.

Srdačno se zahvaljujem predsednici Komisije, prof. dr Vladmili Bojanić i prodekanici, prof. dr Gordani Kocić na potpunom poverenju i oceni doktorske disertacije.

Posebno, iskrenu i veliku zahvalnost dugujem mojoj direktorki prof. dr Marini Deljanin Ilić, koja je nesebično verovala u moje ideje i dozvolila mi da ih sprovedem. Hvala joj na svojim doslednim stavovima i svim korisnim sugestijama..

Takođe se zahvaljujem prof. dr Branku Beleslinu, sa Fakulteta medicinskih nauka iz Beograda na saradnji i učešću u oceni ove disertacije. Hvala Vam još jednom što ste bez razmišljanja i ikakvog pogovara prihvatili da budete deo mog "iskoraka".

Veoma sam zahvalna doc. dr Aleksandri Ignjatović, iz Instituta za javno zdravlje, na preciznoj statističkoj obradi dobijenih rezultata.

Zahvaljujem se i asst. Vladimiru Mitiću, sa Elektronskog fakulteta u Nišu, oko pomoći u rešavanju tehničkih zagonetki, koje su na prvi pogled izgledale nerešive.

Veliku zahvalnost na pomoći i lepoj saradnji dugujem i svim lekarima, mojim kolegama klinike za Kardiologiju, odeljenja rehabilitacije "D" i odeljenja za funkcionalnu dijagnostiku "Instituta Niška Banja", kao i svim medicinskim sestram, a posebno se zahvaljujem doc. dr Dejanu Petroviću na nesebičnoj pomoći u odabiru pacijenata i njihovom ehokardiografskom sagledavanju, kao i koleginici i najboljem prijatelju dr Sandri Šarić na pomoći u obradi pacijenata, podršci na svim poljima i razumevanju. Ostalim kolegama i svim prijateljima koji su me podržavali i iskreno me savetovali...

Takođe se zahvaljujem kliničkom biohemičaru dr Jeleni Stojković i svim laborantkinjama Biohemijske laboratorije Instituta Niška Banja, koji su pokazali visok stepen razumevanja i pomogli mi u laboratorijskom radu.

Veliku zahvalnost i nesebičnu ljubav dugujem svojim roditeljima, sestri i mojoj Anki, koji su mi u teškim vremenima iza nas, olakšali da istrajem u svojim snovima i nadmašim svoja očekivanja.

I na kraju, naravno, moja inspiracija i izvor snage je moja porodica, moj sin Vasilije i moj suprug Peđa, koji su me bezgranično voleli, razumeli, podržavali i onda kada sam to najmanje zasluživala...nadoknadiću im sve propušteno...

Autor

„Kada sam se usudila da budem moćna, da koristim svoju snagu radi svoje vizije, tako mi je postojalo sve manje i manje važno da li se plašim. I onda sam uspela...“

Odri Lord

Mom sinu Vasiliju.....

Sadržaj

1.0. Uvod	1
2.0. Pregled literature	3
2.1. Istorijski pregled srčane insuficijencije	3
2.2. Epidemiološki aspekti srčane insuficijencije	4
2.3. Etiopatogenetski aspekti srčane insuficijencije prema kategoriji ejakcione frakcije.....	6
2.3.1. Etiopatogenetski aspekti srčane insuficijencije sa očuvanom ejakcionom frakcijom	6
2.3.2. Patofiziologija srčane insuficijencije sa očuvanom ejakcionom frakcijom.....	7
2.3.3. Etiopatogenetski aspekti srčane insuficijencije sa graničnom ejakcionom frakcijom	12
2.3.4. Patofiziologija srčane slabosti sa graničnom ejakcionom frakcijom.....	13
2.3.5. Etiopatogenetski aspekti srčane insuficijencije sa redukovanom ejakcionom frakcijom	15
2.3.6. Patofiziologija srčane insuficijencije sa redukovanom ejakcionom frakcijom.....	16
2.3.7. Uloga sistema renin angiotenzin aldosteron u patogenezi srčane insuficijencije sa redukovanom ejakcionom frakcijom	18
2.3.8. Uloga simpatičkog nervnog sistema u patogenezi srčane insuficijencije sa redukovanom ejakcionom frakcijom	19
2.3.9. Uloga periferne vaskulature u patogenezi srčane insuficijencije sa redukovanom ejakcionom frakcijom	20
2.4. Patogenetski aspekti remodelovanja leve komore	21
2.4.1. Promene u biologiji kardiomiocita	22
2.4.2. Promene u ekstracelularnom matriksu	24
2.4.3. Promene u geometriji leve komore	25
2.5. Biomarkeri u srčanoj insuficijenciji	26
2.5.1. Biologija i struktura natriuretskih peptida	30
2.5.2. Uloga i mesto B-tipa natriuretskog peptida u hroničnoj srčanoj insuficijenciji	32
2.5.3. Biologija i struktura solubilnog supresora tumorigeneze 2	33
2.5.4. Uloga i mesto solubilnog supresora tumorigeneze 2 u hroničnoj srčanoj insuficijenciji	37
2.5.5. Biologija i struktura galektina-3	38
2.5.6. Uloga i mesto galektina-3 u hroničnoj srčanoj insuficijenciji	39
2.5.7. Biologija i struktura faktora rasta i diferencijacije 15	42
2.5.8. Uloga i mesto faktora rasta i diferencijacije 15 u hroničnoj srčanoj insuficijenciji	43
2.5.9. Biologija i struktura sindekana-1	46
2.5.10. Uloga i mesto sindekana-1 u hroničnoj srčanoj insuficijenciji	48
3.0. Ciljevi istraživanja	51
3.1. Ciljevi istraživanja	51
3.2. Hipoteze istraživanja.....	52

4.0. Ispitanici i metode istraživanja	53
4.1. Karakteristike ispitanika i dizajn studije.....	53
4.2. Dijagnoza srčane insuficijencije	54
4.2. Metode ispitivanja.....	55
4.2.1. Merenje krvnog pritiska.....	56
4.2.2. Ehokardiografski pregled.....	56
4.2.3. Test fizičkim opterećenjem.....	58
4.2.4. 24h-elektrokardiogramski monitoring	59
4.2.5. Osnovne hematološke i biohemijske analize	60
4.2.6. Određivanje koncentracije BNP i biomarkera miokardnog remodelovanja	61
4.3. Statističke analize.....	62
5.0. Rezultati	63
5.1. Osnovne karakteristike ispitanika kliničke i kontrolne grupe.....	63
5.2. Određivanje faktora rizika za promenu različitih funkcijskih parametara kod ispitanika kliničke grupe.....	69
5.3. Rezultati u odnosu na kategoriju ejeckione frakcije	74
6.0. Diskusija	95
6.1. Kliničko-biohemijski profil pacijenata sa srčanom insuficijencijom klasifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije.....	95
6.2. Koncentracije ispitivanih biomarkera miokardnog remodelovanja kod pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću	99
6.2.1. Koncentracije solubilnog ST2 u hroničnoj srčanoj slabosti	99
6.2.2. Koncentracije galektina-3 u hroničnoj srčanoj slabosti	105
6.2.3. Koncentracije faktora rasta i diferencijacije 15 u hroničnoj srčanoj slabosti	111
6.2.4. Koncentracije sindekana-1 u hroničnoj srčanoj slabosti.....	116
6.3. Korelacija biomarkera miokardnog remodelovanja i BNP sa ehokardiografskim parametrima stratifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije	121
6.4. Fenotipizacija pacijenata sa očuvanom ejeckionom frakcijom	129
7.0. Zaključak	134
8.0. Literatura	138
Lista slika	153
Lista tabela	154
Lista grafikona	156
Lista skraćenica	157
Biografija autora	160

1.0. Uvod

Srčana insuficijencija je kompleksan klinički sindrom u čijoj osnovi se nalazi poremećaj strukture i/ili funkcije srca, sa nemogućnošću adekvatne oksigenacije tkiva i održavanja ukupnog metabolizma. Bez obzira na to što brojni etiološki faktori čine srčanu slabost izuzetno heterogenim stanjem, za kasnije faze bolesti karakterističan je razvoj gotovo identičnih kompenzatornih mehanizama, koji u daljoj evoluciji postaju nezavisni od inicijalnog uzroka. Neurohormonski odgovor (aktivacija sistema renin angiotenzin aldosteron i simpatičkog nervnog) predstavlja centralni patofiziološki događaj u “kontinuumu srčane slabosti” kojim započinje začarani krug brojnih neželjenih reakcija, sa završnim remodelovanjem miokarda i gubitkom funkcije srca.

Hronična srčana insuficijencija predstavlja jedan od vodećih uzroka morbiditeta i mortaliteta u zemljama razvijenog sveta. Stepenn prevalencije i incidencije obolevanja zavise od dizajna studije i primenjene metodologije, ali rezultati najvećeg broja istraživanja pokazuju da od srčane slabosti boluje 1-2% populacije mlađih od 60 godina, sa porastom obolelih više od 10%, u populaciji starijih od 75 godina. Pomenuti procenti se još više uvećavaju kada se istraživanjem obuhvate i pacijenti sa asimptomatskom disfunkcijom leve komore. Od ukupnog broja obolelih, procenjeno je da se 0,1% populacije nalazi u uznapredovaloj fazi bolesti, dok na transplantaciju čeka 0,001% stanovništva. Rezultati brojnih istraživanja ukazali su da rizik od obolevanja u 40 godini iznosi 20-21%, odnosno da u periodu od 45 godina, taj rizik iznosi 20% do 42%, u zavisnosti od pola i etničke pripadnosti. Ukoliko se uzme u obzir da je poslednjih godina poboljšano preživljavanje pacijenata sa akutnim kardiovaskularnim događajima i da je populacija generalno starija, pretpostavljena prevalencija obolevanja od srčane slabosti za narednih 20 godina iznosi 25%.

Osim što je značajan medicinski problem, srčana slabost je važna i sa ekonomskog aspekta svakog zdravstvenog osiguranja. Troškovi vezani za lečenje pacijenata obuhvataju 2-3% ukupnih izdataka zdravstvenog sistema u zemljama sa visokim dohotkom, a procena eksperata je da će ti troškovi biti povećani za više od 200% u narednih 20 godina. Pacijenti sa

srčanom slabošću su suočeni sa lošom prognozom, velikim brojem ponavljanih hospitalizacija i mortalitetom, od 6-7% na godišnjem nivou za pacijente sa stabilnom bolešću, do 25% godišnje za pacijente sa akutnom dekompenzacijom. O težini bolesti ilustrativno govori i podatak da je petogodišnje preživljavanje bolesnika sa srčanom insuficijencijom u potpunosti izjednačeno sa preživljavanjem kod malignih bolesti.

Aktuelni biomarkeri koji se koriste za postavljanje dijagnoze, praćenje pacijenata i prognozu su natriuretski peptidi. Istovremeno, bolje razumevanje heterogenosti u patogenezi srčane slabosti dovelo je do mogućnosti uvođenja panela biomarkera koji bi mogli da ukažu na procese inflamacije, oksidativnog stresa, nekroze, remodelovanja, neurohormonske aktivacije i slično. Tako predložena "multimarker" strategija bi sa kliničkog aspekta mogla da bude od velike koristi, jer bi se na taj način povećali senzitivnost i specifičnost dijagnostičkog procesa. Procenjeno je da markeri remodelovanja mogu da imaju, ne samo prognostički značaj, već i značajnu ulogu u proceni najadekvatnijeg tretmana ovih pacijenata.

Srčana slabost je prema preporukama Evropskog vodiča za lečenje srčane slabosti 2016, prema stepenu ejeckione frakcije (EF), po prvi put, podeljena na tri tipa, srčanu slabost sa redukovanom EF<40%, srčanu slabost sa "graničnom" EF 40-49% i srčanu slabost sa očuvanom ejeckionom frakcijom EF>50%. S obzirom na to da se srčana slabost sa graničnom ejeckionom frakcijom, po prvi put, pominje kao poseban klinički entitet i da ti pacijenti do sada nisu uključivani u velike kliničke studije, ne zna se dovoljno o njihovom epidemiološkom, patofiziološkom ili biohemijskom profilu. Na osnovu raspoložive literature, ne može se utvrditi da li je srčana slabost sa "graničnom" EF poseban klinički entitet ili je samo prelazna forma između srčane slabosti sa očuvanom i redukovanom EF. Ovakva klasifikacija srčane slabosti otvorila je potpuno novo polje istraživanja i pružila mogućnost da se „granični“ pacijenti, ispituju kao posebna grupa, te da se na taj način dobiju kompletni podaci o njihovom stepenu morbiditeta i mortaliteta i formira zaseban dijagnostičko-terapijski algoritam koji bi važio ekskluzivno za ovu grupu pacijenata [1, 2].

Navedeni podaci pozicioniraju srčanu slabost kao jedan od vodećih zdravstvenih problema današnjice i naglašavaju potrebu za razvojem dijagnostičkog algoritma kojim bi se što je ranije moguće postavila dijagnoza. Takav algoritam bi takođe trebalo da olakša identifikaciju pacijenata koji su pod povećanim rizikom za obolevanje i da omogući bolju stratifikaciju rizika kod obolelih. Interesovanje istraživača za otkrivanje cirkulišućih biomarkera koji bi predstavljali okosnicu takvog algoritma je u porastu, o čemu svedoči veliki broj publikacija i saopštenja.

2.0. Pregled literature

2.1. Istorijski pregled srčane insuficijencije

Srčana insuficijencija se kao fenomen “poremećaja zdravlja” pominje već u najranijim zapisima o ljudskim isceliteljskim praksama. Veruje se da najstariji, dobro opisani slučaj dekompenzovane srčane insuficijencije predstavljaju nalazi stari 3500 godina, otkriveni u Dolini kraljeva. Prema zapisima sa papirusa, još su u drevnom Egiptu bile poznate i druge komponente srčane slabosti, srčana hipertrofija i koronarna ateroskleroza [3]. Istovremeno u grčkim i rimskim tekstovima postoje opisi edema, dispneje i anasarke, što bi moglo biti pripisano srčanoj insuficijenciji. Hipokrat je još tada opisao zvuk krkljanja „kada se uho drži na grudima i sluša neko vreme, može se čuti zvuk koji stvara sliku vrenja sirćeta u unutrašnjosti“ i dao predlog evakuacije te tečnosti kroz „otvor izbušen u grudnom košu“. U Kini, 2600 godina p.n.e. takođe se raspravljalo o “otocima punim tečnosti, a na Bliskom istoku objavljen je zapis „Knjiga o lekovima za bolesti srca“ o terapijama za poteškoće u disanju, palpitaciji i sinkopi. Prekratnicu za razumevanje hemodinamskih abnormalnosti kod srčane insuficijencije doneo je Vilijam Harvi 1628. godine jasnim opisom anatomije i funkcije cirkulatornog sistema. Sve tadašnje procene hipertrofija i dilatacija nastale su pored bolesničkih postelja procesima palpacije, perkusije i auskultacije, a na kraju potvrđene autopsijom, do otkrivanja rentgenskih zraka 1895. godine. Ključni momenat u razumevanju patofiziologije srčane slabosti, u 19. veku, predstavlja publikacija E. H. Starlinga „Zakon srca“. U novijoj istoriji srčane insuficijencije od značaja je uvođenje pomoćnih uređaja za levu komoru, šezdesetih godina prošlog veka, koji su trenutno redukovali simptome kod pacijenata, a prva transplantacija srca bila je izvedena 1967. godine u Kejptaunu [4].

Istraživanja krajem dvadesetog veka definisala su srčanu insuficijenciju kao neuroendokrino oboljenje, što je dovelo do uvođenja novih farmakoloških mera (inhibitori angiotenzin-konvertujućeg enzima i β -blokatori), za koje je dokazano da smanjuju rizik od smrti i broj ponavljanih hospitalizacija i da utiču na remodelovanje komora. U prvoj deceniji

21. veka došlo je do uvođenja implantabilnog kardioverter defibrilatora (ICD), koji je kasnije usavršen sa ciljem resinhronizacije kontrakcija komora, što je povećalo njihovu kontraktilnost, smanjilo sekundarnu mitralnu regurgitaciju, smanjilo ventrikularno remodelovanje i poboljšalo jačinu ejeckione frakcije [4].

Danas je tretman srčane insuficijencije, od dijagnostike, do lečenja i praćena, okrenut molekularnoj biologiji, generici i stem ćelijama. Smatra se da bi vrhunac ovakvih istraživanja predstavljala proizvodnja humanog srčanog grafta, pri čemu su rezultati, za sada, još uvek neizvesni. Srčana insuficijencija je bolest našeg vremena, poznata od davnina i još uvek predstavlja veliki izazov za istraživače i doktore koji se bave kliničkim radom, kako poboljšati kvalitet života i produžiti životni vek pacijenata [4].

2.2. Epidemiološki aspekti srčane insuficijencije

Srčana insuficijencija predstavlja rastuću epidemiju sa procenjenom prevalencijom od >37,7 miliona obolelih na globalnom nivou [5, 6]. Prema podacima iz 2011. godine, samo u Sjedinjenim Američkim Državama, oko 5,7 miliona stanovnika živi sa srčanom slabošću, a 870.000 novih slučajeva dijagnostikuje se svake godine [7]. Literaturni podaci ukazuju na to da se mnoge zemlje u razvoju nalaze usled epidemiološke tranzicije, čime se smanjuje prevalencija bolesti koje su ranije bile zastupljene (nutricijski deficit i infekcije), a povećava učestalost obolevanja od kardiovaskularnih bolesti. Ove promene objašnjavaju se razlikom u demografskom kretanju, tj. porastom broja stanovnika, izraženim migracijama i generalnim starenjem stanovništva [8]. Istovremeno, u zemljama razvijenog sveta incidencija srčane insuficijencije pokazuje znake stabilizacije i potencijalnog smanjenja, što se objašnjava poboljšanjem primarne prevencije kardiovaskularnih bolesti, korekcijom faktora rizika i načinom lečenja kardiovaskularnih bolesti, koje potencijalno dovode do nastanka srčane slabosti [9]. Na globalnom nivou stopa prevalencije srčane insuficijencije iznosi od 100 do 900 slučajeva na 100.000 ljudi, u zavisnosti od korišćenih dijagnostičkih kriterijuma i broja stanovnika [10]. Analizirajući podatke o broju novoobolelih zaključeno je da postoji veći pad incidencije srčane slabosti kod žena (43%) nego kod muškaraca (29%) [11].

Iako učestalost novootkrivenih slučajeva u razvijenim zemljama pokazuje trend smanjenja, sa druge strane postoje brojni dokazi o stalnom rastu broja obolelih u populaciji

široj svetu. Ovoj nejednakosti u incidenciji srčane insuficijencije doprinose razlike u faktorima rizika (hipertenzija i dijabetes melitus), kao i socioekonomski status [5].

Kada se analiziraju podaci vezani za Evropu, takođe je dokumentovano smanjenje incidencije srčane insuficijencije. Stopa incidencije bila je 387,4 slučaja na 100.000 osoba, na godišnjem nivou, a 34% svih slučajeva kategorisano je kao srčana insuficijencija sa očuvanom ejakcionom frakcijom [12]. Sa druge strane, u manje razvijenim zemljama, sa niskom i srednjom stopom nacionalnog dohotka, stopa incidencije srčane insuficijencije ne pokazuje trend stabilizacije i opadanja. Smatra se da 80% globalnog opterećenja kardiovaskularnim bolestima vodi poreklo upravo iz nerazvijenih i srednje razvijenih država, za koje je procenjena stopa incidencije srčane insuficijencije 271 [13].

Stopa prevalencije srčane insuficijencije u razvijenim zemljama uglavnom se kreće u rasponu od 1-2% odrasle populacije, dok taj broj raste posle 65 godine na 6-10% [14]. Iako se incidencija i prevalencija srčane insuficijencije, prilagođeni životnoj dobi smanjuju, apsolutni broj pacijenata drastično raste, što je posledica starenja populacije i produženog životnog veka. Generalno, incidencija srčane insuficijencije u poslednje dve decenije nije se povećavala, dok je prevalencija u porastu, zbog boljeg tretmana obolelih od kardiovaskularnih bolesti i smanjenja kardiovaskularnog i opšteg mortaliteta. Dokazano je da više od polovine pacijenata hospitalizovanih sa srčanom insuficijencijom predstavljaju osobe starije od 75 godina. Prevalencija je <1% za one starije od 40 godina i > 10% za one starije od 80 godina, dok je rizik za nastanak srčane insuficijencije oko 20% za osobe starosti od 40 do 80 godina, nevezano za pol. Sindrom srčane insuficijencije predstavlja uzrok 5% svih medicinskih i gerijatrijskih hospitalizacija, naročito u populaciji osoba starijih od 65 godina [14]. Na osnovu epidemioloških podataka poznato je da 30-40% pacijenata završava letalno u prvoj godini nakon postavljanja dijagnoze, a 60-70% umire zbog progresije bolesti unutar nekoliko godina [14].

Prema registrima iz Sjedinjenih Američkih Država, srčana insuficijencija je označena kao jedan od devet najčešćih uzroka smrti, čak „zloćudnija“ od karcinoma, s obzirom na stopu preživljavanja od 5 godina. U prilog tome idu i podaci da je smrtni ishod unutar pet godina od postavljanja dijagnoze 11% veći od mortaliteta za karcinom gastrointestinalnog sistema za isti vremenski period. Uprkos visokim stopama smrtnosti za pacijente sa srčanom insuficijencijom, stopa preživljavanja značajno je porasla sa napretkom lečenja ovih pacijenata [5]. Sveobuhvatno, procenjeno je da je stopa mortaliteta 3,72 puta viša u zemljama sa niskim prihodima i 2,61 puta viša u zemljama sa srednjim ličnim dohotkom u poređenju sa državama sa visokim dohotkom [5]. Srčana insuficijencija

predstavlja 2% ukupnih troškova zdravstvenog osiguranja, od čega bolničko lečenje učestvuje sa 70% [14].

Iako dijagnoza srčane insuficijencije ukazuje na smanjenje kvaliteta života i povećanog mortaliteta, savremeni terapijski protokoli i brojna istraživanja na globalnom nivou značajno su popravili izgleda za preživaljavanje ovih pacijenata [5, 6].

2.3. Etiopatogenetski aspekti srčane insuficijencije prema kategoriji ejeckione frakcije

Srčana slabost je prema preporukama Evropskog vodiča za lečenje srčane slabosti 2016, prema stepenu ejeckione frakcije (EF), po prvi put, podeljena na tri tipa, srčanu slabost sa očuvanom ejeckionom frakcijom $EF > 50\%$, koja je označena kao *heart failure with preserved ejection fraction* (HFpEF), srčanu slabost sa “graničnom” EF 40-49%, označenu kao *heart failure with mid range ejection fraction* (HFmrEF) i srčanu slabost sa redukovanom ejeckionom frakcijom, $EF < 40\%$, *heart failure with reduced ejection fraction*, (HFrEF) [1, 2].

2.3.1. Etiopatogenetski aspekti srčane insuficijencije sa očuvanom ejeckionom frakcijom

Srčana insuficijencija se u kliničkoj praksi najčešće procenjuje prema stepenu ejeckione frakcije (EF). Danas se zna da skoro polovina svih pacijenata sa simptomima srčane slabosti ima EF koja je očuvana i iznosi 50%, a može biti i viša [2]. Novije epidemiološke studije pokazuju porast prevalencije srčane insuficijencije sa očuvanom EF, (HFpEF), a da su morbiditet, mortalitet i zdravstveni troškovi gotovo identični onima kod srčane slabosti sa redukovanom EF [15].

Sindrom srčane insuficijencije sa očuvanom EF veoma je kompleksan i za sada još uvek nedovoljno objašnjen. Razlozi za to su višestruki: pre svega, dijagnostički kriterijum je identičan za vrlo heterogenu populaciju obolelih, što je dovelo do zanemarivanja ovog tipa srčane slabosti i neblagovremene dijagnostike. Osim toga, predloženo je više patofizioloških mehanizama, od kojih su neki ostali na nivou hipoteza, zbog nemogućnosti *in vivo* dokazivanja. Uopšte uzevši, eksperimentalni model ovog tipa srčane slabosti još uvek nije utemeljen. Pacijenti sa HFpEF imaju veliki broj pridruženih bolesti: arterijsku hipertenziju,

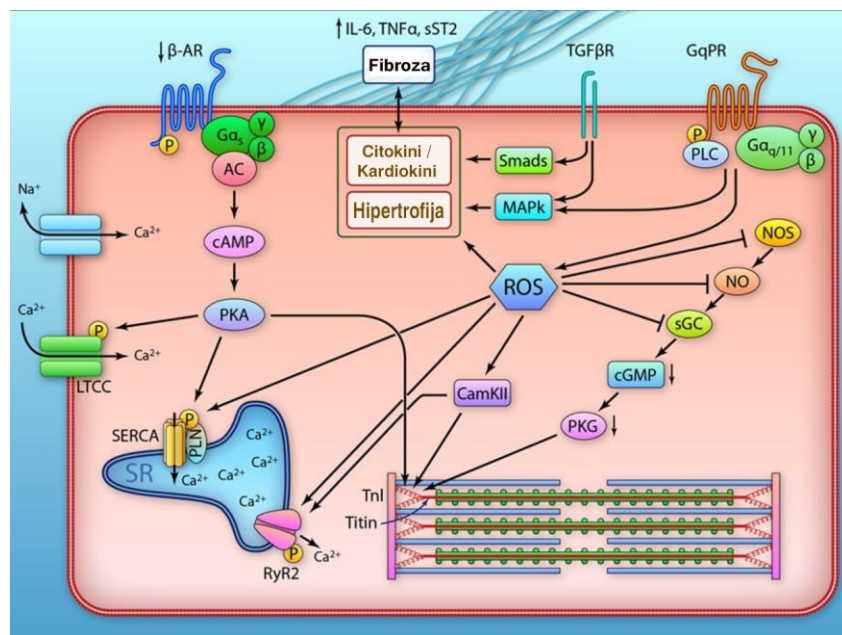
atrijalnu fibrilaciju, šećernu bolest, vaskulopatije, hroničnu bubrežnu bolest i metaboličke poremećaje, što čini da tradicionalni pristup lečenja (koji se primenjuje kod pacijenata sa redukovanom ejakcionom frakcijom) ne daje zadovoljavajuće rezultate [16].

2.3.2. Patofiziologija srčane insuficijencije sa očuvanom ejakcionom frakcijom

Predloženo je više patofizioloških modela sa ciljem objašnjenja preciznih mehanizama nastanka HFpEF, ali nijedan od njih nije za sada u potpunosti dokazan. Sistemska proinflatorna hipoteza, koju potencira najveći broj autora, najznačajnijom patogenetskom karikom smatra sinergističko delovanje komorbiditeta [17], koji promovišu sistemsko, generalizovano, proinflatorno stanje, sa visokim koncentracijama citokina: faktora nekroze tumora (TNF)- α , interleukina (IL)-6 i IL-1 β [18]. Ovi proinflatorni citokini funkcionišu kao signalni molekuli za niz patogenetskih mehanizama, što finalno dovodi do smanjene proizvodnje endotelnog azot oksida (eNO), smanjene aktivnosti cikličnog guanozin monofosfata (cGMP) i protein kinaza A (PKA) i G (PKG) u kardiomiocitima. Ova kaskadna reakcija dovodi do deponovanja kolagena i fibroze miokarda, sa smanjenjem elastičnosti kardiomiocita i razvojem hipertrofije, dijastolne disfunkcije i srčane insuficijencije [19]. Smatra se da je titin osnovni protein odgovoran za smanjenu elastičnost miocita, a njegova fosforilacija se upravo odvija pod dejstvom PKA, PKG i kalcijum-kalmodulin aktivne kinaze II δ . Krajnji ishod predstavlja fosforilacija titina i povećanje krutosti kardiomiocita, što je verifikovano kod HFpEF, ali ne i u HFrEF [20, 21] (šematski prikazano na slici 1) [16].

Biopsijom kardiomiocita kod pacijenata sa HFpEF zapažena je povećana ekspresija kolagena tipa 1 i 3, usled smanjene ekspresije kolagenaze i metaloproteinaze-1, ali i povećanje nivoa tkivnih inhibitora matriks metaloproteinaze-1 (TIMP 1 i 4), što dodatno doprinosi razvoju fibroze [22]. Dokazano je i da aktivacija sistema renin-angiotenzin-aldosteron (RAA) može biti značajan patogenetski mehanizam u remodelovanju miokarda. Aktivacija sistema RAA stimuliše razvoj fibroze na animalnom modelu i dugo se pretpostavljalo da je glavni patogenetski faktor u razvoju HFpEF. Sa druge strane, neuspeh brojnih kliničkih ispitivanja, u smislu blokade ovog sistema kod pacijenata sa HFpEF nedvosmisleno ukazuje da su drugi patogenetski mehanizmi u razvoju fibroze primarniji mehanizmi u odnosu na aktivaciju RAA sistema.

Pored sistemske proinflamatorne hipoteze postoji i multiorganska hipoteza kao alternativna teorija, (šematski prikazana na slici 2), koja proizilazi iz činjenice da je HFpEF rezultat delovanja više komorbiditeta. Njihova interakcija dovodi, ne samo do dijastolne disfunkcije i poremećaja srčane rezerve, već i do gubitka funkcije bubrega i pluća [23]. Ova teorija takođe ima dosta pristalica među istraživačima, najverovatnije iz razloga što konvencionalna farmakološka terapija, koja se koristi u HFpEF-u, nema značajnog efekta kod pacijenata sa očuvanom ejectionom frakcijom.

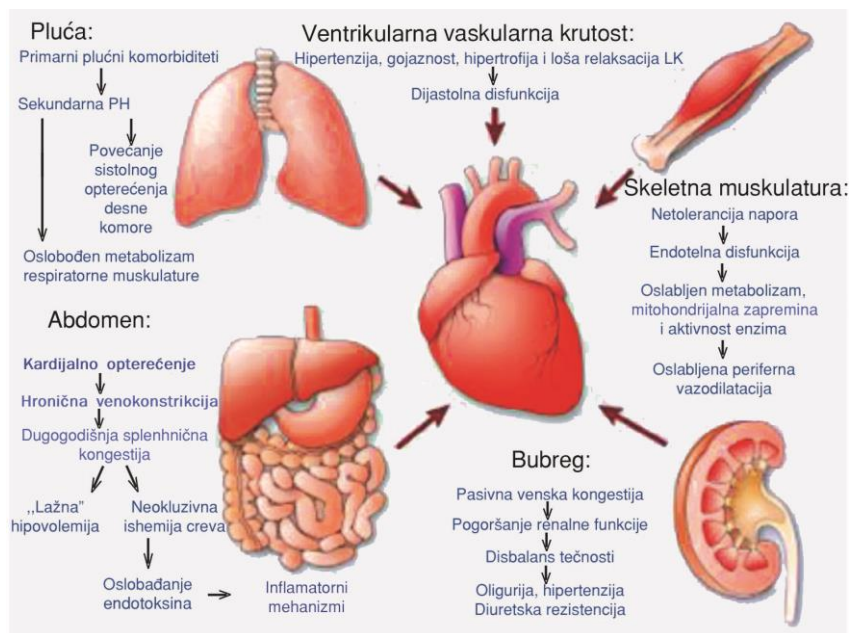


Slika 1. Šematski prikaz miokardne abnormalnosti u srčanoj insuficijenciji sa očuvanom ejectionom frakcijom. Modifikovano od Sharma K, et al. [16]

Kada se govori o komorbiditetima dokazano je da arterijska hipertenzija i gojaznost, ispitivane na animalnim modelima, dovode do smanjenja funkcije bubrega i do hipertrofije i loše relaksacije leve komore, razvijajući dijastolnu disfunkciju sa posledičnim razvojem HFpEF [24]. S obzirom na visoku prevalenciju hroničnih bubrežnih oboljenja (26-53%) kod obolelih od HFpEF, sa lošom prognozom, često se postavlja pitanje da li hronična bubrežna bolest dovodi do inflamacije miokarda, fibroze i HFpEF ili je HFpEF primarno uzrok bubrežne disfunkcije, preko aktivacije sistema RAA. S obzirom na to da je poremećena homeostaza volumena osnovna patofiziološka karakteristika HFpEF-a, koja dovodi do hipoperfuzije bubrega, vrlo je verovatno da u patogenezi bubrežne insuficijencije delimično učestvuje i HFpEF [16]. Albuminurija koja se javlja u sklopu bubrežnih oboljenja, prisutna je

kod trećine bolesnika sa HFpEF i odraz je oštećenja glomerula, aktivacije RAA sistema i sistemske inflamacije [25].

Kod pacijenata sa hroničnom opstruktivnom bolešću pluća (HOBP) vremenom dolazi do razvoja plućne hipertenzije, za koju je dokazano da je značajan prediktor morbiditeta i mortaliteta kod pacijenata sa očuvanom EF [26].



Slika 2. Šematski prikaz multiorganske hipoteze nastanka srčane insuficijencije sa očuvanom ejskionom frakcijom. Modifikovano od Sharma K, et al. [16]

Patogenetski faktori koji zaslužuju posebnu pažnju su splanhična mikrocirkulacija i limfotok, koji fiziološki učestvuju u održanju homeostaze telesnih tečnosti [27]. Kod velikog broja pacijenata sa HFpEF, zadržavanje tečnosti nije izraženo na periferiji, ali se zato javlja u trbušnoj šupljini. Fiziološki kapacitet splenične vaskulature iznosi oko 25% od ukupne zapremine venske krvi, a porast hidrostatskog pritiska, iz bilo kog razloga, pojačava filtraciju tečnosti u limfni sistem. Kada limfna drenaža dostigne maksimum, intersticijska tečnost bogata proteinima ne može adekvatno da se drenira, što dovodi do stvaranja visokoproteinskog edema i proširenja intersticijskog prostora. Pošto splanična vaskulatura i mikrocirkulacija više ne mogu da se izbore sa progresivnim preopterećenjem, raste intraabdominalni pritisak sa razvojem intraabdominalne hipertenzije i posledično kardiorrenalne disfunkcije. Posledice obuhvataju abnormalnu hepatičku regulaciju bubrežne funkcije; zatvaranje “splanhičnog rezervoara“, što stvara lažno stanje hipovolemije i

neokluzivnu ishemiju creva, sa oslobađanjem endotoksina i pokretanja proinflamatornih mehanizama. Finalna karika u navedenoj patogenezi dovodi do razvoja HFpEF [16].

Obe hipoteze naglašavaju razvoj dijastolne disfunkcije leve komore kao najznačajnijeg faktora u patogenezi HFpEF. Brojne kliničke studije, čiji je glavni cilj bila redukcija mortaliteta popravljanjem dijastolne funkcije (putem poboljšanja relaksacije leve komore i/ili zaustavljanje napredovanja hipertrofije leve komore blokadom sistema RAA) nisu dale očekivane rezultate. Iz tih razloga plasirana je i alternativna hipoteza o disihroniji leve komore (LK) [28].

Disinhronija leve komore javlja se usled postojanja regionalnih razlika u brzini smenjivanja kontrakcija i kašnjenja rane relaksacije miokardnih vlakana, što zauzvrat rezultuje smanjenjem rada srca. Razvoj disinhronije LK, povezan je sa subendokardnom fibrozom, koja se kao posledica postojanja komorbiditeta kod velikog broja pacijenata javlja sekundarno [29]. Disinhronija, zapravo, dovodi do razvoja sistolne disfunkcije leve komore, kod pacijenata sa HFpEF, usled kašnjenja aktivacije miokarda, čime se umanjuje efikasnost pumpne funkcije srca [30]. To praktično znači da očuvana EF ne znači nužno i očuvanu sistolnu funkciju leve komore. Disinhronija, takođe dovodi i do kašnjenja u relaksaciji leve komore, naročito tokom rane dijastole [31], što naknadno smanjuje dijastolnu funkciju a ogleda se u smanjenju pasivnog punjenja i povećanju pritiska punjenja leve komore [29]. Pretpostavlja se da su glavni patogenetski mehanizmi odgovorni za usporenu relaksaciju komore sledeći: 1) smanjena ekspresija regulatornih proteina koji su uključeni u ciklus Ca^{2+} , neophodnih za rad sarkoplazmatskog retikuluma kardiomiocita, 2) depresija β -adrenergične signalizacije i 3) oksidativni stres, koji utiče na proteine za regulisanje Ca^{2+} ciklusa [32].

Dokazano je postojanje sistolne i dijastolne disinhronije u mirovanju kod pacijenata sa HFpEF, u poređenju sa zdravim ispitanicima, kao i njihovo naknadno pogoršanje kod pacijenata koji su bili izloženi hemodinamskom stresu. Dinamika mehaničke disinhronije, zajedno sa sistolnom i dijastolnom disfunkcijom, važni su patogenetski mehanizmi u razvoju HFpEF i istovremeno daju odgovor na pitanje zašto terapija koja targetira samo dijastolnu disfunkciju ne daje očekivane rezultate [28].

Od opisanih ekstramiokardnih mehanizama koji smanjuju sistolnu funkciju u HFpEF značajan patogenetski faktor predstavlja i neelastičnost krvnih sudova (zavisi od godina starosti i komorbiditeta), jer se u uslovima vaskularne neelastičnosti smanjuje ventrikularna sistolna elastičnost, pa je ova kombinovana ventrikularno-vaskularna (VV) neelastičnost karakteristika srčane insuficijencije sa očuvanom EF. Predloženi mehanizmi za sistolnu disfunkciju u HFpEF jesu i abnormalnosti energetskog metabolizma miokarda,

uključujući stvaranje adenozin trifosfata (ATP) i transformaciju fosfokreatina u ATP i obratno, posredstvom kreatin kinaze. Pored abnormalnosti miokarda, ispituju se i abnormalnosti skeletnih mišića koje doprinose smanjenju maksimalne potrošnje zapremine kiseonika (VO₂), dovodeći do ograničavanja sistolne rezerve u HFpEF. Dokazano je da pacijenti sa HFpEF imaju smanjenu količinu mišićnih vlakana tipa I, smanjeni odnos vlakana tipa I i II i smanjeni odnos gustine kapilara i vlakana u poređenju sa kontrolnom grupom [16, 33].

Biomarkerski profil srčane insuficijencije sa očuvanom ejectionom frakcijom još uvek nije precizno definisan iz razloga što ni patogenetski mehanizmi nisu u dovoljnoj meri razjašnjeni. Identifikacija biohemijskog obrasca kod ovih pacijenata značajno bi doprinela blagovremenom postavljanju dijagnoze i praćenju toka i ishoda bolesti. Za sada je predloženo nekoliko grupa biomarkera, u zavisnosti od dominantnog patofiziološkog mehanizma. Aktivacija sistema RAA i simpatičkog nervnog sistema (SNS) značajni su međuzavisni mehanizmi, čija aktivacija dovodi do razvoja manifestacija bolesti: retencije tečnosti, periferne vazokonstrukcije i kardiomiocitne hipertrofije. Posledično, biohemijski markeri koji bi odražavali ovu aktivaciju su: angiotenzin II, renin i aldosteron. Biomarkeri u plazmi koji reflektuju homeostazu metabolizma kolagena (biomarkeri miokardnog remodelovanja) i posredno daju informacije o postojanju i rasprostranjenosti fibroze predstavljaju grupu markera koja je u fokusu istraživanja i od koje se dosta očekuje.

Najistraživaniji i sa najvećim prognostičkim potencijalom su markeri fibroze: galektin-3 i solubilni supresor tumorigeneze 2 (sST2). Veliki broj autora u ovu grupu svrstava i faktor diferencijacije rasta 15 (GDF)-15, koji se istražuje u kontekstu sistemske inflamacije. Ukoliko se zna da je svaka hronična inflamacija prekursor fibrogeneze, tada je očekivano da se GDF-15 može tumačiti u kontekstu markera fibroze, a posredno i patološkog remodelovanja leve komore. Osnovna patofiziološka karakteristika ovog tipa srčane slabosti je sistemska inflamacija, tako da merenje koncentracija proinflamatornih citokina može biti značajan korak u praćenju ovih pacijenata. Predloženo je merenje TNF- α , interleukina (1 i 6), C-reaktivnog proteina, pentraksina i GDF-15. Postoje autori koji navode da bi merenje troponina, kao markera nekroze kardiomiocita moglo da bude od značaja kod pacijenata sa očuvanom EF, naročito ukoliko bi se njegove koncentracije određivale paralelno sa koncentracijama biomarkera miokardne fibroze. Na ovaj način bi mogli da se selektuju pacijenti koji se nalaze u tranzitornoj formi, od hipertrofije leve komore do razvoja HFpEF. Sa terapijskog aspekta određivanje biomarkera miokardne fibroze bi mogao da bude značajan korak ka individualizaciji terapijskog pristupa [16, 34].

Srčana insuficijencija sa očuvanom EF je heterogen i još uvek nedovoljno razjašnjen klinički sindrom. Za bolju optimizaciju terapije i očekivan ishod lečenja neophodna je identifikacija relevantnih etiopatogenetskih faktora i precizno definisanje biohemijskog panela za postavljanje dijagnoze i praćenje toka bolesti. Predloženi biomarkeri miokardnog remodelovanja mogli bi da predstavljaju značajnu vezu između progresije bolesti, personalizovanijeg terapijskog pristupa i poboljšanja konačnog ishoda [28].

2.3.3. Etiopatogenetski aspekti srčane insuficijencije sa graničnom ejectionom frakcijom

Klinički entitet “srčana insuficijencija sa graničnom ejectionom frakcijom”, kao poseban tip srčane slabosti postoji od 2016. i prema aktuelnim smernicama za dijagnozu i lečenje definisan je kao srčana insuficijencija sa EF između 40 i 49% [1]. U porodici srčane insuficijencije, ovaj podtip srčane slabosti često je nazivan “srednjim detetom” ili “sivom zonom”, a ti “granični” pacijenti najčešće nisu bili uključivani u velike, randomizovane, multicentrične studije, gde je kao glavni kriterijum za uključivanje bila definisana EF >50% ili < 40% [28]. Uvođenjem ovog podtipa srčane slabosti kao posebne grupe, pacijenti su dobili mogućnost uključivanja u kliničke studije i shodno tome, mogućnost definisanja optimalnog terapijskog protokola, faktora rizika, stopa morbiditeta i mortaliteta i prognostičkih markera.

Epidemiološke studije su pokazale da procenat pacijenata sa “graničnom” EF čini 10-20% od ukupnog broja obolelih od srčane slabosti, sa tendencijom stalnog porasta [35]. Najveći broj istraživača slaže se da je procenat pacijenata sa EF 40-49% između 13 i 24% i da će oko 10% pacijenata sa novopostavljenom dijagnozom srčane slabosti imati EF u ovom opsegu. Treba napomenuti da je trend učestalosti ovog tipa srčane slabosti relativno stabilan, za razliku od trenda HFrEF koji je u opadanju i HFpEF koji je u porastu [35].

2.3.4. Patofiziologija srčane slabosti sa graničnom ejakcionom frakcijom

Tačni patofiziološki mehanizmi ovog tipa srčane slabosti još uvek nisu u potpunosti identifikovani. Da li je ovaj tip srčane slabosti posebna kategorija ili je samo u pitanju intermedijerni fenomen još uvek se ne zna, mada je etiološki bliže povezan sa srčanom slabošću sa redukovanom EF [36, 37], zbog visoke učestalosti kardiovaskularnih bolesti kao dominantnog etiološkog faktora [36-38]. Ishemijska etiologija dokazana je kod 41,8% bolesnika sa HFmEF [38], odnosno kod 56,5% obolelih [38], u zavisnosti od dizajna studije. Klinička slika može značajno da varira, od one koja se javlja kod onih sa redukovanom EF, pa do simptoma koji se vide kod pacijanata sa očuvanom EF. Ključni patogenetski faktor najverovatnije predstavlja ishemijska lezija miokarda, detektovana kod više od 40% pacijanata sa graničnom EF, što čini patofiziološku vezu sa HFrEF. Sa patofiziološke tačke gledanja, može biti da pacijenti sa “graničnom” EF predstavljaju podskup bolesnika sa očuvanom EF i koronarnom bolešću i kao takvi se nalaze u početnoj fazi srčane slabosti sa redukovanom EF. To bi praktično značilo da su svi pacijenti koji su imali akutni infarkt miokarda, remodelovanje leve komore, miokarditis ili kardiomiopatiju, potencijalni kandidati za srčanu slabost sa EF između 40 i 49%. Ukoliko srčanu insuficijenciju sa graničnom EF posmatramo kao preklapajući fenotip sistolne i dijastolne insuficijencije, onda bi mogla da se postavi hipoteza da je generalizovana endotelna disfunkcija patofiziološki inicijator dijastolne insuficijencije, a primarno oboljenje srca induktor sistolne. Komorbiditeti, koji su obavezno prisutni kod obolelih sa očuvanom EF, u najvećoj meri postoji i ovde i verovatno značajno doprinose miljeu sistemske inflamacije, što neminovno vodi ka razvoju dijastolne disfunkcije. Shodno tome, sistemska inflamacija i endotelna disfunkcija mogu da budu značajni patogenetski faktori u razvoju srčane slabosti sa EF 40-49% [39].

Srčana slabost sa “graničnom” EF takođe može da nastane kao rezultat progresivnog pogoršanja sistolne funkcije leve komore kod pacijenata sa očuvanom EF [39, 40], ali se može razviti i usled poboljšane sistolne funkcije leve komore, kod pacijenata sa redukovanom EF. Ovim fenomenom se tumači smanjena stopa mortaliteta i povoljnija dugoročna prognoza kod ovih pacijenata [39]. U prilog izuzetnoj heterogenosti ove grupe ide i podatak da se u ovom podtipu mogu dodatno izdvojiti tri podgrupe pacijanata i to: a) pacijenti sa prethodnom EF<40% (oporavljeni HFmrEF), koji su činili 73%, b) pacijenti sa prethodnom EF>50% (oslabljeni HFmrEF), 17% i c) pacijenti sa prethodnom EF 40-50%

(nepromenjena HFmrEF), koji su činili 10% [41]. Daljom analizom ovih podgrupa ustanovljeno je da su podgrupu sa oporavljenom HFmrEF pretežno činili muškarci sa kardiovaskularnim oboljenjima, što odgovara karakteristikama pacijenata sa redukovanom EF. Suprotno tome, podgrupa sa oslabljenom HFmrEF-om sastojala se većinom od žena sa istorijom hipertenzije i atrijske fibrilacije ili flatera, što odgovara karakteristikama pacijenata sa očuvanom EF. Prilikom analize ehokardiografskih parametara, zapaženo je da je kod pacijenata sa oslabljenom HFmrEF postojao znatno napredniji stepen dijastolne disfunkcije u poređenju sa podgrupom pacijenata sa oporavljenom HFmrEF [41].

Što se tiče kliničkih karakteristika, retrospektivne studije pokazale su da pacijenti sa HFmrEF-om imaju intermedijarni klinički profil, nešto sličniji sa HFpEF [36, 42] dok je, što se tiče prisustva ishemijske bolesti srca, granična EF više nalik na redukovanu EF [39]. Generalno, pacijenti sa “graničnom” EF su stariji (prosečna starost 77 godina), predominantno ženskog pola (48%) sa visokom prevalencijom komorbiditeta: šećerna bolest, (50%), atrijska fibrilacija (42%), HOBP (36%), anemija (27%) i bubrežna insuficijencija (26%). Drugi izvori tvrde da kod dve trećine pacijenata postoji veća prevalencija ishemijske bolesti srca, dok neki istraživači smatraju da su ovi pacijenti “mešoviti” kliničkih karakteristika [39, 43].

Merenjem različitih biomarkera, prema opisanim patofiziološkim kategorijama (stres ili nekroza miokarda, inflamacija ili oksidativno oštećenje) pokazano je da pacijenti sa graničnom EF imaju intermedijarni biohemijski profil. Pored toga, biomarkeri sistemske inflamacije i miokardnog remodelovanja pokazali su prediktivni potencijal za pacijente sa očuvanom i “graničnom” EF, ali ne i za one sa redukovanom.

Uspostavljanjem nove kategorije srčane insuficijencije došlo je do značajnog porasta broja studija koje su ove pacijente uključivale kao posebnu kliničku kategoriju, što je omogućilo bolje razumevanje njihovog kliničkog profila i ishoda bolesti. Patogenetski mehanizmi i biohemijski profil, za sada još uvek ostaju nedovoljno razjašnjeni. Postojeći zaključci donešeni su uglavnom na osnovu retrospektivnih analiza realizovanih studija, tako da su neophodna nova prospektivna istraživanja u svrhu identifikacije tačnih patofizioloških mehanizama i optimizacije terapijskog pristupa [39].

2.3.5. Etiopatogenetski aspekti srčane insuficijencije sa redukovanom ejekcionom frakcijom

Srčana insuficijencija sa redukovanom ejekcionom frakcijom može se definisati kao složen klinički sindrom koji se razvija kao odgovor na prethodno strukturno ili funkcijsko oštećenje ventrikularnog punjenja ili frakcije istiskivanja. Prema aktuelnim smernicama, srčana insuficijencija sa redukovanom EF (HFrEF) definisana je stepenom EF nižim od 40% [1]. Etiološki faktori koji dovode do nastanka i razvoja ovog tipa srčane slabosti veoma su heterogeni: različiti poremećaji u strukturi miokarda, njegovoj mehaničkoj funkciji ili električnoj aktivnosti, zatim ishemijski, metabolički, imunski, inflamatorni, infektivni, endokrinološki, genetski i neoplastični procesi i trudnoća, takođe mogu biti predisponirajući faktori za nastanak HFrEF [44]. Na osnovu rezultata dobijenih velikom analizom pacijenata obolelih od HFrEF za sada je definisano 17 primarnih etioloških faktora za nastanak bolesti [45], pri čemu su kod više od dve trećine obolelih, kao glavni etiološki faktori, navedeni: ishemijska bolest srca, arterijska hipertenzija, hronična opstruktivna bolest pluća i reumatsko oboljenje srca. U razvijenim zemljama, insuficijencija leve komore najčešće je izazvana ishemijskim oboljenjem srca i hroničnom opstruktivnom bolešću pluća, dok su u nerazvijenim državama kao razlozi za srčanu insuficijenciju sa redukovanom EF navedeni: visok krvni pritisak, reumatska oboljenja srca, kardiomiopatije i miokarditis.

Arterijska hipertenzija se kod velikog broja bolesnika nalazi u osnovi nastanka srčane insuficijencije, predominantnije u ženskoj populaciji. Sama ili udružena sa drugim faktorima rizika (poremećaj metabolizma glikoze, hiperlipoproteinemije, gojaznost, pušenje i fizička neaktivnost) najčešći je uzrok koji dovodi do ateroskleroze koronarnih arterija, odnosno razvoja ishemijske bolesti srca, sa ili bez preležanog infarkta miokarda. Ovakva kaskada događaja, u završnoj fazi, dovodi do razvoja srčane insuficijencije. Insuficijencija leve komore je teža, ukoliko postoji prethodni infarkt miokarda, ali se može javiti i kod pacijanata kod kojih je miokard u stanju hibernacije. Patofiziološki, smanjena perfuzija miokarda kod ovih osoba, dovodi do njegove hipokinezije, iako je on u osnovi funkcijski očuvan [44]. Idiopatska dilatacijska kardiomiopatija jedan je od čestih etioloških faktora u nastanku sistolne insuficijencije leve komore, jer kod 15-20% ovih bolesnika dolazi do razvoja srčane insuficijencije [46]. Nasleđe, prethodna virusna infekcija, konzumiranje

alkohola, kao i izloženost drugim toksinima, uključujući hemioterapijske agense, najčešći su etiološki faktori za nastanak kardiomiopatija poznate etiologije [46].

Bolesti srčanih zalistaka (kao posledica reumatske groznice), znatno su ređi uzrok srčane insuficijencije, naročito u razvijenim zemljama, dok degenerativna bolest srčanih zalistaka i dalje ostaje jedan od značajnih etioloških faktora za nastanak HFrEF [47]. Oboleli od šećerne bolesti češće obolevaju od srčane insuficijencije u poređenju sa osobama sa normalnom glikoregulacijom, jer su kod njih arterijska hipertenzija i dislipidemija favorizujući faktori, sa težim stepenom i bržim razvojem koronarne ateroskleroze. U patogenezi šećerne bolesti, fibroza miokarda uobičajen je etiopatogenetski fenomen, kao i dijastolna disfunkcija, a samim tim i srčana insuficijencija [48]. Pretkomorska fibrilacija može primarno da dovede do razvoja srčane insuficijencije, zbog nedostatka pretkomorskog doprinosa srčanom ciklusu, ali i sekundarno usled smanjenja dijastolnog punjenja, nastalog usled tahikardije [49].

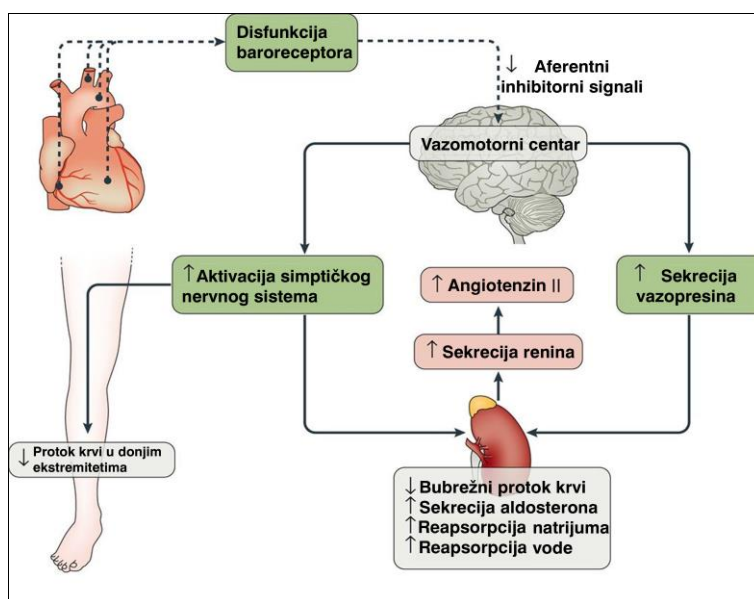
2.3.6. Patofiziologija srčane insuficijencije sa redukovanom ejskcionom frakcijom

Sa kliničkog aspekta, srčana insuficijencija sa redukovanom EF predstavlja krajnji rezultat delovanja različitih patofizioloških mehanizama, čiji je rezultat smanjenje funkcije srca [1]. Najčešće nastaje nakon "inicijalnog događaja", odnosno lezije koja smanjuje pumpnu funkciju srca i dovodi do usporenja u srčanom radu, što predstavlja osnovu za kliničko postavljenje dijagnoze [50]. „Inicijalni događaj“ može da nastane akutno, poput infarkta miokarda ili se može razvijati sporo, usled dugotrajnog hemodinamskog opterećenja. U osnovi može da bude i genetska mutacija, usled koje je narušena kontraktilna funkcija ili je oštećena sarkolema sa posledičnom smrću kardiomiocita [50].

Nakon delovanja etiološkog faktora, u miokardu dolazi do remodelovanja, ključnog faktora koji dovodi do redukcije pumpne funkcije srca. Tokom remodelovanja dolazi do dilatacije i hipokontraktilnosti leve komore, koje se još više pogoršavaju sa progresijom osnovne bolesti. Istovremeno, redukcija pumpne funkcije dovodi do promene cirkulacije, što aktivira veoma osetljive arterijske baroreceptore (hemoreceptori i ergoreceptori). Ovako aktivirani receptori uspostavljaju i pokreću niz kompenzatornih, neurohumoralnih mehanizama, koji dovode do promene brzine otkucaja srca i kontraktilnosti, retencije soli i

vode i vazokonstrikcije perifernih krvnih sudova, čime se postiže održavanje kardiovaskularne homeostaze i adekvatna perfuzija vitalnih organa [50]. Patogenetski mehanizmi aktivacije kompenzatornih mehanizama u HFrEF prikazani su na slici 3.

Osnovni neurohumoralni mehanizmi koji se aktiviraju u srčanoj insuficijenciji sa redukovanom EF su sistem renin angiotenzin aldosteron (RAA), simpatički nervni sistem (SNS) i inflamatorni medijatori, koji su uključeni u patogenezu miokardnog remodelovanja. Pored ovih esencijalnih kompenzatornih mehanizama, HFrEF se karakteriše i smanjenjem tonusa parasimpatičkog nervnog sistema i povećanom otpornošću na delovanje natriuretskih peptida (NP) [51]. Ovo je važan etiopatogenetski činilac, jer su ovi sistemi evolutivno značajni zbog antagonizovanja sistema RAA i SNS [50]. Kompenzatorni mehanizmi imaju za cilj da ublaže delovanje etiološkog faktora i da obezbede perfuziju tkiva u kraćem vremenskom periodu. Njihova prekomerna i predugačka aktivacija, kao i prekomerna ekspresija biološki aktivnih molekula, doprinosi napredovanju bolesti i dovodi do lošeg ishoda.



Slika 3. Aktivacija neurohumoralnog sistema u patogenezi srčane insuficijencije sa redukovanom ejectionom frakcijom. Modifikovano od Hartupee J, et al. [50].

Ovakav koncept patofiziologije srčane insuficijencije definisan je prvi put 1992. godine kao "neurohumoralna hipoteza", koja pretpostavlja da je napredovanje bolesti uzrokovano štetnim efektima trajne neurohumoralne aktivacije na miokard i cirkulaciju [52]. Važni kompenzatorni mehanizmi koji održavaju kardiovaskularnu homeostazu na početku

bolesti, sa napredovanjem bolesti postaju štetni, pogoršavaju miokardnu funkciju i stvaraju „začarani krug“ (*circulus vitiosus*) u patofiziologiji srčane insuficijencije [46].

2.3.7. Uloga sistema renin angiotenzin aldosteron u patogenezi srčane insuficijencije sa redukovanom ejakcionom frakcijom

Prekomerna aktivacija simpatičkog nervnog sistema (SNS), kao kompenzatorna mera, dovodi do hipoperfuzije bubrega. Patogenetski, dolazi do vazokonstrikcije aferentne arteriole bubrega i smanjenog protoka krvi u jukstaklomerulskom aparatu, što je stimulus za prekomerno oslobađanje renina. Pored vazokonstrikcije, istovremeni efekat simpatičke aktivacije na nivou bubrega, podrazumeva i aktivaciju β 1-adrenergičkih receptora na jukstaklomerulskom aparatu, što dodatno stimuliše oslobađanje renina [50, 53]. Oslobođeni renin, preko angiotenzina I dovodi do sinteze potentnog plejotropnog molekula, angiotenzina II, koji delovanjem na svoje receptore (tip 1), AT1, u zoni glomerulozi nadbubrežne žlezde, dovodi do oslobađanja aldosterona. Aldosteron, fiziološki deluje tako što na nivou distalnih tubula bubrega povećava reapsorpciju natrijuma i vode. Istovremeno, angiotenzin II direktno dovodi do zadržavanja natrijuma u proksimalnim tubulima bubrega, ali i stimuliše centar za žeđ u mozgu, izazivajući oslobađanje arginin vazopresina (AVP). Arginin vazopresin se oslobađa u uslovima povećane osmolarnosti plazme, pri čemu dolazi do smanjenja mokrenja i retencije vode, čime se osmolarnost normalizuje. Dokazano je da su koncentracije AVP značajno više kod pacijenata sa srčanom slabošću. Ovakvo „neosmotsko“ oslobađanje AVP doprinosi razvoju hiponatrijemije kod ovih pacijenata, a takođe povećava perifernu vazokonstrikciju i produkciju endotelina [54].

Glavni vazodilatatorni molekuli, pretkomorski i moždani natriuretski peptidi (ANP i BNP) najvažnija su evolucijska protivteža sistemu RAA [55]. Impuls za njihovu sintezu i sekreciju predstavlja rastezanje pretkomora, usled povećanog volumena tečnosti i pritiska u njima. Fiziološki, natriuretski peptidi dovode do povećane proizvodnje cikličnog guanozin fosfata (cGMP) u ciljnim ćelijama, sa efektom periferne vazodilatacije i stimulacije bubrežne ekskrecije natrijuma, što dovodi do smanjenja opterećenja srca. Kod pacijenata sa srčanom slabošću postoji neosetljivost na delovanje natriuretskih peptida, tako da sistem RAA deluje nesmetano, doprinoseći razvoju trajne vazokonstrikcije i preopterećenja volumenom [50]. Dokazano je i da peptidi kratkih lanaca, izvedeni iz angiotenzina II (heptapeptid angiotenzin

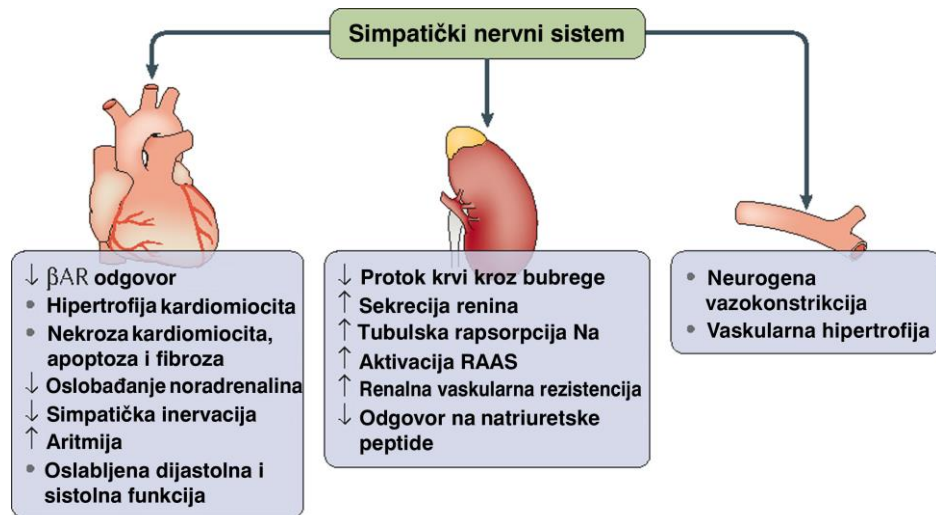
III, heksapeptidi angiotenzin IV i angiotenzin 1-7) deluju kao efektori u sistemu RAA. Angiotenzin III takođe ostvaruje svoje efekte vezivanjem za AT1 receptore, dok angiotenzin 1-7 i angiotenzin IV imaju svoje specifične receptore. Iako tačna uloga ovih peptida u srčanoj insuficijenciji još uvek nije dovoljno definisana, u eksperimentalnom modelu je dokazano da angiotenzin 1-7 deluje suprotno efektima angiotenzina II (ima predominantno vazodilatatorni efekat) i smanjuje remodelovanje leve komore [56]. Angiotenzin III ima skoro identične biološke efekte kao i angiotenzin II i može dovesti do simpatičke hiperaktivacije i remodelovanja leve komore. Angiotenzin IV predstavlja metabolit angiotenzina III i može biti uključen u regulisanje rasta vaskularnih glatko-mišićnih ćelija ili u regulaciju gena uključenih u aterogenezu i trombozu [50].

2.3.8. Uloga simpatičkog nervnog sistema u patogenezi srčane insuficijencije sa redukovanom ejekcionom frakcijom

Napomenuto je već da redukcija pumpne funkcije srca inicijalno dovodi do promena u efektivnom volumenu arterijske krvi, a zatim do aktivacije perifernih baroreceptora, lokalizovanih u aorti i karotidnom sinusu. U daljoj patogenezi, oni aktiviraju niz kompenzatornih neurohumoralnih mehanizama, pri čemu dolazi do prekomerne aktivacije SNS i hipoaktivnosti parasimpatičkog nervnog sistema, koje se javljaju vrlo rano u toku bolesti [50]. Usled aktivacije SNS dolazi do povećanog oslobađanja noradrenalina, glavnog neurotransmitera postganglijskih neurona SNS-a, a manji deo se sintetiše iz srži nadbubrežne žlezde i oslobađa direktno u cirkulaciju. Noradrenalin se vezuje za svoje α i β receptore i dovodi do povećanja srčane frekvencije i kontraktilnosti miokarda, kao i periferne vazokonstrikcije, sa ciljem održanja normalnog krvnog pritiska i adekvatne perfuzije srca i mozga. Ukoliko je ovakva stimulacija hroničnog karaktera, dolazi do oštećenja efektornih organa, šematski prikazano na slici 4 [50].

Pacijenti sa srčanom insuficijencijom sa redukovanom ejekcionom frakcijom pokazuju i povećanu osetljivost baroreceptora na hipoksiju i hiperkapniju (povećana hemosenzitivnost) i pojačanu ergorefleksnu aktivnost, odnosno pojačanu osetljivost na metaboličke efekte mišićnog rada [57].

Povećana hemosenzitivnost u korelaciji je sa povećanom neurohumoralnom aktivacijom, pogoršanjem funkcijske sposobnosti i smanjenjem preživljavanja, a pojačana ergorefleksivnost koreliše sa pogoršanjem simptoma bolesti i smanjenom tolerancijom na fizički napor [58].



Slika 4. Efekti aktivacije simpatičkog nervnog sistema na srce, bubrege i perifernu vaskulaturu. Modifikovano od Hartupee J, et al. [50]

2.3.9. Uloga periferne vaskulature u patogenezi srčane insuficijencije sa redukovanom ejekcionom frakcijom

Distribucija protoka krvi u tkivima i organima, kao i periferni vaskularni otpor regulisani su kombinacijom sistemskih faktora i to sistema RAA i SNS, kao i lokalnim autoregulatornim mehanizmima. U patogenezi srčane insuficijencije, prekomerna aktivacija SNS sa posledničnim oslobađanjem noradrenalina i aktivacijom α_1 receptora dovodi do periferne vazokonstrikcije, koju dalje trajno podržava kontinuirana aktivacija sistema RAA, preko delovanja angiotenzina II, ali i ostalih vazokonstriktornih molekula: AVP, endotelina, neuropeptida I, urotenzina II i drugih [50]. Periferna vazokonstrikcija arteriola pomaže u održavanju normalnog krvnog pritiska, dok lokalni autoregulatorni mehanizmi omogućavaju adekvatnu perfuziju vitalnih organa (mozga i srca), preusmeravajući u njih protok krvi iz skeletne muskulature, kože, splanične regije i bubrega. Neurohumoralna aktivacija, sa druge strane, dovodi do venske vazodilatacije, čime dolazi do povećanja prethodnog opterećenja srca (*preload*) i smanjenja otpora istiskivanju krvi (*afterload*), sa ciljem povećanja

kontraktilnosti srca i minutnog volumena. Porast venskog protoka može vremenom da dovede do neželjenog povećanja pritiska punjenja leve komore, dok će povećana periferna vazokonstrikcija dovesti do povećanog otpora istiskivanju krvi. Ove hemodinamske promene dodatno pogoršavaju pumpnu funkciju srca, povećavaju neurohumoralnu aktivaciju i doprinose remodelovanju leve komore. Dokazano je da kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom, kontraregulatorni vazodilatatorni sistemi (apelin, bradikinin, natriuretski peptidi, azotni oksid i vazodilatatorni prostaglandini) postaju regulatorno nedovoljni, što doprinosi razvoju kontinuirane i progresivne vazokonstrikcije [50].

2.4. Patogenetski aspekti remodelovanja leve komore

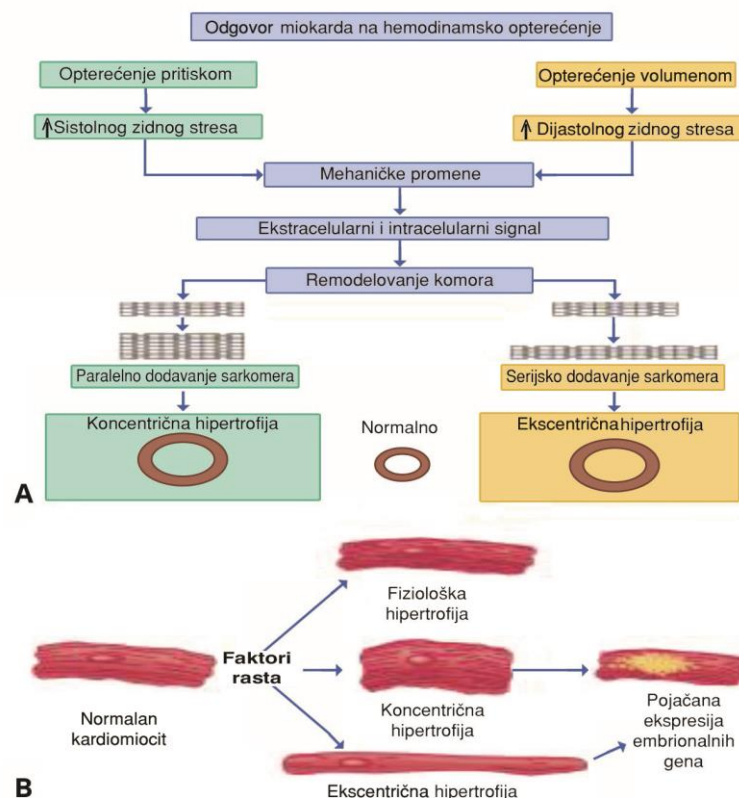
Koncept „remodelovanje leve komore” podrazumeva promenu mase, zapremine i oblika leve komore i nastaje nakon mehaničkog oštećenja ili hemodinamskog preopterećenja srca. Sa druge strane, trajna neurohumoralna aktivacija dovodi do brojnih ćelijskih i molekulskih promena u srcu, koje takođe učestvuju u patogenezi remodelovanja leve komore. Ove promene uključuju: 1) promene u biologiji miocita (miokardna hipertrofija; desenzibilizacija β -adrenergičkih receptora; smanjena ekspresija gena za teške lance α -miozina, sa istovremenim porastom ekspresije gena za teške lanca β -miozina; promene regulatornih proteina miofilamenta; kardiomiocitoliza, 2) promene u miokardu (progresivni gubitak kardiomiocita apoptozom, autofagijom i nekrozom, kao i promene u samom ekstracelularnom matriksu) i 3) promene u geometriji leve komore [50].

Tabela 1. Promene miokarda tokom remodelovanja leve komore. Modifikovano od Hartupee J, et al. [50]

Promene u biologiji kardiomiocita: hipertrofija, citoliza, promena u genskoj ekspresiji za teške lance miozina, promena citoskeletnih proteina, β -adrenergička desenzitizacija
Miokardne promene: Gubitak kardiomiocita: nekroza, apoptoza, autofagija Promene ekstracelularnog matriksa: degradacija ekstracelularnog matriksa i fibroza miokarda
Promene u geometriji leve komore: povećanje veličine, povećanje sferičnosti, istanjenje zida, nekompetentost mitralne valvule

2.4.1. Promene u biologiji kardiomiocita

Brojna istraživanja ukazala su na to da kardiomiociti prolaze kroz niz važnih promena koje prethode gubitku kontraktilne funkcije. U eksperimentalnom modelu srčane



Slika 5. Miokardno i ćelijsko remodelovanje kao odgovor na hemodinamsko preopterećenje. Modifikovano od Mann DL, et al. [50]

slabosti dokazano je da je kontraktilna sposobnost izolovanih kardiomiocita smanjena za 50% u poređenju sa kardiomiocitima zdravog srca. Hipertrofija kardiomiocita značajna je promena koja se dešava u patogenezi remodelovanja leve komore, a kao odgovor na hemodinamsko opterećenje mogu se opisati dve forme hipertrofije kardiomiocita, prikazano na slici 5 [50].

Kada hemodinamsko preopterećenje uzrokuje pretežno promenu volumena LK, povećanje dijastolnog zidnog stresa dovodi do serijskog dodavanja sarkomera, pojedini miociti razvijaju izduženi izgled i dolazi do dilatacije leve komore, što se naziva "ekscentričnom hipertrofijom" i koja se razvija kao odgovor na preopterećenje volumenom [59]. Suprotno tome, kada je preopterećenje uzrokovano pritiskom (arterijska hipertenzija i aortna stenoza), stres zida u sistoli leve komore dovodi do paralelnog dodavanja sarkomera i širenja kardiomiocita, što dovodi do "koncentrične hipertrofije" (patogeneza oba procesa prikazana je na slici 5, a i b). Hipertrofija kardiomiocita takođe je uslovljena promenama u sastavu i arhitekturi sarkomera, što je posledica promena u ekspresiji pojedinih gena.

Te promene u ekspresiji gena mogu biti uzrokovane većim brojem faktora: neurohumoralna aktivacija, mehanički stres, citokini i slobodni radikali koji sinergistički dovode do oslabljene kontraktilnosti miocita [60]. Ekspresija "maladaptivnih" embrionalnih gena povećana je i u ekscentričnoj i koncentričnoj hipertrofiji, ali ne i u fiziološkoj hipertrofiji kardiomiocita, koja se javlja tokom fizičkog vežbanja [61]. Dokumentovano je da u patogenezi srčane insuficijencije, u terminalnom stadijumu, dolazi i do kardiomiocitolize, gubitka kontraktilnih proteina i funkcionalnih sarkomera, što značajno doprinosi smanjenju kontraktilne funkcije [62].

Jedan od opisanih patogenetskih mehanizama u redukciji kontraktilne funkcije jeste i desenzibilizacija β -adrenergičkih receptora. Poznato je da u zdravom miokardu β 1-adrenergički receptori predstavljaju dominantni podtip receptora (70-80%), a preostali receptora pripadaju β 2 podtipu. Stimulacija β 1-receptora dovodi do aktiviranja signalizacije Gs proteina, što povećava aktivnost adenilat ciklaze i nakupljanje cikličnog adenozin monofosfata (cAMP) u kardiomiocitima, što dovodi do njihove kontrakcije. Istovremeno β 2-adrenergički receptori pokreću niz signalnih odgovora, jer su povezani ne samo sa Gs-proteinima, već i sa Gi-proteinima, a krajnji rezultat predstavlja inhibicija adenilat ciklaze i smanjeno nakupljanje cAMP u kardiomiocitima [63]. U srčanoj insuficijenciji zapažena je promena u ekspresiji i funkciji ovih receptora, odnosno smanjenje ekspresije β 1-adrenergičkih receptora, zbog čega se i menja odnos β 1: β 2-receptora, koji ovde iznosi 50:50. Oba podtipa ovih receptora podležu funkcijskoj desenzibilizaciji, tačnije, dolazi do odvajanja G proteina od njih, čime se smanjuje njihova funkcija, što dovodi do smanjenja adenilat

ciklaze i nakupljanja cAMP, uz slabljenje kontraktilnosti. Smatra se da se ova desenzibilizacija β -adrenergičkih receptora može smanjiti lečenjem β -blokatorima, čime se vraća adrenergička osetljivost, poboljšava kontraktilna funkcija srca i ukupno preživljavanje [64].

2.4.2. Promene u ekstracelularnom matriksu

Promene u miokardu obolelih od srčane insuficijencije odnose se na progresivan gubitak samih kardiomiocita, ali i na vrlo značajne promene u ekstracelularnom matriksu (ECM). Odavno se zna da u srčanoj insuficijenciji dolazi do progresivne smrti kardiomiocita (nekroza, apoptoza i autofagija), što značajno doprinosi progresiji bolesti [50].

Nekroza je aktivna ćelijska smrt, praćena inflamacijom i porastom nivoa Ca^{2+} u citozolu, što dovodi do prekomerne aktivacije i formiranja stereotipnih fibroznih traka, a “sterilna” inflamatorna reakcija dovodi do daljeg oštećenja tkiva i daljeg umiranja kardiomiocita. Proces nekroze pospešen je neurohumoralnom aktivacijom, jer se zna da povećanje koncentracija noradrenalina, angiotenzina II i TNF- α deluju kardiotoksično i indukuju nekrozu kardiomiocita [50, 65].

Apoptoza predstavlja programiranu ćelijsku smrt, zapisanu u genomu ćelija, a koja se može prevremeno aktivirati na nekoliko različitih načina: dejstvom aktivnih supstanci, odsustvom faktora rasta, citokina ili hormona neophodnih za preživljavanje ćelija ili dejstvom faktora koji dovode do oštećenja. Neka istraživanja pokazala su da trajna apoptoza (čak i niskoaktivna), može da doprinese progresiji srčane insuficijencije, jer je dokazano da neurohumoralno delovanje može da započne apoptozu. Aktivacija β 1-adrenergičkih receptora posreduje u započinjanju apoptoze, dok stimulacija β 2-adrenergičkih receptora deluje protektivno. Angiotenzin II i TNF- α , kao dokazani plejotropni molekuli dovode do apoptoze kardiomiocita [50].

Autofagija se morfološki definiše kao smrt ćelija, koja se javlja usled masivne vakuolizacije citoplazme i za sada je, kao patofiziološki fenomen, manje razumljiv od nekroze i apoptoze. Uglavnom se smatra važnim oblikom preživljavanja ćelija, koji se aktivira nakon delovanja stresora. Krajnji ishod je katabolizam intraćelijskih organela i proteina, što se može koristiti za stvaranje neophodne energije u trenucima stresa. Da li se autofagija dešava usled smrti ćelija ili aktivno doprinosi smrti ćelije, nije još uvek u potpunosti definisano [50].

Ekstracelularni matriks (ECM) fiziološki funkcioniše kao skelet, neophodan za pravilan raspored kardiomiocita, a važan je i za prenos kontraktilne sile [66]. Nekoliko značajnih promena ECM opisano je tokom patogeneze miokardnog remodelovanja u srčanoj slabosti, uključujući promene u sintezi kolagena i preuređenje i razgradnja komponenti ECM matriksa. Svako narušavanje ravnoteže između razgradnje ECM matriksa i *de novo* produkcije njegovih komponenti, nedvosmisleno ima štetan uticaj na funkciju miokarda. Izražena fibroza dovodi do porasta krutosti miokarda i narušava arhitekturu tkiva. Suprotno tome, povećana razgradnja proteina ECM može da smanji silu transdukcije, da istanji ventrikularne zidove komora, tako da gubitak skeleta doprinosi dilataciji komora. Dokazano je da nakon povrede tkiva dolazi do nakupljanja miofibroblasta i prekomerne produkcije fibrilarnog kolagena, kao i njegovog taloženja nakon smrti kardiomiocita. Akumulacija i aktivacija miofibroblasta kontroliše se složenom interakcijom neurohumoralnih, mehaničkih i inflamatornih signala, a aktivacija sistema RAA, preko angiotenzina II, endotelina i aldosterona, predstavlja moćan stimulus za prekomernu fibrozu miokarda. Angiotenzin II deluje direktno, preko svojih AT1 receptora putem aktivacije fibroblasta, do proizvodnje kolagena i finalnog remodelovanja [67].

U patogenezi remodelovanja značajnu ulogu imaju i aktivirani enzimi, matriks metaloproteinaze (MMP) [66]. Precizni okidači aktivacije MMP nisu poznati, ali se pretpostavlja da brojni medijatori koji se pojačano ekspimiraju u srčanoj slabosti (TNF- α , ostali proinflamatorni citokini i faktori rasta) mogu da aktiviraju MMP. Brzina degradacije ECM nalazi se pod uticajem ovih enzima i kontrolisana je ravnotežom između ekspresije MMP i njihovih inhibitora, odnosno tkivnih inhibitora metaloproteinaza (TIMP). U srčanoj slabosti povećana je ekspresija MMP-9, dok je smanjena ekspresija TIMP-1 (tkivni inhibitor metaloproteinaze 1) i TIMP-3 (tkivni inhibitor metaloproteinaze 3). U eksperimentalnim modelima srčane slabosti, dokazano je da povećana ekspresija MMP i smanjena ekspresija TIMP doprinose dilataciji miokarda i napredovanju srčane insuficijencije [68].

2.4.3. Promene u geometriji leve komore

Nedvosmisleno je da remodelovanje leve komore doprinosi pogoršanju funkcije srca. Povećanje veličine leve komore i promena oblika (od normalnog elipsoidnog do sferičnog oblika), stvara niz novih mehaničkih opterećenja srca. Primarno dolazi do

razdvajanja papilarnih mišića, što dovodi do nekompetentnosti mitralnog zaliska i razvoja „funkcijske mitralne regurgitacije“, koja je sa kliničkog aspekta veoma značajna i dovodi do daljeg hemodinamskog opterećenja leve komore. Tako nastalo mehaničko opterećenje, u daljoj patogenezi, dovodi do smanjenja minutnog volumena, povećanja end-dijastolnog volumena i dilatacije leve komore, uz porast naknadnog hemodinamskog opterećenja. Ovi patofiziološki fenomeni zbirno doprinose napredovanju bolesti, nezavisno od neurohumoralnog statusa pacijenta. Dilatacija leve komore dovodi do hipoperfuzije subendokarda, sa pogoršanjem funkcije leve komore i povećanja oksidativnog stresa. Krajnji rezultat oglada se u tome da leva komora, ovako remodelovana, ne može da odgovori na normalne homeostatske regulatorne mehanizme, što dovodi do brze progresije bolesti i loše prognoze [50, 69]. Farmakološka blokada sistema RAA i β -adrenergičkih receptora kod pacijenata sa redukovanom EF veoma je efikasna u redukciji simptoma i napredovanju bolesti.

Bez obzira na evidentan napredak u razumevanju patogenetskih mehanizama i shodno tome, definisanju tačne farmakološke terapije ovih pacijenata, srčana insuficijencija sa redukovanom EF i dalje pokazuje visoku stopa morbiditeta i mortaliteta. Iako blokada neurohumoralne aktivacije usporava progresiju bolesti, još uvek nije pronađen optimalan tretman kojim bi se direktno ublažio ili eliminisao proces remodelovanja leve komore, verovatno ključni patogenetski iskorak ka lošem ishodu bolesti [69].

2.5. Biomarkeri u srčanoj insuficijenciji

Biomarkeri se mogu definisati kao molekularni pokazatelji sa specifičnim biološkim i/ili biohemijskim karakteristikama, koji se u kliničkoj praksi koriste u svrhu procene napredovanja bolesti ili efekta primenjene terapije. Prema definiciji Svetske zdravstvene organizacije biomarker može biti bilo koja supstanca, struktura ili proces koji se odigrava u organizmu i može se meriti u telesnim izlučevinama, a kao takav treba da predvidi učestalost ili ishod bolesti. Neophodno je da biomarker ispunjava određene kriterijume da bi njegova upotreba u kliničkoj praksi bila smisljena i korisna [70, 71].

Određivanje biomarkera, osim toga, treba da je lako, ponovljivo, standardizovano i finansijski isplativo, naročito ukoliko je u pitanju njegova rutinska primena. Biomarker treba da pruži informacije koje nisu dostupne iz kliničkog pregleda pacijenta i ti podaci bi trebalo

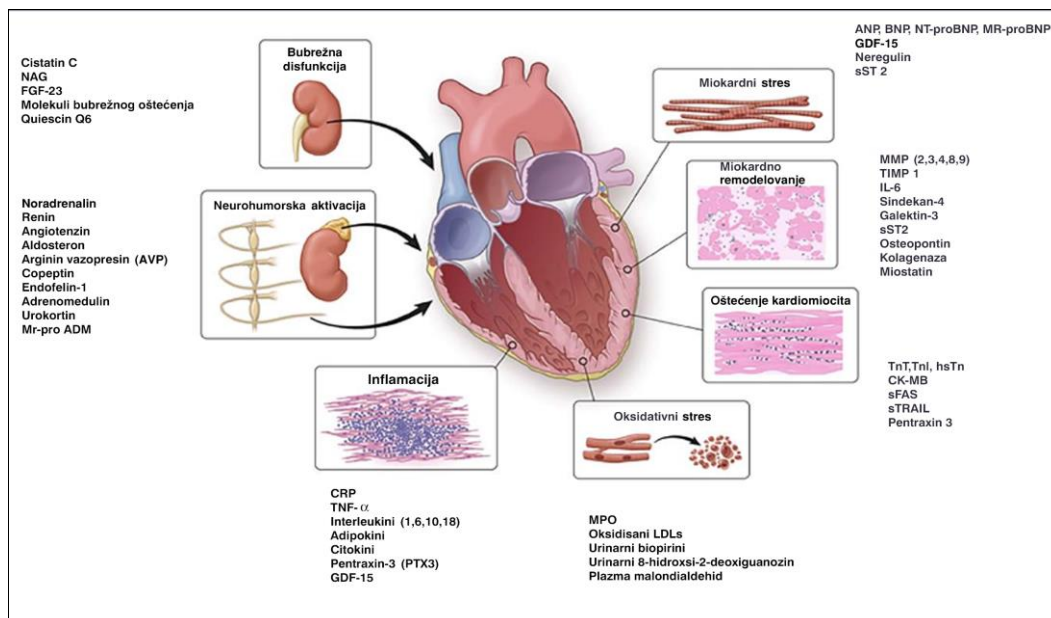
da su superiorniji i kvalitetniji u poređenju sa rutinskim i dostupnim testovima. Kvalitetan biomarker treba da bude visokoosetljiv ili visokospecifičan i da reflektuje odgovarajuće patofiziološke mehanizme u trenutku njegovog uzorkovanja [71]. Ukoliko biomarker poseduje prognostički karakter i neophodno je da pruži informacije o toku i ishodu bolesti, onda je indikovano njegovo serijsko određivanje, odnosno merenje u serijama i to: u trenutku postavljanja dijagnoze i na početku lečenja, tokom terapije i u momentu smrtnog ishoda [71].

Srčana insuficijencija poslednjih godina dobija karakteristike epidemijskog oboljenja sa tendencijom porasta broja obolelih. Iz tih razloga, svaki napredak u pravovremenom postavljanju dijagnoze, boljoj stratifikaciji rizika, adekvatnim terapijskim merama i najpreciznijem prognostičkom sagledavanju od velikog je etičkog, medicinskog i socio-ekonomskog značaja. Detekcija biomarkera u cirkulaciji, kao dopuna tradicionalnim kliničkim i dijagnostičkim testovima, predstavlja novo i vrlo perspektivno polje istraživanja u cilju bržeg dijagnostikovanja srčane slabosti, praćenja efekata primenjene terapije i konačnog ishoda. Razvoj dijagnostičkog algoritma kojim bi se što je ranije moguće postavila dijagnoza i omogućila identifikacija pacijenata koji su pod povećanim rizikom za obolevanje, ali i bolja stratifikacija rizika kod već obolelih, predstavljaju glavni cilj velikih multicentričnih studija. Interesovanje istraživača za otkrivanje cirkulišućih biomarkera koji bi predstavljali okosnicu takvog algoritma je u porastu, o čemu svedoči veliki broj publikacija i saopštenja. I pored vrlo opsežnih istraživanja i velikog broja prospektivnih multicentričnih studija, za sada se u kliničkom radu za dijagnozu i praćenje srčane slabosti koriste samo dva biomarkera, B-tip natriuretskog peptida (BNP) i pro-BNP (NT-proBNP) koji se smatraju zlatnim standardom u postavljanju dijagnoze i praćenju pacijenata sa srčanom slabošću. Vrednosti ovih biomarkera, sa druge strane, mogu biti lažno pozitivne ili lažno negativne u slučajevima postojanja pridruženih bolesti (gojaznost, bubrežna bolest i atrijska fibrilacija), jer pomenuti komorbiditeti mogu da utiču na promenu koncentracija neuropeptida (NP). Ovakvi „nedostaci“ u tumačenju vrednosti natriuretskih peptida nameću potrebu za detekcijom novih, potencijalno boljih i verodostojnijih biomarkera, koji bi samostalno ili kao dopuna natriuretskim peptidima, mogli da se koriste prilikom praćenja pacijenata sa srčanom slabošću [72].

Biomarkeri u plazmi treba da reflektuju različite patogenetske mehanizme uključene u nastanak i progresiju oboljenja. Bolje razumevanje heterogenosti u patogenezi srčane slabosti dovelo je do mogućnosti uvođenja panela biomarkera koji bi mogli da ukažu na procese inflamacije, oksidativnog stresa, nekroze, miokardnog remodelovanja, neurohumoralne aktivacije i slično. Tako predložena „multimarker“ strategija bi sa kliničkog

aspekta mogla da bude od velike koristi, jer bi se na taj način povećali senzitivnost i specifičnost dijagnostičkog procesa. Najznačajniji opisani patofiziološki mehanizmi su: miokardni stres; miokardno remodelovanje; oštećenje miocita; oksidativni stres; inflamacija; neurohumorska aktivacija i renalna disfunkcija, prikazano na slici 6 [72].

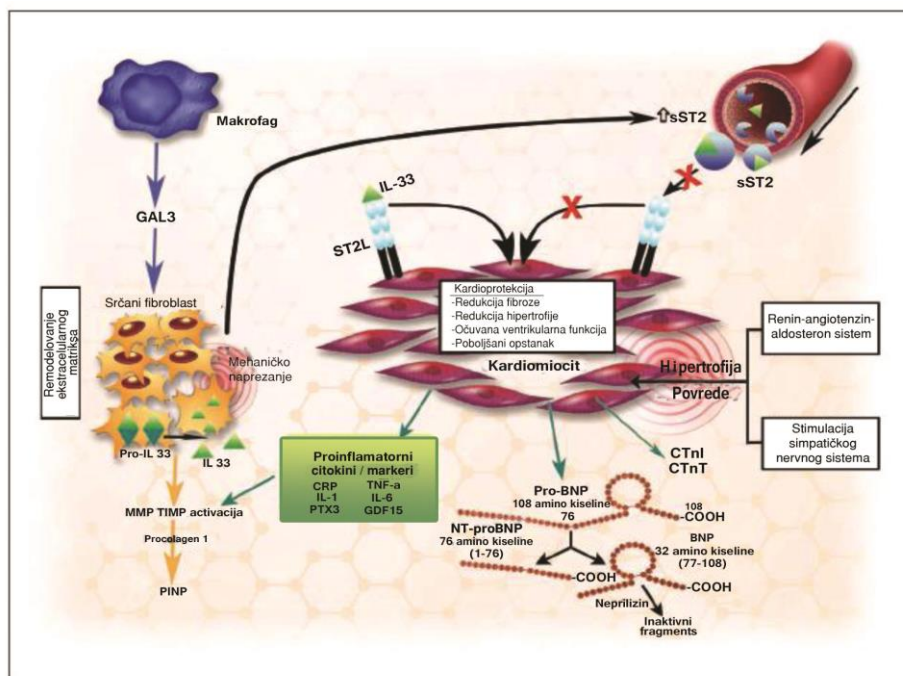
Biomarkeri koji odražavaju miokardni stres su: natriuretski peptidi (NP) i to B-tip natriuretskog peptida, (BNP), NT-proBNP, atrijalni NP (ANP) i midregionalni proatrijalni natriuretski peptid (MR-proANP), a miokardno remodelovanje: galektin-3, solubilni supresor tumorigeneze 2 (sST2), sindekan-1, faktor diferencijacije rasta 15 (GDF-15), matriks metaloproteinaze (MMP) 2, 3, 4, 8 i 9 i tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze 1 (TIMP1). Visokosenzitivni troponin (hsTn), troponin T (TnT), troponin I (TnI) i kreatin kinaza-MB (CK-MB) su biomarkeri koji pripadaju patofiziološkoj kategoriji oštećenja kardiomiocita dok je mijeloperoksidaza (MPO) biomarker koji reflektuje oksidativni stres. Inflamaciju, kao patofiziološki mehanizam, oslikavaju C-reaktivni protein (CRP), proteini iz porodice interleukina (IL-1, IL-6, IL-10 i IL-18), GDF-15, pentraksin 3 (PTX3) i tumorski faktor nekroze alfa (TNF- α). Neurohumoralnu aktivaciju odražavaju sledeći biomarkeri: endotelin-1 (ET-1), arginin vazopresin (AVP) i adrenomedulin (ADM), dok renalnu disfunkciju oslikava cistatin C (slika 7).



Slika 6. Patofiziološki mehanizmi u nastanku srčane slabosti i biomarkeri koji ih reflektuju. Modifikovano od Nasrien E, et al. [72]

Očekivano je da pojedini biomarkeri (sST2, GDF-15) ne pripadaju samo jednoj, određenoj, patofiziološkoj kategoriji, jer se ni patogenetski mehanizmi ne mogu striktno izdvojiti jedni od drugih, već se međusobno prepliću [73].

Biomarkeri novije generacije sST2, GDF-15, TGF-15, galektin-3 i miRNA za sada se ne koriste rutinski u kliničkoj praksi, ni pojedinačno niti u kombinaciji sa natriuretskim peptidima ili kliničkim parametrima, ali su brojne studije dokazale da se njihove vrednosti mogu dodati koncentracijama natriuretskih peptida prilikom postavljanja dijagnoze, stratifikacije rizika ili prognoze srčane slabosti. Multimarkerski pristup je superioran u odnosu na metodu određivanja pojedinačnih koncentracija biomarkera, ali su neophodna dalja prospektivna istraživanja da bi se utvrdila najbolja kombinacija. Za sada se rutinski koriste samo BNP, NT-proBNP i MR-proANP u dijagnozi srčane slabosti, prognozi i za praćenje efekata terapije. Procenjeno je da markeri remodelovanja mogu da imaju, ne samo prognostički značaj, već i značajnu ulogu u proceni najadekvatnijeg tretmana ovih pacijenata. Biomarkeri od kojih se na osnovu rezultata dobijenih u pretkliničkim studijama dosta očekuje, a ukazuju na proces remodelovanja miokarda su: solubilni supresor tumorigeneze 2 (sST2), galektin-3 i faktor diferencijacije rasta 15 (GDF-15).



Slika 7. Patogenetski mehanizmi koji učestvuju u procesu oštećenja miokarda i potencijalni biomarkeri u srčanoj insuficijenciji. Modifikovano od Chow L, et al. [73]

Pojedine studije kao potencijalne biomarkere navode i markere iz grupe sindekana, predominantno sindekan-1 [73, 74].

2.5.1. Biologija i struktura natriuretskih peptida

Familija natriuretskih peptida (NP) sastoji se od 4 strukturno slična, ali genetski različita molekula sa izraženim kardiovaskularnim i bubrežnim dejstvom. To su hormoni koji igraju važnu ulogu u homeostazi natrijuma i volumena telesnih tečnosti. Sinteza i oslobađanje ovih hormona determinisana je različitim promenama sistemskog krvnog pritiska, povećanjem ekstracelularnog volumena i narušavanjem balansa natrijuma. Njihova ključna, fiziološka uloga jeste da indukuju natriurezu, vazodilataciju, smanjenje simpatičke aktivnosti i da smanje oslobađanje arginin-vazopresina i aldosterona, blokadom sistema renin-angiotenzin-aldosteron. Natriuretski peptidi fiziološki deluju i tako što eksprimiraju antifibrotski, antiproliferativni i antiinflamatorni efekat [75]. Za sada su identifikovana i dobro objašnjena četiri tipa natriuretskih peptida: aatrijalni (pretkomorski) natriuretski peptid (ANP), moždani (brain) ili B-tip natriuretski peptid (BNP), C-tip natriuretski peptid (CNP) i dendroaspis natriuretski peptid (DNP). Aatrijalni natriuretski peptid i BNP indukuju diurezu, natriurezu i vazodilataciju, dok CNP ispoljava antimitogene efekte i predominantno dovodi do relaksacije glatkih mišićnih ćelija krvnih sudova. Dendroaspis natriuretski peptid poseduje različita zajednička svojstva sa ANP-om i BNP-om, ali njegova uloga u humanoj fiziologiji još uvek nije u potpunosti razjašnjena. Regulacija sinteze i sekrecije BNP determinisana je genom lociranim na hromozomu broj 1 i povećava se u uslovima odgovarajuće stimulacije [76]. Rezultat toga je njegova sinteza, najpre u obliku aminokiselinskog prekursora koji sadrži 134 amino kiseline (pre-proBNP). Cepanjem signalnog peptida ostaje prohormon (proBNP), sa 108 aminokiselina, koji se dejstvom enzima furina razlaže na dva dela; N-terminalni, neaktivni (NT-proBNP) koji sadrži 76 aminokielina i fiziološki aktivan C-terminalni peptid (BNP), koji sadrži 32 aminokiseline, od kojih 17 aminokiselina čine prsten, zajednički za sve natriuretske peptide [77].

Natriuretski peptidi se razgrađuju pod uticajem enzima neutralne endopeptidaze koja sadrži cink, cink metaloproteinaze, prisutnog na površini endotelnih ćelija, glatkih mišićnih ćelija, kardiomiocita, renalnog epitela i fibroblasta. Bez obzira što su ovi enzimi eksprimirani u bubrezima, glomerulska filtracija ima zanemarljivu ulogu u eliminaciji BNP,

dok se eliminacija NT-proBNP odvija uglavnom renalnom ekskrecijom. B-tip natriuretskog peptida se u plazmi razgradi za 20 minuta, dok je poluživot NT-proBNP oko 120 min. [78].

Natriuretski peptidi svoje fiziološke efekte ostvaruju delovanjem na svoje specifične receptore. Do sada su identifikovane 3 vrste receptora za natriuretske peptide: natriuretski peptid receptor (NPR) A, B i C. Nakon vezivanja natriuretskih peptida za A i B receptore na površini ciljnih ćelija dolazi do formiranja sekundarnog glasnika, cikličnog guanozin monofosfata (cGMP), koji posreduje u ostvarivanju većine njihovih bioloških efekata. Osim u bubrezima (glomerul i medularni sabirni duktusi) receptori za natriuretske peptide nađeni su i u mozgu, plućima i aorti. Natriuretski peptidi se uklanjaju iz cirkulacije putem specifičnih bioloških receptora guanil ciklaze A, koji su naročito zastupljeni u bubrezima i vaskularnom tkivu [79].

Biološki efekat B-natriuretskog peptida podrazumeva pojačanu diurezu, vazodilataciju, produkciju kardiomiocitnog rasta, inhibiciju sistema RAA i inhibiciju delovanja simpatičkog nervnog sistema [79]. U bubrezima, BNP postiže natriuretski efekat i diurezu povećanjem jačine glomerulske filtracije i inhibicijom reapsorpcije natrijuma. Glavni efekat se ostvaruje dilatacijom aferentne arteriole, uz istovremenu konstrikciju eferentnih arteriola, rezultujući povećanjem intraglomerulskog pritiska i glomerulske filtracije, dok relaksacija mezangijskih ćelija povećava filtracijsku površinu i bubrežni protok krvi. Na nivou medularnih sabirnih kanalića dolazi do inhibicije luminalnih kanala za natrijum, što dovodi do natriureze. Usled inhibicije oslobađanja renina i inhibicije dejstva arginin-vazopresina na sabirne kanaliće, u kasnijem toku, dolazi do daljeg istovremenog povećanja natriureze i diureze [79, 80].

Natriuretski peptidi dovode do relaksacije glatke muskulature krvnih sudova, uzrokujući arterijsku i vensku dilataciju, što zajedno sa natriurezom dovodi do smanjenja "prelada" i smanjenja krvnog pritiska. U tako stvorenim uslovima, koronarna vazodilatacija poboljšava perfuziju miokarda, a bez povećane potrošnje kiseonika i bez izmene inotropnog stanja miokarda [75]. B-tip natriuretskog peptida takođe inhibira RAA osovinu i istovremeno blokira ili smanjuje stimulatorni efekat angiotenzina II na oslobađanje aldosterona, ali i ostalih vazokonstriktornih molekula (kateholamini i endotelin-1). Pored direktnih relaksirajućih efekata koje ispoljava u miokardu, BNP ispoljava i antiproliferativni i antifibrozni efekat na vaskularno tkivo [81]. Na nivou centralnog nervnog sistema BNP inhibira oslobađanje kortikotropnog hormona i arginin vazopresina i deluje na nivou moždanog stabla, smanjujući tonus simpatičkog nervnog sistema [75, 82].

2.5.2. Uloga i mesto B-tipa natriuretskog peptida u hroničnoj srčanoj insuficijaciji

Povećana sekrecija BNP u miokardu posledica je miokardnog odgovora na stres zida leve komore (LK) i istežanje kardiomiocita, usled povećanog opterećenja komora volumenom i/ili pritiskom. B-tip natriuretskog peptida sintetise se i sekretuje u oslabljenom i hipertrofičnom srcu, tako da njegove povišene vrednosti ukazuju na smanjenu funkciju srca, ali i na proces miokardnog remodelovanja. U eksperimentalnim uslovima dokazano je da i ishemija izaziva njegovu povećanu sekreciju [83]. Od 2000. godine, određivanje koncentracije natriuretskih peptida (BNP i NT-proBNP) u plazmi postalo je rutinski i neinvazivni deo kliničke prakse u obradi pacijenata sa srčanom slabošću (IA klasa dokaza za dijagnozu i prognozu hronične srčane insuficijacije) [84].

Prednost merenja BNP u odnosu na NT-proBNP ogleda se u tome što se BNP brže sintetise, ima duže poluvreme života u plazmi, ne skladišti se i manje zavisi od starosti i bubrežne funkcije. Sa druge strane, vrednosti BNP zavise od starosti, pola, ali i od prisustva ili odsustva hronične srčane slabosti. Patofiziološki efekat starenja ogleda se u tome da sa godinama leva komora postaje kruta i stimuliše stvaranje BNP, čije koncentracije u plazmi rastu, ali samo do određenih vrednosti, odnosno dok se ne razvije sistolna ili dijastolna disfunkcija leve komore. Osim toga, vrednosti BNP se povećavaju i sa povećanjem mase leve komore. Žene u opštoj populaciji, bez dijagnoze srčane slabosti, takođe imaju nešto viši nivo BNP od muškaraca iste starosne kategorije, verovatno usled postojanja asimptomatske dijastolne disfunkcije, koja je češća kod žena [79, 85].

Rezultati velikog broja studija dokumentovali su da se merenjem BNP u plazmi sa velikom sigurnošću može diferencirati srčana slabost od drugih uzroka dispneje i da je BNP superioran u postavljanju dijagnoze bolesti u odnosu na metodu određivanja ejeckione frakcije. Koncentracije BNP više su kod pacijenata sa sistolnom disfunkcijom u odnosu na one sa izolovanom dijastolnom disfunkcijom, a najviše su kod onih sa kombinovanom (sistolno/dijastolna) disfunkcijom [86]. Senzitivnost određivanja BNP u dijagnostici izolovane dijastolne srčane slabosti slična je onoj u dijagnostici srčane slabosti sa sistolnom disfunkcijom [87]. Osim toga, dokazano je da postoji pozitivna korelacija vrednosti BNP i New York Heart Association (NYHA) funkcionalnih klasa, jer je najviša koncentracija BNP verifikovana kod pacijenata NYHA klasifikacija III i IV, kao i vrednosti hemodinamskih

parametara, kao što su end-dijastolni pritisak leve komore, plućni kapilarni pritisak, ejskciona frakcija i indeks mase leve komore [88].

Zaključno se može reći da kod bolesnika sa hroničnom srčanom slabošću više koncentracije BNP pozitivno korelišu sa povećanim kardiovaskularnim i sveukupnim mortalitetom, nezavisno od starosti, NYHA klasifikacije, ranijeg infarkta miokarda i ejskzione frakcije leve komore. Povišene koncentracije BNP, takođe, nezavisno korelišu sa učestalošću rehospitalizacija i naprasne srčane smrti kod ovih bolesnika. Visoka senzitivnost BNP i negativna prediktivna vrednost od velikog su kliničkog značaja u postavljanju dijagnoze hronične srčane slabosti, a primena tretmana koji bi bio usmeren na smanjenje koncentracije BNP predstavlja značajan korak u tretmanu i ishodu bolesti [89, 90].

2.5.3. Biologija i struktura solubilnog supresora tumorgeneze 2

Solubilni supresor tumorgeneze 2 (sST2), član je familije receptora za interleukin-1 (IL-1) i dokazano je da njegova koncentracija u cirkulaciji odražava stepen kardiovaskularnog stresa i fibrozu. Pored natriuretskih peptida, za sada, kao etabliranih markera za dijagnozu i praćenje srčane slabosti, sST2 se smatra najperspektivnijim markerom za stratifikaciju faktora rizika kod obolelih i praćenje progresije srčane slabosti. Kao dokazani biomarker fibroze i miokardnog remodelovanja može biti pridodat postojećim metodama tokom tretmana pacijenata sa srčanom slabošću [91]. Pored navedenih karakteristika, smatra se da na njegovu koncentraciju ne utiču težina pacijenata, godine i bubrežna funkcija, te se na taj način može smatrati superiornim u poređenju sa natriuretskim peptidima. Rezultati brojnih studija ukazali su da njegovo serijsko merenje ima značajan prognostički karakter za ponavljane hospitalizacije, kao i za opšti i kardiovaskularni mortalitet.

Gen za sST2 lokalizovan je na drugom hromozomu (lokus 2q12) i deo je većeg klastera gena za IL-1. Njegova osnovna, fiziološka, uloga je da kodira najmanje dve izoforme ovog proteina i to [92] prvu formu, membranski oblik, ST2L, koji funkcioniše kao transmembranski receptor i sadrži vanćelijski domen (sastavljen od imunoglobulinskih domena), transmembranski segment i intracelularni, citoplazmatski domen, Toll-interleukin-1 receptor (TIR). Druga forma je izlučeni, rastvorljivi, oblik, sST2, solubilna forma, koja se

može jednostavno meriti u cirkulaciji (serum ili plazma), a nedostaju mu transmembranski i citoplazmatski domeni i obuhvata jedinstveni C-terminalni niz od 9 aminokiselina.

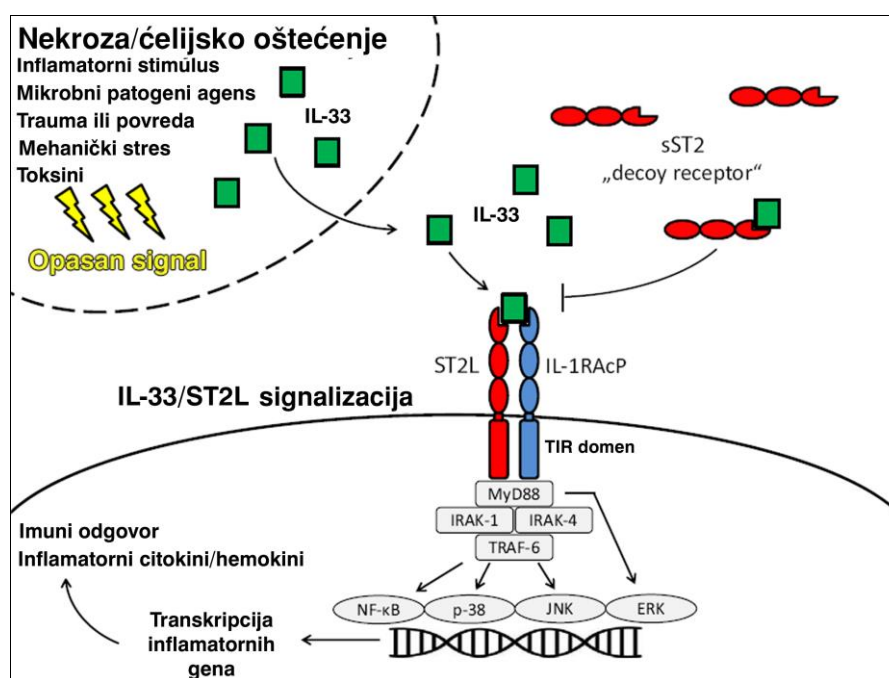
Funkcionalni ligand za transmembransku izoformu ST2 predstavlja interleukin-33 (IL-33) [93], pri čemu IL-33/ST2L veza poseduje kardioprotektivni efekat i aktivira se u stanjima različitih kardiomiocitnih lezija, npr. usled hipoksije ili ishemijskog oštećenja, sa ciljem očuvanja funkcije srca. Ovaj vid signalizacije prvobitno je opisan u kontekstu inflamacije i imunskih procesa, naročito povezanih sa Th2 imunskim odgovorom. Shodno tome, prvobitno je dokazana u mnogobrojnim studijama vezanim za astmu, plućnu fibrozu, reumatoidni artritis, kolagenske vaskularne bolesti, sepsu, traume, malignitete, fibroproliferativne bolesti i ulcerozni kolitis [94]. Solubilna forma ST2 inicijalno je ispitivana kao dijagnostički i prognostički marker u bolestima imunskog sistema, a na osnovu toga je prvo pretpostavljeno, a onda i dokazano, da se može koristiti u kardiovaskularnoj patologiji, potencijalno kao samostalan marker ili, verovatnije, u kombinaciji sa ostalim biomarkerima [92].

Fiziološka uloga IL-33 je da funkcioniše kao indikator oštećenja tkiva nakon delovanja različitih etioloških noxi, stresa, povreda, ateroskleroze, hipoksije, ishemije ili nekroze, slika 8 [95]. Formirana IL-33/ST2L veza signalizira i indukuje transkripciju proinflamatornih gena i sekreciju proinflamatornih citokina i/ili hemokina, što predstavlja očekivan imunski odgovor, sa finalnim kardioprotektivnim efektom. Solubilna izoforma ST2 (sST2), međutim, može da se veže za IL-33, pri čemu funkcioniše kao „lažni“ receptor za IL-33, inhibirajući korisnu IL-33/ST2L signalizaciju i posredno indukujući veće oštećenje kardiomiocita. Povećane koncentracije sST2 u cirkulaciji umanjuju sistemske, biološke efekte IL-33 i dovode do razvoja fibroze i remodelovanja miokarda [95, 96]. Na nivou samog miokarda, IL-33, koji primarno sekretuju fibroblasti, vezuje se za transmembransku izoformu ST2 (ST2L) i ovaj formirani kompleks (IL-33/ST2L) aktivira brojne intracelularne signalne kaskade, što dovodi do povećane ekspresije nuklearnog faktora (NF)- κ B. Na taj način dolazi do smanjenja fibroze miokarda, hipertrofije kardiomiocita i njihove apoptoze, što finalno poboljšava funkciju miokarda. Istovremeno, ova signalizacija izrazito antagonizuje angiotenzinom II indukovanu hipertrofiju kardiomiocita, pri čemu dodatno dovodi do redukcije hipertrofije miokarda i potvrđuje kardioprotektivni efekat IL-33/ST2L signalizacije [97]. Kod pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću dokazane su povećane koncentracije sST2, forme koja funkcioniše kao fiziološki kompetitor sa transmembranskom izoformom za IL-33, tako da je kod njih predominantno formirana veza IL-33/sST2 koja blokira

kardioprotektivan efekat IL-33/ST2L sistema i shodno tome dovodi do progresije bolesti [93, 98].

Ovaj patofiziološki mehanizam dokazan je u ekperimentalnom modelu srčane slabosti (opterećenje komora pritiskom nakon podvezivanja aorte), gde je nakon aplikacije IL-33, kod eksperimentalnih životinja, došlo do redukcije miokardne hipertrofije, fibroze, koncentracija natriuretskih peptida u plazmi, ventrikularne disfunkcije i prevremene smrti [97]. U stanjima miokardne hipoksije, IL-33 smanjuje apoptozu kardiomiocita, pri čemu dodatni sST2, poreklom iz oštećenih kardiomiocita, redukuje kardioprotektivan efekat IL-33 [99].

Pojedine studije objasnile su da zaštitni efekti IL-33 mogu biti ograničeni neurohumoralnom aktivacijom, predominantno endotelinom-1, koji se u hipoksiji pojačano oslobađa iz oštećenih ćelija.

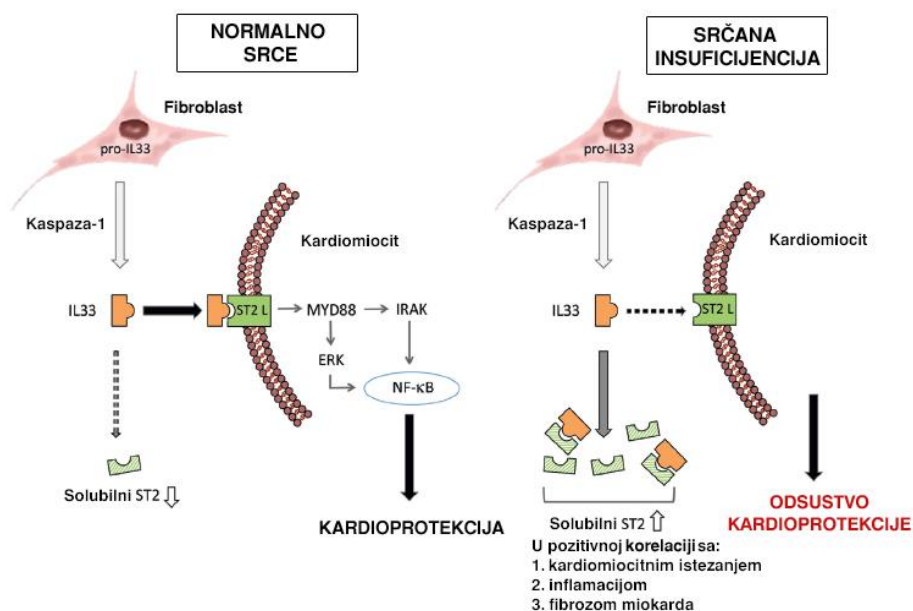


Slika 8. Patofiziološki efekti solubilne i transmembranske forme ST2. Modifikovano od Dieplinger B, et al. [95]

Endotelin-1 dovodi do porasta ekspresije sST2 i inhibira IL-33 signalizaciju, indukcijom P38 mitogen aktiviranog protein kinaznog (MAP) puta [100]. U animalnom modelu sa akutnim infarktomiokarda, ekspresija sST2 u tkivu miokarda bila je u pozitivnoj korelaciji sa evidentiranim procesima fibroze i inflamacije, prilikom čega je i dokazano da

tretman antagonistima mineralokortikoidnih receptora pojačava korisnu IL-33/ST2L signalizaciju (slika 9). Kod tretiranih životinja je dokazan manji stepen ekspresije sST2 u infarciranoj oblasti, niže koncentracije markera inflamacije i manji stepen fibroze tkiva. Ovi podaci doveli su do toga da se antagonisti mineralokortikoidnih receptora uvedu kao obavezna antiproliferativna terapija kod pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću [101].

Histološkom obradom tkiva dokazano je da su kardiomiociti i fibroblasti glavni izvori sST2, ali se zna da ih mogu sekretovati i endotelne ćelije aortnog i koronarnog sistema i mikrovaskulature srčanog sistema. Doprinos ove ekstrakardijalne proizvodnje ukupnom sST2 u cirkulaciji, u patofiziologiji srčane slabosti i drugim srčanim oboljenjima, do sada, nije u potpunosti razjašnjen [102].



Slika 9. Signalizacija IL-33/ST2 u neoštećenom srcu i u patogenezi srčane insuficijencije. Modifikovano od Bayés-Genís A, et al. [103]

Solubilna forma ST2 se može lako meriti u serumu ili plazmi ELISA metodom, sa graničnim vrednostima do 35 ng/ml [92]. Za razliku od natiruretskih peptida, na koncentraciju sST2 minimalno utiču karakteristike pacijenta kao što su starost, gojaznost, etiologija srčane insuficijencije i anemija, kao i funkcija bubrega [104].

2.5.4. Uloga i mesto solubilnog supresora tumorigeneze 2 u hroničnoj srčanoj insuficijenciji

Prema brojnim istraživanjima i Američkom vodiču za tretman i lečenje srčane slabosti (klasa II, nivo dokaza B) [105], sST2 trenutno predstavlja najperspektivniji biomarker u stratifikaciji rizika kod pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću, uz napomenu da je sST2 prognostički, ali ne i dijagnostički marker [103]. Dokazano je da je serijsko merenje sST2 značajno za prognozu pacijenata sa srčanom slabošću, tačnije, da su povišene vrednosti ovog biomarkera korelisale sa dvostruko većim rizikom od smrti ili transplantacije u odnosu na jedno, osnovno merenje sST2 [106]. U poređenju sa ostalim biomarkerima dokazano je da je sST2 superiorniji u odnosu na galektin-3 u stratifikaciji rizika i da su ostali markeri povezani sa porastom opšteg mortaliteta, ali da je samo sST2 povezan sa kardiovaskularnim mortalitetom [107]. Analizirana je i prognostička vrednost sST2 u odnosu na koncentracije natriuretskih peptida (BNP, NT-proBNP i proBNP) i konvencionalne faktore rizika (starost ispitanika, ejakciona frakcija leve komore i jačina glomerulske filtracije), pri čemu je dokazano da je sST2 najjači prediktor kardiovaskularne smrti [108]. Dokumentovane su i najviše koncentracije sST2 kod pacijenata sa značajnim simptomima bolesti, sa lošijom NYHA funkcionalnom klasom, nižom ejakcionom frakcijom i višim vrednostima klirensa kreatinina [109, 110]. Studije realizovane poslednjih godina dale su primat određivanju sST2 kod pacijenata sa srčanom slabošću sa očuvanom ejakcionom frakcijom, jer je dokazano da je kod ovih pacijenata njegovo merenje superiorno u odnosu na merenje NT-proBNP, kao i da koncentracije sST2 pozitivno korelišu sa ehokardiografskim parametrima dijastolne disfunkcije [109].

Studije koje su istraživale uticaj lekova na promenu koncentracija sST2 u plazmi dokazale su da su ispitanici koji su u terapiji koristili inhibitore angiotenzin konvertujućeg enzima (ACEI), inhibitore mineralokortikoidnih receptora i β -blokatore, imali značajno niže koncentracije ovog biomarkera, dok su pacijenti koji su kao terapiju dobijali digoksin i diuretike, imali značajno više koncentracije sST2 u plazmi [92, 111]. Serijsko praćenje sST2, kao markera akutnog odbacivanja srčanog kalema, rađeno je kod pacijenata kod kojih je urađena transplatacija srca, pri čemu su koncentracije sST2 pokazale značajnu dinamiku, u smislu naglog porasta kao odgovor na odbacivanje grafta [112].

U studijama sa akutnom dekompenzacijom srčane slabosti sST2 je dokumentovan kao snažan prediktor mortaliteta, sa jasno pozitivnom korelacijom između koncentracija sST2

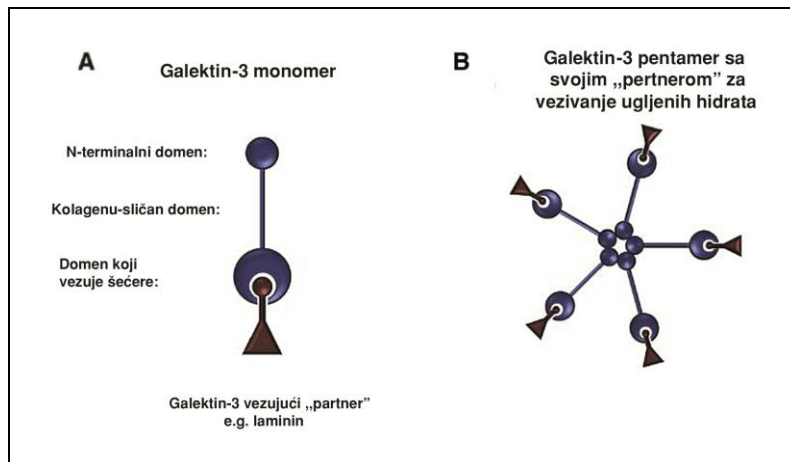
i stope smrtnosti. Njegov prognostički potencijal dodatno je potvrđen u kombinaciji sa NT-proBNP, gde su pacijenti sa visokim vrednostima oba biomarkera imali najvišu stopu jednogodišnjeg mortaliteta. Kod pacijenata sa akutnom ishemijom miokarda povišen nivo sST2 snažan je prediktor kardiovaskularnog mortaliteta ili razvoja srčane slabosti u roku od 30 dana od razvoja akutnog infarkta miokarda i može se sa uspehom koristiti za identifikaciju pacijenata kod kojih će doći do remodelovanja leve komore [110, 113].

Koncentracije sST2 u plazmi pokazuju minimalne varijacije [114], što dodatno doprinosi prednosti njegovog serijskog praćenja i potencijalno modifikacije terapije kod obolelih.

2.5.5. Biologija i struktura galektina-3

Strukturno jedinstven i najistraživaniji član porodice galektina predstavlja galektin-3, protein od 30 kDa, koji je poseban po specifičnom vezanju β -galaktozidnih struktura. Za vezivanje β -galaktozida odgovorna je evolucijski konzervirana sekvenca od 130 aminokiselina, opisana kao “domen koji veže šećere” ili C-terminalni domen karakterističan za sve galektine. Na osnovu broja i organizacije C-terminalnog domena, galektini su svrstani u tri podgrupe: prototipna podgrupa, himerna i podgrupa „uzastopno ponavljajućeg niza“. Galektin-3 pripada himernoj podgrupi i ima samo jedan domen koji vezuje ugljenohidratnu komponentu (*carbohydrate recognition domain*, CRD), ali je jedinstven po tome što sadrži dugački N-terminalni domen, bogat prolinom i glicinom, što mu olakšava vezivanje sa β -galaktozidom. Smatra se da svoje najznačajnije fiziološke uloge ostvaruje u međusobnom ćelijskom kontaktu, u interakciji ćelija sa ekstracelularnim matriksom, aktivaciji makrofaga, angiogenezi, metasazama i programiranoj ćelijskoj smrti [115, 116].

Galektin-3 je kodiran jednim genom, LGALS3, koji se nalazi na hromozomu 14, na lokusu q21-q22 i sastoji se od šest egzona i pet introna [117]. Niz koji kodira N-terminalni domen smešten je potpuno unutar egzona III, a niz koji kodira CDR domen unutar egzona V. C-terminalni domen je odgovoran za aktivnost lektina, dok je prisustvo N-terminalnog domena neophodno za punu biološku aktivnost galektina-3. Struktura galektina-3 prikazana je na slici 10 [118].



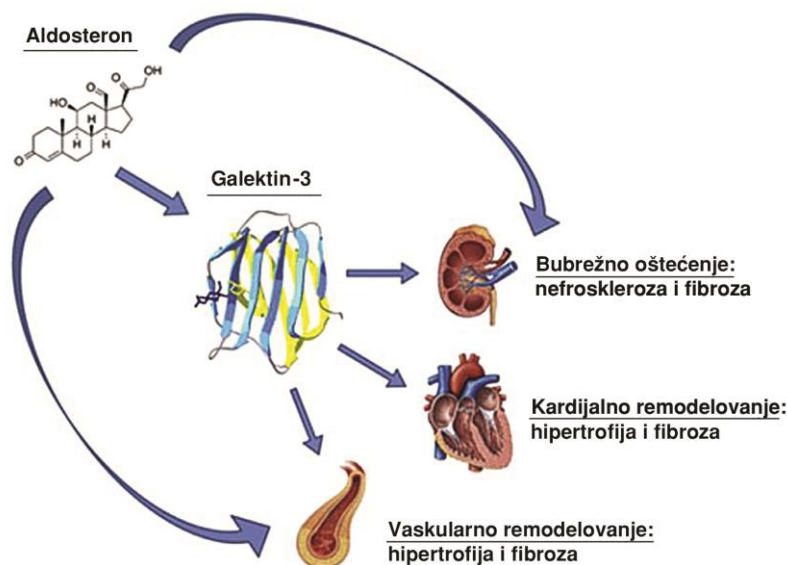
Slika 10. Struktura galektina-3. Modifikovano od d Boer RA, et al. [118]

2.5.6. Uloga i mesto galektina-3 u hroničnoj srčanoj insuficijenciji

Galektin-3 se može naći u brojnim tkivima kao što su digestivni i urogenitalni trakti, pluća, krv, bubrezi i srce. Čelije koje predominantno sintetišu i sekretuju galektin-3 su makrofagi, ali se može stvarati i u različitim tipovima ćelija mijeloidne loze (neutrofili, eozinofili, monociti, mastociti, dendritske ćelije), kao i u fibroblastima, endotelnim i epitelnim ćelijama. Galektin-3 može biti lociran intracelularno, u samoj citoplazmi, u nukleusu i ćelijskim membranama, a može se naći i ekstracelularno, nakon oslobađanja iz ćelija različitim stimulusima (interferon- γ), u fiziološkim i patofiziološkim uslovima [119]. Kao produkt makrofaga, galektin-3 predstavlja glavni faktor fibrogeneze, nakon oštećenja različitih organa u uslovima akutne ili hronične inflamacije. U akutnoj inflamaciji, kao odgovor na proinflamatorne citokine (IL-4), deo makrofaga će se diferencirati sa posebnim fenotipom (M2). Ovaj fenotip se karakteriše povećanjem broja receptora za manozu, koji je važan za proizvodnju i funkcionalnu sposobnost galektina-3. Nakon što je sintetisan, galektin-3 se uglavnom oslobađa tokom diferencijacije monocita i sazrevanja makrofaga i uključen je u značajne procese tokom akutnog inflamatornog odgovora (adhezija i hemotaksa neutrofila i monocita, opsonizacija apoptotskih neutrofila i aktivacija mastocita) [120]. Patofiziološki efekat galektina-3 podrazumeva transformaciju neaktivnih fibroblasta u aktivne miofibroblaste, koji sintetišu i sekretuju proteine ekstracelularnog matriksa: kolagen

(tip I i III), fibronektin i transformišući faktor rasta β (TGF- β), što finalno dovodi do razvoja fibroze [117].

U eksperimentalnim uslovima dokazano je da se ovakav proces odvija i na nivou kardiomiocita, u uslovima delovanja štetnih noksi (infarkt miokarda, virusi), što dovodi do fibrogeneze i posledičnog remodelovanja srca. U patofiziološkom smislu, odgovor na oštećenje miokarda podrazumeva regrutovanje imunskih ćelija unutar miokardnog tkiva i proizvodnju signalnih proteina iz lokalnih pericita, mastocita i makrofaga. Patogenetski, ovo dovodi do aktivacije rezidualnih fibroblasta i deponovanja prokolagena u ekstracelularni matriks [121]. Dokazano je da je na nivou miokarda aldosteron glavni induktor sekrecije galektina-3, usled aktivacije simpatičkog nervnog sistema i sistema renin-angiotenzin-aldosteron. Galektin-3, u takvim uslovima, deluje kao parakrini signal za fibroblaste i pomaže u prevođenju signala za TGF- β , koji, usled povećanja ciklina D1, dovodi do proliferacije i aktivacije miofibroblasta i taloženja kolagena. Ovim mehanizmom aldosteron posredno, preko galektina-3, ispoljava svoj proliferativni i profibrotski efekat, prikazano na slici 11 [117].



Slika 11. Interakcija delovanja aldosterona i galektina-3. Modifikovano od de Boer RA, et al. [118]

U prilog profibroznog delovanja galektina-3 govori i podatak da je na eksperimentalnom modelu redukovana stepen patološkog remodelovanja, fibroze i sistolne slabosti srca, nakon aplikacije oralnog galektin-3 inhibitora [122]. Takođe je dokazano da je kod eksperimentalnih pacova, nakon četvoronedeljne infuzije rastvora galektina-3 u

perikardnu kesu, došlo do značajnog remodelovanja srca, fibroze, a samim tim i do redukcije ejeckione frakcije do 22% i pojavom perikardnog izliva [123]. Ista studija dokazala je i da administracija farmakoloških sredstava sa antifibrozim i antiproliferativnim efektima, sličnim delovanju ACE inhibitora, dovodi do neutralizacije delovanja galektina-3, preko aktivacije TGF- β puta. Kod pacova sa hipertenzijom, blokadom ekspresije gena za galektin-3 ne dolazi do razvoja fibroze miokarda, bez obzira na postojeći stimulus, dok je kod kontrolne grupe, sa očuvanom produkcijom galektina-3, došlo do remodelovanja leve komore i razvoja hipertrofije [118].

Rezultati eksperimentalnih, ali i velikih kliničkih studija, potvrdili su da se koncentracija galektina-3 u plazmi može smatrati markerom fibroze, a da su njegove povišene vrednosti u pozitivnoj vezi sa opštim mortalitetom. Kod bolesnika sa hroničnom srčanom insuficijencijom povećanje koncentracije galektina-3 u plazmi predstavlja značajan prediktor lošeg ishoda bolesti. Dokazano je i da je galektin-3 prediktor opšteg mortaliteta kod pacijenata sa redukovanom ejeckionom frakcijom i NYHA klasom III i IV i da je u značajnoj nezavisnoj korelaciji sa ehokardiografskim parametrima remodelovanja leve komore [116, 117]. Takođe je dokumentovano da galektin-3 predstavlja prognostički marker kod pacijenata sa srčanom, ali i bubrežnom slabošću, kao i da može da ukaže na stepen razvoja srčane slabosti. Osim kod pacijenata sa redukovanom ejeckionom frakcijom, dokumentovano je da se galektin-3 može koristiti i kod onih sa očuvanom ejeckionom frakcijom, ali i kod asimptomatskih pacijenata koji su izloženi većem riziku za razvoj srčane slabosti, te na taj način blagovremeno identifikovani i podvrgnuti lečenju [124]. Pojedini autori daju prednost određivanju galektina-3 kod pacijenata sa očuvanom ejeckionom frakcijom u odnosu na one sa redukovanom, jer je dokazano da galektin-3 stoji u nezavisnoj vezi sa parametrima dijastolne disfunkcije. Limitiranost kliničke primene galektina-3 ogleda se u nedovoljnoj tkivnoj specifičnosti, jer osim u remodelovanju miokarda, učestvuje i u bubrežnoj, hepatičnoj, vaskularnoj i plućnoj fibrozi. Blokada sinteze galektina-3 ili primena lekova (antagonisti aldosteronskih receptora i ACE inhibitori) koji onemogućavaju njegovo delovanje, umanjuju formiranje fibroze u svim ovim organima u kojima je galektin-3 ekspimiran [125-128].

Galektin-3 je dokazani biomarker fibroze koji se može koristiti sa ciljem procene ishoda bolesti, ponavljanih hospitalizacija, opšteg i kardiovaskularnog mortaliteta, kao i u cilju procene efikasnosti lečenja. Nedavna istraživanja, sa druge strane, otvaraju nove mogućnosti u kojima bi specifično targetiranje ovog biomarkera bilo jedno od mogućih načina lečenja ili modifikacije srčane slabosti.

2.5.7. Biologija i struktura faktora rasta i diferencijacije 15

Faktor rasta i diferencijacije 15 (*growth differentiation factor 15*, GDF-15) pripada veoma divergentnoj grupi proteina, unutar superfamilije transformišućih faktora rasta β , (TGF- β). Prvi naziv GDF-15, neposredno nakon što je otkriven, glasio je MIC-1 (*macrophage inhibitory cytokine-1*), jer se tada smatralo da je njegova fiziološka uloga da na nivou stimuliranih makrofaga dovodi do inhibicije sekrecije TNF- α , što nije potvrđeno kasnijim studijama [129]. Ono što se danas sa sigurnošću zna jeste da se njegova ekspresija povećava sa starenjem, gde porast koncentracije GDF-15 pozitivno koreliše sa stepenom inflamacije, oksidativnog stresa, procesima glikacije proteina ili hormonskim promenama. Smatra se da upravo ovi patofiziološki procesi indukuju ekspresiju GDF-15, putem aktivacije p53 proteina ili ranog faktora rasta transkripcije proteina 1 (*early growth response protein 1*, EGRP-1). U fiziološkim uslovima distribuiran je u različitim tkivima u malim količinama, sa najvećom distribucijom u makrofagima i epitelnim ćelijama placente i prostate. U manjoj meri se može naći u tkivu pluća, jetre, pankreasu, bubrežima i debelom crevu. Postoje studije koje su dokazale da GDF-15 nije fiziološki eksprimiran u tkivu miokarda, ali je na eksperimentalnom modelu dokazano da dovodi do inhibicije apoptoze, hipertrofije i remodelovanja leve komore. Faktor rasta i diferencijacije 15 se sintetizuje kao prekursori protein u obliku propeptida od 40 kDa. N-terminalni kraj se odvaja i otpušta kao dimerni aktivni oblik proteina povezan sa disulfidom od ≈ 30 kDa, podleže disulfidnoj dimerizaciji i daljom proteolizom prevodi se u zreli peptid. Kao takav, oslobađa se iz makrofaga, iz vaskularnih glatkomišićnih ćelija, kardiomiocita, adipocita i endotelih ćelija kao odgovor na bilo kakvo stresogeno stanje. Dokazano je da mnoga tkiva i različiti tipovi ćelija pokazuju dramatično povećanje produkcije GDF-15 kao odgovor na patološke uslove ili stresne faktore okoline, uključujući povredu tkiva, hipoksiju i/ili anoksiju, malignitet ili stimulaciju citokinima [130].

Ukoliko se GDF-15 nađe u cirkulaciji, može dobiti karakteristike endokrinog faktora. Makrofazi u mirovanju eksprimiraju male količine GDF-15, ali u situacijama stimulacije proinflamatornim citokinima, interleukinom 1 (IL-1), TNF- α , TGF- β , angiotenzinom II i faktorom stimulacije kolonije makrofaga (M-CFS), značajno se indukuje njegova ekspresija i time ograničava dalja aktivacija makrofaga, a samim tim i inflamacija [129]. Dokazano je da se ekspresija GDF-15 povećava u hepatocitima nakon toksičnog

oštećenja jetre ili u kortikalnim neuronima posle traume [131]. Visoka koncentracija njegove mRNA postoji u ljudskoj placenti, u poređenju sa drugim tkivima, što sugeriše da ima ulogu u implantaciji embriona i funkciji placentе [132].

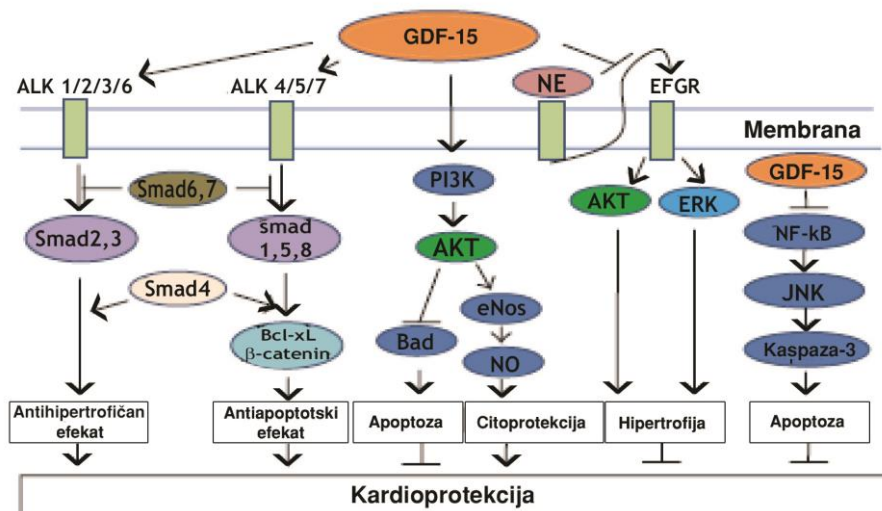
Faktor rasta i diferencijacije 15 je dokazano multifunkcijski, plejotropan molekul. Učestvuje u regulaciji ćelijskih procesa, uključujući ćelijski ciklus, diferencijaciju i apoptozu i poseduje značajna antiinflamatorna svojstva. Osim u stanjima praćenim inflamacijom i fibrozom, njegovo određivanje od značaja je i u onkologiji, jer GDF-15, indukovano pomoću p53 (proteina koji suprimira tumore), inhibiše rast tumorskih ćelija u karcinomu dojke [132, 133]. Ovaj poslednji efekat predstavlja rezultat indukcije ćelijske smrti i apoptoze u ćelijama karcinoma. Postoje autori koji smatraju da se GDF-15 u humanoј populaciji može koristiti kao prediktor opšeg mortaliteta.

2.5.8. Uloga i mesto faktora rasta i diferencijacije 15 u hroničnoj srčanoj insuficijenciji

U fiziološkim uslovima, GDF-15 ne može se detektovati u tkivu miokarda, ali nakon kardiovaskularne povrede, bilo koje etiologije, dolazi do naglog porasta njegove ekspresije. Najčešće kardiovaskularne lezije koje dovode do aktivacije GDF-15 su: opterećenje pritiskom, procesi ishemije i reperfuzije, ateroskleroza i razvoj srčane slabosti. Danas se zna da GDF-15 deluje protektivno u miokardnom i masnom tkivu i endotelnim ćelijama, inhibirajući i aktivirajući određene signalne puteve. Dokazano je da inhibitorno deluje na c-Jun N-terminalnu kinazu (JNK), Bcl2-vezani promotor smrti (BAD) i receptor za epidermalni faktor rasta (EGFR), a aktivirajući Smad 2/3, endotelnu azot monoksid sintazu (eNOS), PI 3-kinazu (PI3K) i protein kinazu B (AKT) 4,5,7 signalne puteve. Kardioprotektivni efekat GDF-15 ostvaruje se aktivacijom ALK receptora tipa 1 (ALK 1-7) i fosforilacijom Smad 2/3 i Smad 1/5/8 proteina. Nakon fosforilacije, proteini Smad superfamilije premeštaju se do jezgra u obliku heteromernog kompleksa sa Smadom 4, pri čemu se aktivira mehanizam protiv razvoja hipertrofije i fibroze. Naredni kardioprotektivni efekat ogleda se u aktivaciji PI3K/AKT 4,7,5/eNOS/NO puta i preko inhibicije receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR) i NF-κB/JNK/kaspazu-3, čime se postiže krajnji efekat smanjenja oštećenja kardiomiocita i inhibicija apoptoze ćelija miokarda. Glavni patofiziološki efekti GDF-15 prikazani su na slici 12 [130]. Neki autori smatraju da povećane

koncentracije GDF-15 deluju protektivno na endotel aktiviranjem PI3K/AKT/eNOS signalnog puta i inhibicijom NF-kB/JNK. Pretpostavlja se da se na ovaj način smanjuje stvaranje reaktivnih kiseoničnih vrsta, a samim tim i dalje oštećenje endotelnih ćelija i njihova apoptoza. Pored ovih bazičnih patofizioloških efekata, treba napomenuti da GDF-15 prolazno aktivira signalizaciju AKT i ERK 1/2, pri čemu AKT-aktivacija reguliše vitalnost kardiomiocita, dok signalizacija ERK 1/2 reguliše opstanak ćelija. Dokumentovano je i da GDF-15 inhibira noradrenalinom izazvanu hipertrofiju miokrada i to inhibicijom transkripcije EGFR i fosforilacijom AKT i ekstraćelijske signal-regulatorne kinaze (ERK) [130].

Danas se znaju referentne vrednosti koncentracija GDF-15 u plazmi i to u zdravoj populaciji, oko 760 ng/l, sa vrednostima do 1200 ng/l, kod osoba prosečne starosti 65 godina. Kod pacijentata sa hroničnom srčanom slabošću očekivane vrednosti GDF-15 su značajno više, sa medijanom od oko 2700 ng/l [134]. Druga grupa autora predložila je nešto više srednje vrednosti i to: za zdravu populaciju <1200 pg/ml, umereno povišene, 1200-1800 pg/ml i veoma visoke vrednosti >1800 pg/ml .



Slika 12. Kardioprotektivni efekti GDF-15. Modifikovano od Ramu Adela R, et al. [130]

Prema podacima objavljenim 2002. godine [135] GDF-15 je po prvi put dobio karakteristike nezavisnog faktora rizika za neželjene kardiovaskularne događaje, uključujući akutni infarkt miokarda (AIM) i cerebrovaskularni inzult (CVD), iako su mehanizmi njegovog delovanja bili još uvek nedovoljno definisani. Nakon toga, GDF-15 je identifikovan kao protektivni faktor protiv ishemijsko/reperfuzionog oštećenja, hipertrofije i srčane insuficijencije, u *in vitro* i *in vivo* uslovima, pri čemu je potvrđeno da se inhibicija apoptoze,

fibroze i hipertrofije miokarda odvija preko aktivacije Smad proteina [136]. Na modelu transgenih miševa, sa prekomernom miokardnom ekspresijom GDF-15, koji su bili delimično rezistentni na hipertrofiju izazvanu opterećenjem pritiskom (aortnom konstrikcijom), dokazano je da aktivacija Smad 2/3 ublažava kardiomiocitnu hipertrofiju, dok prekomerna ekspresija inhibitornih Smad proteina (6/7), poništava antihipertrofične efekte GDF-15. Sa druge strane, miševi sa uklonjenim genom za GDF-15, imali su izraženiju hipertrofiju miokarda posle 2 nedelje od sužavanja aorte u poređenju sa kontrolnom grupom. Kod miševa bez GDF-15 gena došlo je do bržeg (unutar 2 nedelje), razvoja srčane slabosti sa pogoršanjem i sistolne i dijastolne funkcije u odnosu na kontrolu. Navedeni podaci sugerišu da GDF-15 može imati značajnu ulogu u patogenezi srčane slabosti. Osim toga, administracija “fizioloških” doza rekombinantnog GDF-15 tokom 14 dana eksperimenta smanjivalo je stepen srčane slabosti [137]. Koncentracija GDF-15 u plazmi kod pacijenata sa arterijskom hipertenzijom značajno su više u poređenju sa kontrolnim ispitanicima i u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom noradrenalina u plazmi i ehokardiografskim parametrima [136]. Istovremeno je utvrđeno da se plazmatske vrednosti GDF-15 mogu koristiti kao marker diferencijacije između hipertrofične kardiomiopatije i hipertenzivne hipertrofije leve komore [130].

Faktor rasta i diferencijacije-15 za sada je nedovoljno ispitivan kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom. Kada je u pitanju hronična srčana slabost, veliki broj autora smatra da se GDF-15 predominantno može koristiti kao biomarker u praćenju pacijenata sa srčanom slabošću sa očuvanom ejakcionom frakcijom (HFpEF). Osim toga, dokazano je i da sa progresijom srčane slabosti rastu i nivoi GDF-15, što se može objasniti daljom aktivacijom kompenzatornih mehanizama, uključujući neurohumoralnu aktivaciju, napredovanje inflamacije, apoptozu kardiomiocita i bubrežnu disfunkciju. Viša koncentracija GDF-15 u plazmi direktno je povezana sa lošom prognozom, nezavisno od postojećih kliničkih i biohemijskih faktora rizika, a još više vrednosti GDF-15 nađene su kod pacijenata sa komorbiditetima, poput šećerne bolesti, bubrežne disfunkcije, kaheksije, anemije i slično [130].

Sve kardiovaskularne lezije koje podrazumevaju ishemiju kardiomiocita dovode do porasta koncentracije GDF-15, da bi se na taj način obezbedila endogena zaštita protiv apoptoze, uzrokovana ishemijsko-reperfuzionim oštećenjem. Ovaj mehanizam se najverovatnije odigrava aktivacijom PI3K-Akt zavisnih signalnih puteva. Eksperimentalne životinje koje nisu imale gen za GDF-15, posledično su razvile veću zonu infarkta, sa većim stepenom apoptoze u graničnoj zoni infarkta [132].

Rezultati brojnih multicentričnih i prospektivnih studija ukazali su na to da GDF-15 može biti dijagnostički i prognostički marker u velikom spektru kardiovaskularnih bolesti: akutnom infarktu miokarda (IM), srčanoj insuficijenciji i hipertrofiji miokarda. Takođe bi mogao da se koristi kao prediktivni faktor za neželjene kardiovaskularne događaje i kao prediktor opšteg i kardiovaskularnog mortaliteta, pojedinačno ili u multimarkerskom pristupu, zajedno sa ostalim markerima inflamacije ili miokardnog remodelovanja. Ono što se navodi kao mana, kada je u pitanju hronična srčana slabost, jeste da za sada nije dokazana superiornost GDF-15 u odnosu na natriuretske peptide ili visokosenzitivnog troponina [133].

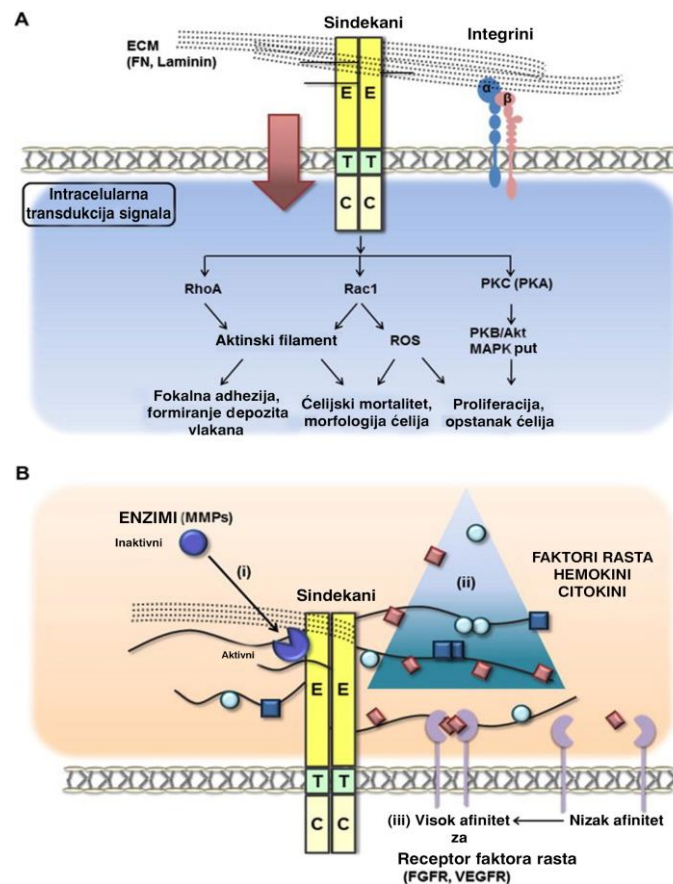
2.5.9. Biologija i struktura sindekana-1

Sindekan-1 je proteoglikan eksprimiran na površini ćelija, koji fiziološki interferira sa ekstracelularnim matriksom i faktorima rasta u cilju očuvanja integriteta epitelnih ćelija i regulacije i kontrole njihovog rasta. Strukturno je transmembranski proteoglikan tip I i sadrži tri ekstracelularna mesta za vezivanje heparan sulfata i dva za vezivanje hondroitin sulfata. Porodicu sindekana čini grupa transmembranskih proteina koji funkcionišu kao koreceptori, predominantno za receptore sa G-proteinom. Do sada su opisana četiri člana porodice sindekana, podeljenih u dve podgrupe: sindekani 1 i 3 i sindekani 2 i 4. Većina humanih ćelija, sa izuzetkom eritrocita, vrši sintezu i sekreciju bar jednog sindekana, pri čemu su opisane i ćelije koje proizvode sva četiri tipa. Time se objašnjava njihova ekspresija na različitim adhezivnim i neadhezivnim ćelijama i tkivima. Sindekan-1 značajno eksprimiraju epitelne ćelije i fibroblasti (posebno je izražen u keratinocitima), a nađen je u minimalnim količinama u endotelnim i nervnim ćelijama. Sindekan-2 se nalazi u ćelijama mezenhimnog porekla (endotelne i nervne), sindekan-3 se primarno eksprimira u nervnim ćelijama i ne može se naći u epitelnim, a značajna ekspresija sindekana-4 potvrđena je u epitelnim ćelijama i fibroblastima, u jetri i plućima, dok je niska ekspresija zabeležena u nervnim i endotelnim ćelijama [138, 139].

Pretpostavljeno je da sindekani imaju važnu ulogu tokom razvoja, epitelizacije rana, inflamacije i tokom rasta i razvoja tumora, jer učestvuju u kontroli ćelijske proliferacije, invazivnosti, diferencijacije, adhezije i migracije [139]. Zahvaljujući svojoj polisaharidnoj strukturi, formiraju matriks, u koji su uronjeni fibrilarni proteini, što omogućava otpornost tkiva na pritisak, uz potpuno očuvane fiziološke procese.

Sindekan-1 je transmembranski proteoglikan od 20-40 kDa, u čijoj osnovi se nalaze glikozaminoglikanski lanci. Strukturno, ovi lanci su dugi karboksilni polimeri, koji se sastoje od niza ponavljajućih disaharida, pri čemu svaki od lanaca može da sadrži 50 do 150 disaharida. Sadrži pet aksona, a od ostalih sindekana se razlikuje po dužini trećeg aksona, koji je determinisan brojem aminokiselina (sindekan-1 poseduje 310 aminokiselina). U osnovi građe sindekana-1 nalaze se tri domena: ekstracelularni deo molekula (ektodomen, N-terminalni signalni peptid), hidrofobni transmembranski domen i intracelularni deo molekula (C-terminalni signalni peptid) [139, 140].

Ekstracelularni domen se sastoji iz dela od aminokiselina i glikozoaminoglikanskih lanaca i omogućava interakciju sindekana sa komponentama iz ekstracelularnog matriksa i solubilnim faktorima rasta kao što su: faktor rasta za fibroblaste (FGF), vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF), transformišući faktor rasta β (TGF- β), fibronektin i antitrombin-1, ostvarujući ulogu koreceptora. Intracelularni domen sastavljen je od dve konstantne regije (C1 i C2) i jedne varijabilne (V) regije, koja je jedinstvena za svaki sindekan [141].



Slika 13. Patofiziologija sindekana. Modifikovano od Kwon JM, et al. [142]

Cepanjem lanaca sačinjenih od heparin sulfata, postiže se njihova aktivnost i omogućava ćelijska signalizacija podstaknuta interakcijom sa različitim ekstracelularnim ligandima, prikazano na slici 13. Prvi način predstavlja aktivacija receptora faktora rasta u funkciji koreceptora, kao što su FGF, HGF, EGF i VEGF. Sindekani, zatim omogućavaju adheziju ekstracelularnog matriksa i ćelija, na primer sa kolagenom tipa I, III, V, fibronektinom, trombospondinom i tenascinom. Njihova verovatno najznačajnija uloga jeste omogućavanje ćelijsko-ćelijske adhezije i poslednja, najintrigantnija jeste tumorska supresija [141].

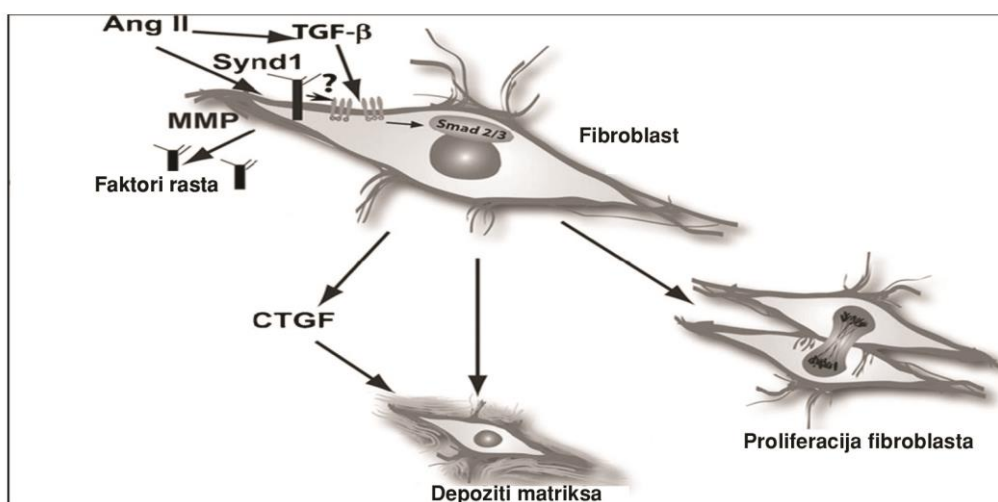
2.5.10. Uloga i mesto sindekana-1 u hroničnoj srčanoj insuficijenci

Srčana slabost se razvija kao rezultat delovanja različitih štetnih noksi, a kompenzatorni mehanizmi, fibroza i remodelovanje dodatno dovode do smanjenja srčane funkcije i imaju značajnog udela u progresiji bolesti. Novija istraživanja su pokazala da sindekan-1, kao osnovna komponenta glikokaliksa, ima važnu ulogu u patogenezi fibroze i miokardnog remodelovanja. Hipoteza da su kod pacijenata sa srčanom slabošću narušene osnovne uloga glikokaliksa (antiadhezivna i antikoagulantna uloga, održavanje integriteta endotela i vaskularne barijere, uloga u proizvodnji i deponovanju azot-monoksida i enzima, npr. superoksid dismutaze ili inhibitora koagulacije, proteina C ili antitrombina), dovela je do toga da se ovim pacijentima meri i ispituje koncentracija sindekana-1 u plazmi. Glikokaliks prekriva luminalnu stranu endotelnih ćelija, tako da u slučaju njihovog oštećenja dolazi do oslobađanja velikih količina sindekana-1, koji se potom može detektovati u plazmi [143]. Sa praktičnog aspekta, ovo bi značilo da plazmatska koncentracija sindekana-1 može biti marker degradacije glikokaliksa i marker različitog stepena endotelne disfunkcije. Neposredno nakon povrede miokarda dolazi do njegove aktivacije i učešća u patogenezi inflamacije, a nakon toga i u procesu fibroze miokarda, pošto je dokazano da se vezuje za razne faktore rasta, pre svega za TFG- β [144]. Smatra se da se ova profibrozna signalizacija ostvaruje putem kratkog citoplazmatskog repa sindekana-1, dok njegov ekstracelularni deo vezuje širok spektar molekula ekstracelularnog matriksa, koji su uključeni u fibrozu, što dovodi do njegove povećane ekspresije. Pretpostavljeno je da inicijalna aktivacija sindekana-1 dovodi do povećane ekspresije kolagena (tip I i III), faktora diferencijacije miofibroblasta, enzima ekstracelularnog matriksa, faktora rasta i adhezivnih molekula. Proliferacijom svih ovih

struktura, povećava se rigiditet miokarda i sprečava njegova ruptura. Sindekan-1, se iz navedenih razloga, može smatrati i prediktorom morbiditeta i mortaliteta kod ovih pacijenata [143].

Smatra se da je povećana ekspresija sindekana-1 indukovana enzimima, primarno matriks metaloproteinazama (1 i 9) i miokardnom akumulacijom različitih inflamatornih ćelija, sa pikom u prvoj i drugoj nedelji nakon povrede. Krajnji ishod predstavlja formiranje ožiljnog tkiva u regijama u kojima je detektovan gubitak kardiomiocita. U patogenezi formiranja ožiljka značajnu ulogu imaju diferentovani fibroblasti (miofibroblasti) lokalizovani u miokardu, koji sintetišu kolagena vlakna [145], gde su kao glavni signali za proces diferencijacije opisani mehanički stres i TGF- β . Dokazano je da je jedan od najznačajnijih inicijatora fibroze angiotenzin II, odnosno aktivacija sistema RAA, a naknadno je dokumentovano da je sindekan-1 važan posrednik u fibrozi miokarda izazvanoj angiotenzinom II [146]. Šematski prikaz ove interakcije predstavljen je na slici 14 [147].

Ova interakcija dokazana je *in vivo*, kada je eksperimentalnim životinjama, nakon aplikacije angiotenzina II, izmerena povišena koncentracija sindekana-1. Nasuprot tome, kod miševa kod kojih je blokirana sinteza sindekana-1, nakon izazivanja hipertenzije ubrizgavanjem angiotenzina II, verifikovana je fibroza manjeg stepena. Pomenuti dokazi potkrepljuju hipotezu da je sindekan-1 značajan medijator u RAAS-TGF β -CTGF (*connective tissue growth factor*) osovini, što utiče na količinu i kvalitet kolagenskih vlakana u



Slika 14. Interakcija sindekana-1 i sistema renin angiotenzin aldosteron u patogenezi miokardne fibroze. Modifikovano od Lunde I, et al. [147]

ekstracelularnom matriksu [144]. Takođe je, *in vivo*, dokazano da adenoviralna aplikacija sindekana-1 poboljšava kvalitet ekstracelularnog matriksa i time sprečava rupturu oštećenog miokarda, dilataciju i razvoj srčane insuficijencije. Osim u traumatizovanom tkivu, patohistološki je potvrđena povećana ekspresija sindekana-1 i u oblastima hipertrofije miokarda i nakon opterećenja miokarda pritiskom, podvezivanjem aorte (24h od traume). Ekspresija sindekana-1 u tkivu bila je direktno proporcionalna njegovim koncentracijama u cirkulaciji [148]. Ovakvi rezultati uputili su na značaj određivanja koncentracije sindekana-1 u plazmi pacijenata sa srčanom slabošću, kada je dokazano da se nalaze u značajnoj korelaciji sa stepenom EF, krvnim pritiskom i češćim rehospitalizacijama usled srčane dekompenzacije [149].

Navedeni podaci upućuju da bi sindekan-1 mogao biti značajan biomarker u praćenju progresije bolesti i efekta propisane terapije kod pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću. Očekuje se da će velike, prospektivne, multicentrične studije dati odgovor na pitanje da li bi sindekan-1 mogao da se koristi kao prediktor morbiditeta i mortaliteta kod pacijenata sa srčanom slabošću, kao i kakav je njegov potencijal u poređenju sa ostalim biomarkerima iz grupe miokardnog remodelovanja.

3.0. Ciljevi istraživanja

3.1. Ciljevi istraživanja

- Odrediti plazmatske koncentracije biomarkera miokardnog remodelovanja (sST2, galektina-3, GDF-15 i sindekana-1) i BNP u grupi pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću i uporediti ih sa koncentracijama kod zdravih pojedinaca.
- Ustanoviti da li postoje statistički značajne razlike u koncentracijama ispitivanih biomarkera u odnosu na: tip (HFpEF, HFmrEF i HFrEF) i etiologiju srčane slabosti, pol i komorbiditete (prisustvo šećerne bolesti i/ili arterijske hipertenzije) i postojanje štetnih navika (pušenje) i ustanoviti njihov značaj u potencijalnoj diferencijalnoj dijagnozi.
- Metodom logističke regresije ustanoviti koji se od ispitivanih biomarkera izdvajaju kao nezavisni faktori rizika za promenu ispitivanih ehokardiografskih parametara (IMLK, EF, E/A, ESD, EDD, IVS, DZZ, LPK) u grupi ispitanika sa srčanom slabošću.
- Metodom multivarijantne logističke regresije (nakon prilagođavanja za godine, pol, gojaznost, komorbiditete i pušenje) utvrditi koji markeri predstavljaju potencijalne faktore rizika za promenu istih ehokardiografskih parametara (IMLK, EF, E/A, ESD, EDD, IVS, DZZ, LPK).
- Korelirati koncentracije ispitivanih biomarkera sa vrednostima dobijenim nakon 24-EKG monitoringa (učestalost i trajanje pretkomorskih i komorskih aritmija, epizode neme ishemijske, poremećaji sprovođenja i varijabilnost srčane frekvencije).
- Ustanoviti univarijantnom logističkom regresijom koji se od ispitivanih biomarkera izdvajaju kao nezavisni faktori rizika za javljanje ili promenu pretkomorskih i komorskih aritmija, epizoda miokardne ishemijske, poremećaja sprovođenja i varijabilnost srčane frekvence.
- Multivarijantnom logističkom regresijom, nakon prilagođavanja za identične faktore kao u prethodnim modelima, utvrditi koji biomarkeri predstavljaju faktore rizika za promenu istih ispitivanih parametara.

- Izvršiti korelaciju dobijenih vrednosti sa podacima dobijenim tokom testa fizičkim opterećenjem: tolerancija napora i funkcionalna rezerva za fizičko opterećenje, dužina trajanja testa i nivo postignutog opterećenja (dostignuti METS), vrednost srčane frekvencije, vrednosti krvnog pritiska i pojava miokardne ishemije.
- U multivarijantnom logističkom modelu utvrditi faktore rizika za promenu istih ispitivanih parametara.
- Uraditi korelacionu analizu ispitivanih markera sa globalnom bubrežnom funkcijom (koncentracije ureje i kreatinina) i sa funkcionalnom glomerulskom rezervom. U univarijantnom i multivarijantnom modelu ustanoviti koji su biomarkeri potencijalni faktori rizika za smanjenje jačine procenjene glomerulske filtracije.
- Metodom univarijantne linearne regresije utvrditi koji se od ispitivanih biomarkera, kliničkih i laboratorijskih parametara izdvajaju kao faktori rizika za promenu različitih ehokardiografskih (IMLK, EF, E/A, ESD, EDD, IVS, DZZ, LPK) i elektrokardiogramskih varijabli (učestalost i trajanje pretkomorskih i komorskih aritmija, epizode neme ishemije, poremećaji sprovođenja i varijabilnost srčane frekvence), za svaki tip srčane slabosti, stratifikovan prema kategoriji ejectione frakcije. Istu analizu uraditi i u multivarijantnom modelu.
- Uporediti međusobno sve dobijene vrednosti OD (odds ratio) sa intervalom poverenja od 95% (CI 95%) i utvrditi koji biomerker se izdvaja kao najznačajniji faktor rizika za promenu kliničko-funkcionalnih parametara.
- Metodom aglomerativne hijerarhijske klaster analize ustanoviti da li je na osnovu koncentracija biomarkera miokardnog remodelovanja i BNP moguća fenotipizacija pacijenata unutar podgrupe sa očuvanom ejectionom frakcijom. Definisati kliničke, laboratorijske i funkcionalne razlike između dobijenih fenotipova.

3.2. Hipoteze istraživanja

Osnovna hipoteza istraživanja polazi od pretpostavke da se u plazmi pacijenata sa srčanom slabošću mogu meriti određeni proteini, koji ukazuju na postojanje miokardnog remodelovanja i da te koncentracije zavise od tipa srčane slabosti prema kategoriji ejectione frakcije, kao i da se na osnovu njihovih plazmatskih vrednosti mogu predvideti različiti klinički parametri.

4.0. Ispitanici i metode istraživanja

4.1. Karakteristike ispitanika i dizajn studije

Studija je sprovedena na Klinici za kardiologiju Instituta za lečenje i rehabilitaciju „Niška Banja“, u Niškoj Banji, u periodu od maja do oktobra 2018. godine i dizajnirana je kao studija preseka. Ispitivanjem je bilo obuhvaćeno 112 ispitanika, starijih od 18 godina, koji su inicijalno bili podeljeni u dve grupe. Kliničku grupu činili su pacijenti sa dijagnozom srčane insuficijencije, a kontrolnu grupu zdravi pojedinci, koji su bili sličnih polnih i starosnih karakteristika kao i ispitanici kliničke grupe, a selektovani su među radnicima Instituta za lečenje i rehabilitaciju „Niška Banja“. Na osnovu raspoloživih anamnestičkih, kliničkih, laboratorijskih i funkcijskih parametara isključeno je postojanje kardiovaskularne bolesti ili neke druge patologije.

Svi učesnici studije, pre uključivanja u istraživanje, bili su detaljno upućeni u svrhu ispitivanja i pre izvođenja bilo koje od metoda funkcijske dijagnostike, potpisali su informisani pristanak. Studija je odobrena od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Nišu, Univerziteta u Nišu (broj 12-10580-2/3) i od strane Etičkog odbora Instituta za lečenje i rehabilitaciju Niška Banja (broj 03-4185/1). Istraživanje je sprovedeno u skladu sa Helsinškom deklaracijom (Revidirana verzija, 1983. godina), poštujući sva pravila dobre kliničke prakse.

Svi ispitanici sa postavljenom dijagnozom srčane insuficijencije, nezavisno od etioloških faktora koji su doveli do nastanka bolesti, bili su uzorkovani u stanju kompenzovane srčane insuficijencije i primali su farmakološku terapiju preporučenu od strane aktuelnih smernica [1]. Pacijenti su bili farmakološki tretirani sledećom terapijom: diureticima, inhibitorima angiotenzin konvertujućeg enzima (ACEI), blokatorima AT1 receptora (ARB), antagonistima aldosteronskih receptora (spironolakton), β -blokatorima, statinima i prema indikacijama, acetilsalicilnom kiselinom, antitrombocitnom i antiishemijskom terapijom, odnosno ukoliko je za to bilo potrebe u smislu postojanja koronarne bolesti.

Svi ispitanici koji su imali akutne ili hronične inflamatorne bolesti drugih organskih sistema, malignitete bilo koje lokalizacije, psihijatrijska stanja ili su odbili da potpišu informisani preistanak bili su isključeni iz studije.

Svi anamnestički podaci, potpisivanje pristanka, klinički pregled ispitanika, uzorkovanje krvi, ehokardiografski pregled, test fizičkim opterećenjem, ehokardiografski test i 24h-elektrokardiografija (24h EKG holter monitoring) urađeni su unutar 24 sata od prijema pacijenata.

4.2. Dijagnoza srčane insuficijencije

Svim učesnicima ispitivanja pre uključivanja u studiju postavljena je dijagnoza hronične srčane insuficijencije prema važećim smernicama (ESC, ACC/AHA) [1, 2] i to na osnovu: 1) kliničke slike, odnosno prisustva znakova (nabrekle jugularne vene, plućne krepitacije, bilateralni periferni otoci, zastojna jetra, slezina ili postojanje ascitesa) i simptoma srčane insuficijencije (dispneja, ortopneja, paroksizmalna noćna dispnoja i zamor); 2) koncentracija natriuretskog peptida (BNP) u plazmi >35 pg/ml i 3) ehokardiografskog nalaza sa najmanje jednim dodatnim kriterijumom; postojanje relevantne strukturne srčane bolesti (hipertrofija leve komore i/ili uvećanje leve pretkomore) i/ili verifikovana dijastolna disfunkcija. Za ključne strukturne promene smatrani su: indeks zapremine leve pretkomore > 34 ml/m² ili indeks mase leve komore (IMLK) ≥ 115 g/m² za muškarce i ≥ 95 g/m² za žene, dok je dijastolna disfunkcija definisana kao E/A $<0,75$ ili $\geq 1,5$ ili vremenom usporavanja E-talasa <140 ms.

Na osnovu dobijenih ehokardiografskih parametara, a prema aktuelnom Evropskom vodiču za tretman i lečenje srčane slabosti iz 2016. godine [1], ispitanici kliničke grupe grupisani su u tri kategorije (podgrupe) srčane insuficijencije. Prvu podgrupu činili su pacijenti sa očuvanom ejectionom frakcijom (EF), EF $\geq 50\%$, koja je bila označena kao *heart failure with preserved ejection fraction*, HFpEF. Ovu podgrupu činili su pacijenti koji su bili sa simptomima i/ili znacima srčane insuficijencije i barem jednim od sledećih kriterijuma: dijastolna disfunkcija i/ili relevantno oštećenje srca (uvećanje leve pretkomore i/ili postojanje hipertrofije miokarda leve komore). Drugu podgrupu ispitanika činili su pacijenti sa graničnom ejectionom frakcijom (EF), odnosno EF=40-49%, koji su bili označeni kao *heart failure with mid-range ejection fraction*, HFmrEF. Ova grupa ispitanika bila je sa

simptomima i/ili znacima srčane insuficijencije i barem jednim od sledećih kriterijuma: dijastolna disfunkcija i/ili relevantno oštećenje srca (uvećanje leve pretkomore i/ili verifikovana hipertrofija miokarda leve komore). Treću pogrupu ispitanika u okviru kliničke grupe činili su pacijenti sa redukovanom ejakcionom frakcijom (EF), odnosno svi oni kod kojih je $EF < 40\%$ i sa ili bez simptoma i/ili znakova srčane insuficijencije. Za ovu podgrupu ispitanika važno je da ukoliko se nalaze u ranom stadijumu srčane insuficijencije ili su na terapiji diureticima ne moraju imati simptome ili znake. Ova kategorija pacijenata označena je kao *heart failure with reduced ejection fraction*, HFrEF.

Pacijenti kliničke grupe dodatno su bili podeljeni na tri podgrupe prema klasifikaciji Njujorškog kardiološkog društva, „New York Heart Association“, (NYHA klasifikacija), na osnovu funkcionalnih karakteristika pacijenata sa srčanom insuficijencijom. Ova klasifikacija zasniva se na subjektivnim manifestacijama bolesnika i njihovoj funkcionalnosti. Prvu podgrupu činili su pacijenti klasifikovani kao NYHA I i II. Njihove funkcijske karakteristike bile su označene kao: a) bez ograničenja fizičke aktivnosti (običan rad ne izaziva simptome) i lako ograničenje fizičke aktivnosti, odnosno u mirovanju bez tegoba, dok obična fizička aktivnost izaziva simptome. Drugu podgrupu činili su pacijenti sa verifikovanim NYHA klasom III, odnosno sa umerenim ograničenjem fizičke aktivnosti, u mirovanju bez tegoba, a mali fizički napor izaziva simptome. Treću podgrupu ispitanika činili su pacijenti sa verifikovanim NYHA IV klasom, koji su se izjasnili da su nesposobni za fizički rad i kod kojih simptomi postoje i u mirovanju, a svaka čak i minimalna aktivnost pogoršava tegobe [1, 2].

4.2. Metode ispitivanja

Svim učesnicima ispitivanja određivani su osnovni klinički, biohemijski, hematološki i funkcionalni parametri.

4.2.1. Merenje krvnog pritiska

Svakom ispitaniku je nakon prijema i potpisanog informisanog pristanka izmeren krvni pritisak, prema važećim smernicama Radne grupe za lečenje arterijske hipertenzije Evropskog udruženja kardiologa (ESC) i Evropskog udruženja za hipertenziju (ESH) iz 2018. godine [150]. Merenje krvnog pritiska obavljeno je ručnom auskultatornom metodom, aneroidnim manometrom, marke PIC Solution, proizvođača Medizin sa odgovarajućom veličinom manžetne aparata. Korišćene su standardne manžetne (širine 12-13 cm i dužine 35 cm) za većinu pacijenata. Kod pacijenata sa obimom nadlaktice >32 cm ili užim obimom ruke korišćene su manžetne po potrebi. Pre započinjanja merenja krvnog pritiska svi ispitanici odmarali su se u ordinaciji u trajanju od 5 minuta. Ispitanicima su odrađena po tri merenja na obe ruke, sa pauzama od 1-2 minuta, a dodatno merenje preduzimalo se samo ukoliko su se prva dva očitavanja razlikovala za >10 mm/Hg. Na osnovu dobijenih vrednosti za sistolni pritisak (SP) i dijastolni krvni pritisak (DP) računata je srednja vrednost i izražena u milimetrima živinog stuba (mm/Hg). Računskim putem dobijene su vrednosti srednjeg arterijskog pritiska (SAP) i pulsog pritiska (PP).

$$SAP = (2 \times DP + SP) / 3$$

$$PP = SP - DP$$

4.2.2. Ehokardiografski pregled

Ehokardiografsko ispitivanje obavljeno je u Kabinetu za ehokardiografiju Instituta za lečenje i rehabilitaciju „Niška Banja“. Svi učesnici podvrgnuti su dvodimenzionalnoj transtorakalnoj ehokardiografiji, unutar 24 sata od prijema, koristeći komercijalnu standardnu opremu, ACUSON–SEQOIA 256, New York, sa sondom 2,5 MHz. Dobijeni rezultati analizirani su i tumačeni u skladu sa aktuelnim smernicama Američkog udruženja za ehokardiografiju [151, 152].

Ehokardiografskim pregledom dobijeni su i analizirani sledeći parametri: procena sistolne funkcije leve komore označena kao end-sistolni dijametar leve komore, ESD, izražena u milimetrima (mm), procena dijastolne funkcije leve komore označena kao end-

dijastolni dijametar leve komore, EDD, izražena u milimetrima (mm), E/A, jačina ejeckione frakcije (EF) leve komore, kao i neki strukturni i funkcionalni parametri leve komore: masa leve komore (MLK), indeks mase leve komore (IMLK), debljina interventrikularnog septuma (IVS), debljina zadnjeg zida LK (DZZ) i dimenzije leve pretkomore. Ejeckiona frakcija leve komore, izražena u procentima, (EFLK%) procenjena je pomoću Teicholz formule u M modu ili primenom Simpsonovog pravila u volumetrijskom izračunavanju. Na osnovu Devereux formule [153] i navedenih parametara računata je masa leve komore (MLK) izražena u gramima.

$$\text{MLK (gram)} = 0,8 \times 1,04 \times (\text{EDD} + \text{DZZ} + \text{IVS}) + 0,6$$

Indeks mase leve komore (IMLK) dobijen je kao odnos između mase leve komore i površine tela (m^2). Hipertrofija leve komore verifikovana je u slučajevima kada je $\text{ILVM} \geq 115 \text{ g/m}^2$ za muškarce i $\geq 95 \text{ g/m}^2$ za žene.

$$\text{IMLK} = \text{LVM} / \text{površina tela (m}^2\text{)}$$

Debljina zida leve komore (DZLK) dobijena je kao odnos proizvoda dvostruke debljine zadnjeg zida u dijastoli i vrednosti end-dijastolnog dijametra leve komore na osnovu formule:

$$\text{DZLK} = 2\text{DZZ} / \text{EDD}$$

Mere leve komore i leve pretkomore obezbeđene su pomoću „M načina“ snimanja (*M mode*) [151, 152]. Prema preporukama za evaluaciju dijastolne funkcije, dijastolna funkcija leve komore određivana je na osnovu odnosa brzina ranog i kasnog mitralnog utoka (E i A talasa), merenih pulsni doplerom iz protoka kroz mitralnu valvulu (E/A). Sve vrednosti manje od 1 smatrane su za narušenu dijastolnu funkciju leve komore [154].

Struktura i funkcija desnog srca procenjeni su sledećim parametrima: dimenzijama desne komore (DK) i desne pretkomore (DPK), sistolnim pritiskom u desnoj komori (SPDK), sistolnom ekscurzijom trikuspidne prstenaste ravni (*tricuspid annular plane systolic excursion*, TAPSE) u apikalnom četvorokomorskom prikazu. Maksimalna sistolna ekscurzija bočnog trikuspidnog anulusa merena je „M modom“, pri čemu su sve vrednosti $\text{TAPSE} < 17 \text{ mm}$ značile disfunkciju desne komore i predstavljale su odraz sistolne funkcije desne komore [155].

4.2.3. Test fizičkim opterećenjem

Svim ispitanicima unutar 24 sata od prijema urađen je test fizičkim opterećenjem (TFO) po standardnom „Bruce“ [156] protokolu na pokretnoj traci, Treadmill TM 2000 Megatronic. Test je izveden tako što je tokom hodanja po pokretnoj traci (stazi) rad srca kontinuirano praćen elektrokardiogramom sa 12 elektroda, prikačenih na telo ispitanika. Opterećenje je postepeno povećavano povećanjem brzine trake i nagiba na tri minuta, što je prikazano u tabeli 1, uz beleženje vrednosti srčane frekvencije i krvnog pritiska na početku i kraju testa i tokom odmora, u trajanju od tri minuta. Testom je procenjena tolerancija napora i funkcijska rezerva za fizičko opterećenje. Evaluirani su sledeći parametri: dužina trajanja testa i nivo postignutog opterećenja izražen u METs-ima (prikazano u tabeli 2), vrednost srčane frekvencije i vrednosti krvnog pritiska na početku, na kraju testa i tokom odmora, kao i pojava miokardne ishemije i kompleksnih poremećaja srčanog ritma (PSR).

Tabela 2. Povećanje opterećenja u METs-ima sa povećanjem brzine trake u km/h i nagiba (MPH)

Stepen	Vreme (min)	% grade	MPH	Brzina (km/h)	METS
1	3	10	1,7	2,7	3
2	3	12	2,5	4,0	4-5
3	3	14	3,4	5,5	7
4	3	16	4,2	6,8	10
5	3	18	5,0	8,0	14
6	3	20	5,5	8,9	17
7	3	22	6,0	9,7	21

Kod najvećeg broja ispitanika test fizičkim opterećenjem rađen je do submaksimalne srčane frekvencije. Indikacije za prekidanje testa bile su: ishemijske promene, odnosno pojava nishodne ili horizontalne depresije ST segmenta od 0,08 mm u dva ili više uzastupna odvoda, pojava kompleksnih poremećaja srčanog ritma, učestale multiformne ventrikularne ekstrasistole (VES) ili učestali parovi VES-a, ventrikularna tahikardija (VT) ili ventrikularna fibrilacija (VF), pojava zamora, bola u grudima, omaglice ili porast krvnog pritiska iznad 240/110 mm/Hg [156].

Kod pacijenata sa registrovanim blokom leve grane na elektrokardiogramu i povećanim kardiovaskularnim rizikom, rađen je stresokardiografski test opterećenja na standardnoj opremi Simens SC 2000, na ležećem ergobiciklu marke Schiler, povećanjem

opterećenja za 25W na tri minuta. Tokom trajanja stresehokardiografskog testa praćeni su svi navedeni ehokardiografski parametri, kao i poremećaji segmentne kinetike zidova leve komore (hipo do akinezije). Istovremenim, kontinuiranim monitoringom elektrokardiograma (EKG) radenog na 12-kanalnom programu za PC, marke Schiler AT 10 plus, praćene su promene ST segmenta i T talasa (u smislu postojanja miokardne ishemije), kao i prisustvo poremećaja srčanog ritma [157]. Indikacije za prekid stresehokardiografskog testa bile su identične indikacijama kao i za test fizičkim opterećenjem.

4.2.4. 24h-elektrokardiogramski monitoring

Metoda 24-časovnog EKG-monitoringa urađena je korišćenjem standardne opreme DEL MAR, (Tenesi, SAD). Elektrode su postavljene pacijentima nakon potpisivanja informisanog pristaka i nakon 24 sata verifikovani su sledeći parametri: postojanje sinusnog ritma ili aatrijalne fibrilacije, srednja vrednost srčane frekvencije, maksimalna i minimalna srčana frekvencija, postojanje bradikardije i pauza u srčanom radu, atrioventrikularni i sinoatrijalni blokovi (II i III stepena), supraventrikularna i ventrikularna aritmija, „nema“ ST-depresija i varijabilnost srčane frekvencije, *heart rate variability* (HRV) [158].

Normalni sinusni ritam definisan je kao postojanje p talasa koji prethodi svakom QRS kompleksu, sa konstantnom i pravilnom dužinom PQ intervala (0,12-0,22 sekundi), pri čemu su komorski kompleksi bili ravnomerno raspoređeni, odnosno RR intervali bili su konstantnog trajanja. Normalna srčana frekvencija iznosila je 60-100/min. Sinusna bradikardija definisana je kao usporenje srčane frekvencije ispod 60/min, pri čemu je značajnom smatrana bradikardija ispod 50/min. Sinusna tahikardija definisana je kao porast srčane frekvencije sinusnog porekla iznad 100/min, ali ne i preko 150/min. Pauze u provodljivosti definisane su kao svako produženje RR intervala, duže od dve sekunde ili više od 2,5 sekundi [159]. Fibrilacija pretkomora sa apsolutnom aritmijom komora (apsolutna aritmija) definisana je kao nepravilni ritam, uz odsustvo p talasa i potpunu iregularnost RR intervala. Supraventrikularne, pretkomorske, ekstrasistole (SVES) definisane su kao postojanje p talasa izmenjene morfologije, koji prethodi QRS kompleksu, koji mora biti normalne morfologije, uz skraćenje PQ intervala. Ventrikularne, komorske, ekstrasistole (VES) definisane su kao prevremen i širok QRS kompleks, >0,12 sekundi, kome ne prethodi

P talas, a nakon kojih sledi obavezna kompenzatorna pauza. Istovremeno ST-segment i T talas imaju smer suprotan od najveće defleksije ekstrasistolnog QRS kompleksa [160].

Sinoatrijalni blok II i III stepena kao i atrioventrikularni blok I, II i III stepena definisani su prema aktuelnim smernicama [161, 162].

Korišćena je Lown-ova klasifikacija ventrikularnih ekstrasistola (VES) tokom 24h EKG-monitoringa, na osnovu koje su ispitanici kliničke grupe, u zavisnosti od učestalosti VES-a i njihove kompleksnosti, podeljeni u 4 grupe po LOWN-u: prva podgrupa (stadijum I i II po Lown-u), druga podgrupa (stadiju III po Lown-u), treća podgrupa (stadijum IV po Lown-u) i četvrta podgrupa (stadijum V po Lown-u), tabela 3.

Tabela 3. Klasifikacija ventrikularnih ekstrasistola po Lown-u [160]

Stadijum I. Pojedinačne ventrikularne ekstrasistole, manje od 30 na sat
Stadijum II. Učestale VES, preko 30 na sat
Stadijum II: Multiformne VES
Stadijum IV: Repetativne VES tip A, VES u parovima tip B, VES u nizu od tri ili više (ventrikularna tahikardija)
Stadijum V: VES tipa R na T talasu

Varijabilnost srčane frekvencije, *heart rate variability* (HRV) predstavlja neinvazivnu meru autonomnog nervnog sistema tokom vežbanja, stresa, sna i uzimanja hrane i ukazuje na promenu otkucaja srca u određenom vremenskom okviru najčešće u trajanju od pet minuta, tokom 24h-EKG monitoringa i izražava se u milisekundama (ms). U slučaju aktivacije parasimpatičkog nervnog sistema (u mirovanju), snižen je broj otkucaja srca i automatski su više vrednosti varijabilnosti srčane frekvencije. U slučaju stresa aktiviran je simpatički nervni sistem, raste broj srčanih otkucaja i varijabilnost srčane frekvencije se snižava. Vrednost HRV se može kretati od <20 do >100 ms, pri čemu se sve vrednosti preko 100 smatraju urednim [163].

4.2.5. Osnovne hematološke i biohemijske analize

Svakom ispitaniku, nakon prijema i potpisivanja iniformisanog pristanka uzeti su uzorci krvi za rutinske laboratorijske analize, po standardnom protokolu lečenja pacijenata. Svim učesnicima studije uzeto je po 10 ml krvi korišćenjem standardnih vakutajnera, nakon

čega je krv obrađivana hematološki (broj eritrocita, trombocita, leukocitarna formula, koncentracija hemoglobina i hematokrit) na 5 PARDIFF hematološkom analizatoru SYMEX XS 1000 i biohemijski (jonogram plazme, lipidni status, glikemija, ureja, kreatinin i mokraćna kiselina) na biohemijskom analizatoru HUMASTAR 600. Sve analize urađene su u biohemijskoj laboratoriji Instituta za lečenje i rehabilitaciju „Niška Banja“, tokom trajanja studije. C-reaktivni protein (CRP) rađen je standardnom lateks metodom i koncentracija je izražena u mg/l. Vrednosti elektrolita (Na^+ i K^+) merene su na gasnom analizatoru Combiline Eschwailer i izraženi su u mmol/l. Pored ovih parametara određivana je i plazmatska koncentracija natriuretskog peptida (BNP) i biomarkera miokardnog remodelovanja, pri čemu je plazma pre toga zamrzavana na -80° do određivanja koncentracija biomarkera. Sve analize urađene su iz istog uzorka plazme.

Globalna funkcija bubrega procenjavana je na osnovu serumskih vrednosti kreatinina i ureje. Funkcionalna glomerulska rezerva, odnosno jačina glomerulske filtracije, izračunata je korišćenjem MDRD formule [164], korišćenjem NKDEP kalkulatora [165], a neophodni parametri za izračunavanje, pored serumskih vrednosti kreatinina, bili su starost, pol i rasna pripadnost. Pored MDRD formule korišćena je i Cocroft-Gaultova formula za računanje jačine glomerulske filtracije [164]. Na osnovu procenjene jačine glomerulske filtracije ($\text{eGFR} < 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$) pacijenti kliničke grupe bili su podeljeni na dve podgrupe [164].

4.2.6. Određivanje koncentracije BNP i biomarkera miokardnog remodelovanja

Koncentracije B-natriuretskog peptida (BNP) i biomarkera miokardnog remodelovanja (sST2, galektin-3, GDF-15 i sindekan-1) određivane su iz istog uzorka plazme, koja je bila zamrznuta na -80° , a iz koga su prethodno određeni svi biohemijski parametri. Sva merenja biomarkera urađena su u Naučnoistraživačkom centru za biomedicinu, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Nišu. Koncentracije biomarkera određivane su pomoću komercijalno dostupnih ELISA kompleta, u skladu sa uputstvima proizvođača. Koncentracije sST2, galektina-3 i GDF-15 merene su koristeći kvantitativnu sendvič tehniku imuno-analiza enzima istog proizvođača Quantikine^R; R&D Systems, Inc. Minneapolis, MN, USA, ELISA kits, sa minimalnom dozom detekcije (MDD) od 0,003-0,085 ng/ml za galektin-3; 2,45-13,5 ng/ml za sST2 i 0,0-4,4 pg/m za GDF-15. Koncentracija sindekana-1 u plazmi određivana je

prema uputstvima proizvođača, Abcam, ab46506, United Kingdom, sa MDD od 4,94 ng/ml, a BNP korišćenjem ELISA kita proizvođača Abcam, ab193694, United Kingdom, sa MDD od 14 pg/ml. Minimalna doza detekcije računata je dodavanjem dve standardne devijacije srednjoj vrednosti optičkih gustina.

4.3. Statističke analize

Podaci su prikazani u vidu aritmetičke sredine, standardne devijacije, minimalne i maksimalne vrednosti, odnosno u vidu apsolutnih i relativnih brojeva. Procena normalnosti kontinuiranih varijabli vršena je Kolmogorov-Smirnov testom. Ukoliko su podaci raspoređeni po tipu normalne raspodele, za poređenje vrednosti korišćen je t-test ili analiza varijanse (ANOVA). Kao post hoc analiza kod ANOVE korišćen je Tuckey test. Ukoliko su podaci bili raspoređeni po tipu normalne raspodele, za poređenje vrednosti korišćen je Mann-Whitney test ili Kruskal-Wallis-ov test. Poređenje kategorijskih varijabli vršeno je Hi-kvadrat testom ili Fisherovim testom egzaktne verovatnoće. Povezanost kontinuiranih varijabli testirana je korelacionom analizom (Pirsonov koeficijent proste linearne korelacije).

Za definisanje prediktivnih vrednosti za različite ehokardiografske, elektrokardiografske i varijable testa fizičkim opterećenjem korišćena je univarijantna logistička regresija, a parametri koji su imali nivo značajnosti $p < 0,05$ uvedeni su u multivarijantni model. Vršeno je prilagođavanje za godine, pol, komorbiditete i koncentracije biomarkera. Rezultati logističke regresije predstavljeni su unakrsnim odnosom (OR), 95% intervalom poverenja (95% CI) i p vrednošću.

Klaster analiza je korišćena radi formiranja fenotipova srčane insuficijencije sa očuvanom ejectionom frakcijom, na osnovu vrednosti plazmatskih koncentracija glavnih biomarkera u istraživanju. Korišćena je aglomeraciona hijerarhijska klaster analiza Wald Linkage metod i kvadridana Euklidinova daljina. Hipoteza je testirana sa pragom značajnosti $p < 0,05$. Statistička obrada podataka vršena je u programskom paketu SPSS 20.0.

5.0. Rezultati

5.1. Osnovne karakteristike ispitanika kliničke i kontrolne grupe

Sprovedenom studijom ukupno bilo je obuhvaćeno 112 ispitanika, koji su činili kliničku (n=77) i kontrolnu grupu (n=35). Prosečna starost ispitanika kliničke grupe bila je $61,75 \pm 9,89$ (minimalno 37, maksimalno 83 godine), a kontrolne grupe $59,4 \pm 10,95$. Polna struktura ispitanika u kliničkoj grupi pokazala je da je 58 (75,3%) ispitanika bilo muškog pola, a 19 (24,7%) ispitanica ženskog pola.

Klinička i kontrolna grupa su bile ujednačene u odnosu na starost ($p=0,531$) i pol ($p=0,090$), antropometrijski parametri (telesna težina, visina i indeks telesne mase) takođe su bili ujednačeni u odnosu na ispitivane grupe ($p=0,970$, $p=0,928$, $p=0,951$), kao i vrednosti sistolnog i dijastolnog pritiska ($p=0,128$, $p=0,419$). Vrednosti pulsog pritiska bile su statistički značajno više kod pacijenata kliničke grupe u odnosu na kontrolnu grupu ($p=0,002$). Parametri inflamacije, broj leukocita ($p=0,045$) i koncentracija fibrinogena ($p=0,005$) takođe su bili statistički značajno viši kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom u poređenju sa ispitanicima kontrolne grupe. Ostali ispitivani demografski, klinički i biohemijski parametri bili su ujednačeni između pacijenata i kontrolne grupe, odnosno nije bilo statistički značajne razlike. Svi rezultati prikazani su u tabeli 4.

Arterijska hipertenzija verifikovana je kod 92,2% pacijenata, hiperlipidemija kod 88,3% pacijenata, šećerna bolest kod 31,2% pacijenata, a gojaznost kod 62,3% pacijenata kliničke grupe. Pozitivna porodična anamneza postojala je kod 62,3% pacijenata kliničke grupe. Od prethodnih intervencija “bajpas” je urađen kod 21,1% pacijenata, PCI kod 46,1% pacijenata, dok je 5,3% pacijenata kliničke grupe imalo intervenciju “pejsmejker”.

Terapija za lečenje srčane slabosti bila je propisana na sledeći način: ARB je koristilo 5,2% ispitanika, ACEI 88,3%, amiodaron 36,4, beta-blokatore 96,1%, kalcijumske antagoniste 23,4%, spirinolakton 63,6%, diuretike 77,95 i statinsku terapiju primalo je 97,45. Rezultati vezani za farmakološki tretman nisu prikazani tabelarno.

Tabela 4. Osnovni demografski, klinički i biohemijski parametri ispitanika uključenih u studiju

Parametar	Klinička grupa (n=77)		Kontrolna grupa (n=35)		p ¹
Starost, godine	61,75±9,89		59,40±10,95		0,531
Pol					
Muški, n,%	58	75,3	5	45,5	0,090 ²
Ženski, n,%	19	24,7	6	54,5	
Težina, kg	84,76±15,29		84,3±14,83		0,928
BMI, kg/m ²	28,13±4,07		28,03±4,65		0,951
Kliničke karakteristike, %					
Pušenje	37	48,1	3	30,0	0,459 ²
Porodično opterećenje	48	62,3	5	50,0	0,683 ²
Hiperlipidemija	68	88,3	2	20,0	<0,001²
Gojaznost	48	62,3	3	30,0	0,107 ²
Šećerna bolest	24	31,2			
Arterijska hipertenzija	71	92,2			
Anemija	8	10,4	0		0,588 ⁴
Depresija	12	15,6	2	20,0	0,660
Hemodinamski parametri, mm/Hg					
Sistolni krvni pritisak	127,53±17,29		119,00±6,99		0,128
Dijastolni krvni pritisak	78,51±8,7		77,00±4,83		0,419
Srednji arterijski pritisak	94,84±10,78		90,90±5,3		0,072
Pulsni pritisak	49,03±12,54		42,00±4,83		0,002
Laboratorijski parametri					
Eritrociti (10 ¹² /l)	4,75±0,58		4,74±0,42		0,903
Hemoglobin, g/l	139,42±14,76		142,3±11,89		0,496
Leukociti (10 ⁹ /l)	9,38±15,66		6,35±1,65		0,045
CRP, mg/l	1,40±4,76		2,40±5,06		0,313 ³
Fibrinogen, g/l	3,82±0,82		3,13±0,52		0,005³
Ureja, mmol/l	7,63±4,93		5,64±1,98		0,095 ³
Kreatinin, μmol/l	107,74±42,92		89,49±13,51		0,050
eGFR, ml/min/1,73m ²	61,67±15,7		65,37±13,36		0,490 ³
Mokraćna kiselina, mmol/l	396,61±123,19		332,36±102,76		0,173 ³
Na, mmol/l	141,82±3,28		145,1±2,38		0,002
K, mmol/l	4,55±0,43		4,36±0,34		0,132
ALT, U/l	30,38±28,11		28,5±9,38		0,287 ³
AST, U/l	28,84±26,82		26,5±7,03		0,424 ³
Trigliceridi, mmol/l	1,69±0,73		1,45±0,74		0,293 ³
Totalni holesterol, mmol/l	4,78±1,37		5,26±1,25		0,204 ³
LDL, mmol/l	3,01±1,15		3,43±1,03		0,166 ³
HDL, mmol/l	1,03±0,24		1,18±0,30		0,093 ³

Srednja vrednost±SD. ¹t test, ²Hi-kvadrat test, ³Mann-Whitney test, ⁴Fisher-ov test egzaktne verovatnoće

Pacijenti kliničke grupe prema NYHA funkcionalnoj klasifikaciji bili su podeljeni u četiri grupe na sledeći način: najzastupljenija je bila NYHA I 40,3% i NYHA II 35,1%, dok je NYHA III klasa bila prisutna kod 14,3% pacijenata, a NYHA IV kod 10,4% pacijenata.

Analizom plazmatskih koncentracija ispitivanih biomarkera, BNP i markera miokardnog remodelovanja (sST2, galektin-3, GDF-15 i sindekan-1) dokazane su statistički značajne razlike između svih biomarkera ($p < 0,001$ za sve) pri čemu su koncentracije biomarkera bile više kod pacijenata kliničke grupe, tabela 5.

Tabela 5. Koncentracije biomarkera u plazmi kod ispitanika kliničke i kontrolne grupe

Biomarker	Klinička grupa	Kontrolna grupa	p¹
BNP (pg/ml)	175,45±142,37	15,39±7,07	<0,001
sST2 (ng/ml)	30,87±9,97	16,1±3,59	<0,001
Galektin-3 (ng/ml)	26,21±5,71	16,95±1,34	<0,001
GDF-15 (pg/ml)	1755,97±554,87	531,66±58,57	<0,001
Sindekan-1 (ng/ml)	67,45±15,65	13,43±3,86	<0,001

¹Mann-Whitney test

Poređenjem ehokardiografskih parametara između kliničke i kontrolne grupe pokazano je da postoji statistička značajnost između svih ispitivanih parametara, osim debljine septuma ($p=0,068$) i korena aorte ($p=0,904$), prikazano u tabeli 3. Statistički značajne razlike uočene su u sledećim ehokardiografskim parametrima: ESD ($p < 0,001$), EDD ($p=0,001$), ZZ ($p=0,006$), DK ($p=0,008$), LPK ($p < 0,001$) i SPDK ($p < 0,001$). Svi navedeni parametri bili su značajno viši kod pacijenata kliničke grupe u odnosu na kontrolnu grupu. Istovremeno, statistički značajna razlika dokazana je i u sledećim ehokardiografskim parametrima, EF ($p < 0,001$), TAPSE ($p < 0,001$) i E/A ($p=0,005$), pri čemu su ovi parametri bili značajno viši kod ispitanika kontrolne grupe u poređenju sa ispitanicima kliničke grupe. Kod polovine pacijenata kliničke grupe ehokardiografskim pregledom verifikovana je mitralna regurgitacija 1+ (51,9%), mitralna regurgitacija 2+ (23,4%), mitralna regurgitacija 3+ (16,9%), dok je kod 1,3% pacijenata postojala mitralna regurgitacija 4+. U kontrolnoj grupi većina ispitanika nije imala mitralnu regurgitaciju, (80,0%), dok je mitralnu regurgitaciju 1+ imalo 20,0% pacijenata, tako da je postojala statistički značajna razlika u prevalenciji mitralne regurgitacije između ispitivanih grupa ($p < 0,001$). U kliničkoj grupi polovina pacijenata imala je aortnu regurgitaciju 1+ (67,5%), aortna regurgitacija 2+ bila je verifikovana kod 22,1% pacijenata, dok je aortna regurgitacija 3+ postojala kod 7,8% pacijenata. Ispitanici kontrolne grupe u najvećoj meri nisu imali aortnu regurgitaciju (60,0%), dok je aortna regurgitacija 1+ bila verifikovana kod 40,0% pacijenata, tako da je postojala statistički značajna razlika u prevalenciji aortne regurgitacije između ispitanika kliničke i kontrolne grupe ($p < 0,001$). Svi rezultati prikazani su u tabeli 6.

Tabela 6. Osnovni ehokardiografski parametri pacijenata kliničke i kontrolne grupe

Parametar	Klinička grupa		Kontrolna grupa		p ¹
EFLK (%)	40,05±12,35		64,6±2,17		<0,001 ²
EDD (mm)	57,55±7,29		49,8±2,82		0,001
ESD (mm)	40,71±8,35		31,8±2,04		<0,001 ²
IMLK (gr/m ²)					
MLK (gr)					
IV septum (mm)	11,4±1,49		10,5±1,31		0,068
Zadnji zid (mm)	10,21±1,36		9,25±0,82		0,006
Leva pretkomora (mm)	44,69±5,34		37,95±0,9		<0,001
Aortni koren (mm)	34,52±4,07		34,4±2,72		0,904
E/A	0,82±0,21		1,11±0,30		0,005 ²
Aortna regurgitacija					
umerena	57	70,1	10	100,0	<0,001 ³
srednja	17	22,1	0	0,0	
teška	6	7,8	0	0,0	
Mitralna regurgitacija					
umerena	45	58,4	10	100,0	<0,001 ³
srednja	18	23,4	0	0,0	
teška	13	16,9	0	0,0	
Trikuspidna regurgitacija					
umerena	58	70,1	10	100,0	<0,001 ³
srednja	0	0,0	17	22,1	
teška	0	0,0	6	7,8	
TAPSE (mm)	20,9±4,07		27,3±3,27		<0,001
Desna komora (mm)	22,99±2,6		21±1,83		0,008
SPDK (mm/Hg)	33,73±10,68		24,8±6,34		<0,001

Srednja vrednost±SD; ¹t test, ²Mann-Whitney test, ³Hi-kvadrat test

U tabeli 7 prikazani su rezultati dobijeni 24h-EKG praćenjem pacijenata kliničke i kontrolne grupe. Značajne razlike postojale su u sledećim parametrima: srčanoj frekvenciji (p<0,001) i minimalnoj srčanoj frekvecniji (p<0,011), koje se bile značajno niže kod ispitanika kliničke grupe. Razlike su postojale i u učestalosti pretkomorskih ekstrasistola (p<0,001) i komorskih ekstrasistola (p<0,001), koje su bile značajno učestalije kod ispitanika kliničke grupe. Statistički značajne razlike su dobijene i poređenjem Lownove klasifikacije ventrikularnih ekstrasistola (p<0,001) između ispitanika kliničke i kontrolne grupe.

Tabela 7. Osnovni parametri 24h-EKG monitoringa ispitanika kliničke i kontrolne grupe

Parametar	Klinička grupa		Kontrolna grupa		p ¹
Atrijalna fibrilacija, (%)	22	28,6	0	0,0	
Srčana frekvencija (bpm)	66,04±9,54		77,20±6,03		0,001
Maksimalna srčana frekvencija	99,90±17,10		109,10±35,51		0,172
Minimalna srčana frekvencija	51,17±7,83		57,70±6,31		0,011
Pauze, (%)	7	9,1	0	0,0	
Pauze (>2,5 sekunde)	4	5,2	0	0,0	
Pauze (2,0-2,5 sekunde)	3	3,9	0	0,0	
Bradikardija, (%)	31	40,3	0	0,0	
Bradikardija<35/min	9	11,7	0	0,0	
Bradikardija>35/min	22	28,6	0	0,0	
Atrioventrikularni blok, (%)	2	2,6			
Sinoatrijalni blok, (%)	1	1,3			
Supraventrikularne aritmije, (%)	57	74,0	2	20,0	0,001²
Ventrikularne aritmije, (%)	75	97,4	3	30,0	<0,001²
ST-depresija, (%)	18	23,4	0	0,0	
Lown klasifikacija, (%)					
0	0	0,0	7	70,0	<0,001²
I	24	31,2	3	30,0	
II	21	27,3	0	0,0	
III	16	20,8	0	0,0	
IV	16	20,8	0	0,0	
HRV (bpm)	108,98±46,21		123,96±23,43		0,134

Srednja vrednost±SD, ¹t test, ²Hi-kvadrat test

Tabela 8 prikazuje rezultate dobijene poređenjem parametara na testu opterećenja između ispitanika kliničke i kontrolne grupe, pri čemu su statistički značajne razlike dobijene između ispitanika koji su dostigli submaksimalnu frekvenciju (p=0,001).

Metodom korelacione analize dokazano je da postoji statistički značajna negativna korelacija između vrednosti ejeckione frakcije (EF) i koncentracija biomarkera u plazmi: GDF-15 ($\rho=-0,399$, $p<0,001$), galektin-3 ($\rho=-0,511$, $p<0,001$), sST2 ($\rho=-0,486$, $p<0,001$), sindekan-1 ($\rho=-0,492$, $p<0,001$) i BNP ($\rho=-0,888$, $p<0,001$), prikazano u tabeli 9.

Tabela 8. Osnovni parametri testa opterećenja ispitanika kliničke i kontrolne grupe

Parametar	Klinička grupa (n=77)		Kontrolna grupa (n=35)		p ¹
Test fizičkim opterećenjem	10	100,0	0,109	72,7	0,109
Submaksimalna frekvencija					
Dostignuta	10	100,0	0,001	46,8	0,001
Nije dostignuta	0	0	41	53,2	
Trajanje testa (min)		4,76±3,29		5,65±1,89	0,474 ²
Dostignuti MET-i		6,04±2,99		6,50±1,84	0,141 ²
Test pozitivan na ishemiju	4	5,2	0	0,0	0,294
Test negativan na ishemiju	52	67,5	35	100,0	
Strešokardiografski test	10	13,0	/	/	
Submaksimalna frekvecnija					
Dostignuta	4	5,2			
Nije dostignuta	6	7,8			
Trajanje testa (min)		8,60±2,79			
Dostiguti MET-i		7,00±2,05			
Test pozitivan na ishemiju	2	2,6			
Test negativan na ishemiju	8	10,4			

¹Fisher-ov test egzaktne verovatnoće, ²Mann-Whitney test

Tabela 9. Korelaciona analiza između EF i koncentracija ispitivanih biomarkera kod ispitanika kliničke grupe

Biomarker		EF
GDF-15 (pg/ml)	ρ	-0,399**
	p-vrednost	< 0,001
	N	77
Galektin-3 (ng/ml)	ρ	-0,511**
	p-vrednost	< 0,001
	N	77
sST2 (ng/ml)	ρ	-0,486**
	p-vrednost	< 0,001
	N	77
Sindekan-1 (ng/ml)	ρ	-0,492**
	p-vrednost	< 0,001
	N	77
BNP (pg/ml)	ρ	-0,888**
	p-vrednost	< 0,001
	N	77

ρ–koeficijent korelacije, *p<0,05, **p<0,01

5.2. Određivanje faktora rizika za promenu različitih funkcijskih parametara kod ispitanika kliničke grupe

Metodom univarijantne logističke regresije za smanjenje jačine ejeckione frakcije (<40%) ispitanika kliničke grupe, kao najznačajniji faktori rizika izdvojile su se plazmatske koncentracije svih ispitivanih biomarkera: BNP (OR=1,078; 95%CI=1,040-1,117; p<0,001), sST2 (OR=1,120; 95%CI=1,042-1,203; p=0,002), galektin-3 (OR=1,237; 95%CI=1,105-1,384; p<0,001), GDF-15 (OR=1,002; 95%CI=1,001-1,003; p<0,003) i koncentracija sindekana-1 (OR=1,073; 95%CI=1,035-1,114; p<0,001), prikazano u tabeli 10.

Tabela 10. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za smanjenje jačine ejeckione frakcije<40% kod ispitanika kliničke grupe

Parametar	OR	95%CI	p
Starost (godine)	0,969	0,924-1,015	0,185
Muški pol	1,042	0,365-2,972	0,939
BMI	1,033	0,922-1,157	0,573
Koronarna bolest (da/ne)	1,904	0,729-4,969	0,189
Hipertenzija (da/ne)	1,367	0,258-7,247	0,714
BNP (pg/ml)	1,078	1,040-1,117	<0,001
sST2 (ng/ml)	1,120	1,042-1,203	0,002
Galektin-3 (ng/ml)	1,237	1,105-1,384	<0,001
GDF-15 (pg/ml)	1,002	1,001-1,003	0,003
Sindekan 1 (ng/ml)	1,073	1,035-1,114	<0,001

Ostali ispitivani parametri nisu pokazali značajnost nakon primenjene analize. U multivarijantni model uključene su varijable kod kojih je postojala statistička značajnost, pri čemu se kao jedini faktor rizika, nakon prilagođavanja, izdvojila koncentracija BNP u plazmi, (OR=1,101; 95%CI=1,045-1,160; p<0,001). Ovaj rezultat nije prikazan tabelarno.

U tabeli 11 prikazani su faktori rizika za povećanje indeksa mase leve komore za muškarce i žene, pri čemu se kao nezavisni faktor rizika izdvojila koncentracija BNP u plazmi BNP (OR=1,013; 95%CI=1,003-1,023; p=0,008), dok ostali ispitivani faktori nisu pokazali značajnost. U multivarijantni model uključena je samo koncentracija BNP u plazmi, sa istom statističkom značajnošću (OR=1,022; 95%CI=1,024-1,877; p=0,038). Ovaj rezultat nije prikazan u tabeli.

U tabeli 12 prikazani su faktori rizika za povećanje dijametra leve pretkomore (>40 mm). Kao nezavisni faktori rizika, metodom univarijantne logističke regresije, statistički značajno izdvojile su se koncentracije u plazmi svih ispitivanih biomarkera: BNP (OR=1,023; 95%CI=1,005-1,041; p=0,012), sST2 (OR=1,096; 95%CI=0,985-1,218, p=0,042), galektin-3 (OR=1,213; 95%CI=1,047-1,404; p=0,010), GDF-15 (OR=1,001; 95%CI=1,000-1,003; p=0,046) i sindekan-1 (OR=1,056; 95%CI=1,012-1,102; p=0,012). Ostali ispitivani parametri nisu pokazali statističku značajnost. U multivarijantnom modelu, nakon prilagođavanja, kao značajan faktor rizika izdvojila se koncentracija BNP (OR=1,023; 95%CI=1,005-1,041; p=0,012). Rezultat je dobijen Hosmer-Lameshow testom (p=0,825) i nije prikazan tabelarno.

Tabela 11. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za povećanje indeksa mase leve komore za muškarce (>115) i žene (>95) kod ispitanika kliničke grupe

Parametar	OR	95%CI	p
Starost (godine)	1,003	0,955-1,053	0,905
Pol	1,474	0,464-4,681	0,511
BMI	0,749	0,633-0,887	0,001
Koronarna bolest (da/ne)	0,655	0,231-1,856	0,426
Hipertenzija (da/ne)	0,392	0,043-3,544	0,404
BNP (pg/ml)	1,013	1,003-1,023	0,008
sST2 (ng/ml)	1,009	0,961-1,060	0,717
Galektin-3 (ng/ml)	1,069	0,977-1,168	0,145
GDF-15 (pg/ml)	1,000	0,999-1,001	0,949
Sindekan-1 (ng/ml)	1,023	0,992-1,055	0,151

Metodom univarijantne logističke regresije za nastanak dijastolne disfunkcije (E/A<1) utvrđeno je da se među ispitivanim parametrima samo postojanje koronarne bolesti izdvaja kao nezavisni faktor rizika, (OR=0,103; 95%CI=0,013-0,833; p=0,033), prikazano u tabeli 13. Ostali ispitivani parametri nisu pokazali statističku značajnost.

Nakon multivarijanog prilagođavanja koronarna bolest je takođe bila jedini značajan faktor rizika za razvoj dijastolne disfunkcije, (OR=0,109; 95%CI=0,015-0,923; p=0,034), rezultat nije prikazano tabelarno.

Tabela 12. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za povećanje dijametra leve pretkomore kod ispitanika kliničke grupe

Parametar	OR	95%CI	p
Starost (godine)	1,000	0,939-1,065	0,999
Muški pol	0,600	0,158-2,273	0,452
BMI	1,022	0,874-1,195	0,787
Koronarna bolest (da/ne)	1,463	0,415-5,160	0,554
Hipertenzija (da/ne)	1,091	0,116-10,260	0,939
BNP (pg/ml)	1,023	1,005-1,041	0,012
sST2 (ng/ml)	1,096	0,985-1,218	0,042
Galektin-3 (ng/ml)	1,213	1,047-1,404	0,010
GDF-15 (pg/ml)	1,001	1,000-1,003	0,046
Sindakan-1 (ng/ml)	1,056	1,012-1,102	0,012

U tabeli 14 prikazani su faktori rizika za nastanak miokardne ishemije (verifikovane testom fizičkim opterećenjem) kod ispitanika kliničke grupe. Statistička značajnost dokazana je za koncentracije svih ispitivanih biomarkera: BNP (OR=0,989; 95%CI=0,982-0,997; p=0,008), sST2 (OR=0,933; 95%CI=0,881-0,988, p=0,018), galektin-3 (OR=0,858; 95%CI=0,761-0,966; p=0,012), GDF-15 (OR=0,999; 95%CI=0,998-1,000; p=0,034) i sindekan-1 (OR=0,939; 95%CI=0,889-0,992; p=0,024). Ostali rezultati nisu pokazali statističku značajnost. Nakon prilagođavanja u multivarijantnom modelu, koncentracija BNP jedina je zadržala karakteristike faktora rizika za pojavu miokardne ishemije kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom, (OR=0,989; 95%CI=0,982-0,997; p<0,008).

Tabela 13. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za pojavu dijastolne disfunkcije (E/A<1) kod ispitanika kliničke grupe

Parametar	OR	95%CI	p
Starost (godine)	1,025	0,967-1,086	0,410
Muški pol	2,456	0,501-12,039	0,268
BMI	0,929	0,813-1,062	0,280
Koronarna bolest (da/ne)	0,103	0,013-0,833	0,033
Hipertenzija (da/ne)	-		
BNP (pg/ml)	1,001	0,996-1,007	0,643
sST2 (ng/ml)	1,038	0,970-1,110	0,280
Galektin-3 (ng/ml)	1,023	0,925-1,132	0,659
GDF-15 (pg/ml)	1,001	1,000-1,002	0,187
Sindekan-1 (ng/ml)	0,995	0,959-1,032	0,769

Tabela 14. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za pojavu miokardne ishemije kod ispitanika u kliničkoj grupi

Parametar	OR	95%CI	p
Starost (godine)	0,976	0,916-1,039	0,446
Muški pol	0,600	0,158-2,273	0,452
BMI	0,993	0,854-1,156	0,932
Koronarna bolest (da/ne)	1,117	0,295-4,230	0,871
Hipertenzija (da/ne)	-		
BNP (pg/ml)	0,989	0,982-0,997	0,008
sST2 (ng/ml)	0,933	0,881-0,988	0,018
Galektin-3 (ng/ml)	0,858	0,761-0,966	0,012
GDF-15 (pg/ml)	0,999	0,998-1,000	0,034
Sindekan 1 (ng/ml)	0,939	0,889-0,992	0,024
Hosmer-Lemeshow test			

Faktori rizika za pojavu atrijske fibrilacije kod pacijenata kliničke grupe prikazani su u tabeli 15. Statistički značajni faktori bili su starost ispitanika, (OR=1,111; 95%CI=1,042-1,185; p=0,001) i prisustvo koronarne bolesti (OR=0,292; 95%CI=0,103-0,822; p=0,020). Nakon prilagođavanja, isti faktori zadržali su značajnost kao faktori rizika, godine ispitanika (OR=1,202; 95%CI=1,113-1,982; p=0,035) i koronarna bolest (OR=0,331; 95%CI=0,765-0,987; p=0,045). Rezultati multivarijantne analize nisu prikazani tabelarno. Ostali ispitivani parametri nisu pokazali statističku značajnost. Ispitivanjem faktora rizika za varijabilnost srčane frekvencije (HRV<100) metodom univarijantne logističke regresije, zaključeno je da se nijedan od ispitivanih parametara nije izdvojio kao statistički značajan faktor rizika, te iz tog razloga rezultati te analize nisu prikazani tabelarno.

Tabela 15. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za pojavu atrijske fibrilacije kod ispitanika u kliničkoj grupi

Parametar	OR	95%CI	p
Starost (godine)	1,111	1,042-1,185	0,001
Muški pol	1,212	0,393-3,735	0,738
BMI	0,958	0,843-1,088	0,510
Koronarna bolest (da/ne)	0,292	0,103-0,822	0,020
Hipertenzija (da/ne)	0,365	0,068-1,969	0,241
BNP (pg/ml)	0,999	0,994-1,003	0,568
sST2 (ng/ml)	1,019	0,970-1,069	0,456
Galektin-3 (ng/ml)	1,044	0,957-1,139	0,336
GDF-15 (pg/ml)	1,000	0,999-1,001	0,641
Sindekan-1 (ng/ml)	1,021	0,987-1,055	0,233

U tabeli 16 prikazani su nezavisni faktori rizika za pojavu pauza u srčanom radu, dužih od dve sekunde, pri čemu se jedino faktor godina pokazao kao statistički značajan, u univarijantnom modelu (OR=1,109; 95%CI=1,009-1,218; p=0,031) i multivarijantnom modelu (OR=1,143; 95%CI=1,076-1,312; p=0,039), koji nije prikazan tabelarno.

Tabela 16. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za pojavu pauza u srčanom radu (>2 sek) kod ispitanika kliničke grupe

Parametar	OR	95%CI	p
Starost (godine)	1,109	1,009-1,218	0,031
Muški pol	1,247	0,221-7,023	0,802
BMI	0,921	0,743-1,142	0,455
Koronarna bolest (da/ne)	0,351	0,072-1,705	0,194
Hipertenzija (da/ne)	0,462	0,046-4,623	0,511
BNP (pg/ml)	0,998	0,989-1,007	0,651
sST2 (ng/ml)	1,019	0,948-1,096	0,609
Galektin-3 (ng/ml)	1,047	0,915-1,198	0,505
GDF-15 (pg/ml)	1,000	0,999-1,002	0,471
Sindekan 1 (ng/ml)	1,048	0,984-1,116	0,148

Tabela 17 prikazuje rezultate dobijene nakon analize faktora rizika za pojavu bradikardije <35/minut. Kao statistički značajan faktor rizika izdvojilo se postojanje koronare bolesti (OR=0,213; 95%CI=0,048-0,936; p=0,041) u univarijantnom i multivarijantnom modelu (OR=0,323; 95%CI=0,076-0,976; p=0,048). Rezultat multivarijantne analize nije prikazan u tabeli.

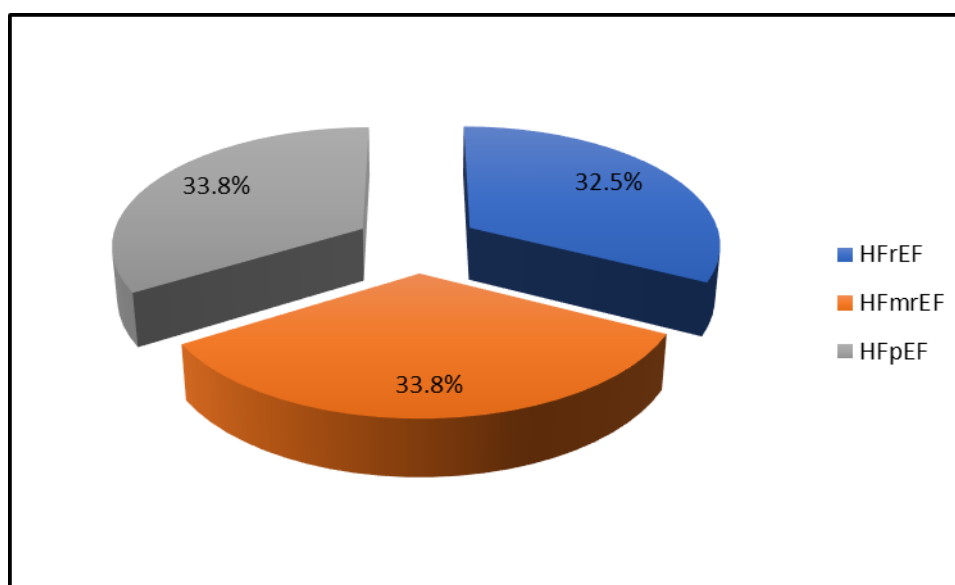
Tabela 17. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za pojavu bradikardije (<35/min) kod ispitanika kliničke grupe

Parametar	OR	95%CI	p
Starost (godine)	1,044	0,970-1,123	0,250
Muški pol	0,347	0,041-2,973	0,334
BMI	0,950	0,791-1,142	0,588
Koronarna bolest (da/ne)	0,213	0,048-0,936	0,041
Hipertenzija (da/ne)	-		
BNP (pg/ml)	0,994	0,983-1,006	0,316
sST2 (ng/ml)	0,969	0,893-1,053	0,460
Galektin-3 (ng/ml)	0,947	0,832-1,078	0,408
GDF-15 (pg/ml)	1,000	0,998-1,001	0,610
Sindekan-1 (ng/ml)	1,007	0,962-1,054	0,777

5.3. Rezultati u odnosu na kategoriju ejakcione frakcije

Pacijenti kliničke grupe su prema kategoriji ejakcione frakcije bili podeljeni u tri podgrupe, sa očuvanom ejakcionom frakcijom, $EF > 50\%$, (HFpEF) koju je činilo 26 pacijenata (33,8%), graničnom ejakcionom frakcijom, $EF 40-49\%$, (HFmrEF), sa 26 ispitanika (33,8%) i treću kliničku podgrupu činili su pacijenti sa redukovanom ejakcionom frakcijom, $EF < 40\%$ (HFrEF), sa 25 pacijenata (32,5%), prikazano na grafiku 1.

Osnovne demografske, kliničke i biohemijske karakteristike tri podgrupe ispitanika podeljenih prema vrednostima ejakcione frakcije prikazane su u tabeli 18. Analizom anamnestičkih podataka pacijenata sa srčanom insuficijencijom stratifikovanih prema kategoriji EF dobijeni su sledeći podaci: kao primarni etiološki faktor za nastanak srčane insuficijencije 79,2% HFrEF i 73,1% HFmrEF pacijenata navelo je koronarnu bolest, što je bilo statistički značajno više od 46,2% pacijenata iz HFpEF podrupe ($p=0,032$). Nije bilo statistički značajne razlike u stopi infarkta (sa ili bez ST-elevacije), kardiomiopatije ($p=0,376$) ili valvularne bolesti ($p=0,166$). Značajne razlike verifikovane su i u NYHA klasifikaciji ($p < 0,001$), hiperlipidemiji ($p < 0,001$), sa najvišom stopom prevalencije u HFpEF podgrupi pacijenata (100%) u poređenju sa HFrEF (68%) i HFmrEF (96,2%) i vrednostima arterijske hipertenzije ($p=0,032$), svi pomenuti rezultati prikazani su u tabeli 18.



Grafik 1. Struktura kliničke grupe u odnosu na kategoriju ejakcione frakcije

Analizom laboratorijskih parametara, koji su prikazani u tabeli 18, značajne razlike detektovane su u koncentracijama ureje u plazmi ($p=0,014$), mokraćne kiseline ($p<0,001$),

Tabela 18. Osnovni demografski i klinički i parametri pacijenata u kliničkim podgrupama klasifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije

Parametar	HFpEF, n=26		HFmrEF, n=26		HFrEF, n=25		p ¹
Starost, godine	63,81±9,15		62±9,53		59,64±10,73		0,304
Pol							
Muški, n,%	20	76,9	19	73,1	19	76,0	0,946 ³
Ženski, n,%	6	23,1	7	26,9	6	24,0	
Težina, kg	85,04±13,55		87,46±17		82,29±15,48		0,488
BMI, kg/m ²	27,73±3,48		29,58±4,38		27,31±4,14		0,117
Etiologija srčane insuficijencije, n, %							
Koronarna bolest	12 ^{a,b}	46,2	19	73,1	19	79,2	0,032
Infarkt miokarda	15	57,7	16	61,5	17	70,8	0,611
STEMI	11	42,3	15	57,7	13	52,0	0,483
NSTEMI	4	15,4	1	3,8	4	16,0	
Kardiomiopatija	19	73,1	16	61,5	19	79,2	0,376
Valvularna bolest	10	38,5	6	23,1	12	48,0	0,166
Kliničke karakteristike, %							
NYHA klasa							
I	22 ^{a,b}	84,6	7	26,9	2	8,0	<0,001
II	4	15,4	18	62,9	5	20,0	
III	0	0	1	3,8	10	40,0	
IV	0	0	0	0	8	32,0	
Pušenje	13	50	11	42,3	13	52	0,763
Porodično opterećenje	19	73,1	12	46,2	17	68	0,106
Hiperlipidemija	26 ^a	100	25 ^a	96,2	17	68	<0,001
Gojaznost	17	65,4	19	73,1	12	48,0	0,169
Šećerna bolest	10	38,5	8	30,8	2	24	0,535
Arterijska hipertenzija	23	88,5	26 ^a	100	22	88	0,044
Anemija	2	7,7	3	11,5	3	12	0,851
Depresija	4	15,4	2	7,7	6	24	0,265
Prethodne intervencije, n, %							
PKI	12	46,2	13	50,0	10	41,7	0,840
IP	0	0	6	23,1	12	48,0	0,111
AKB	4	15,4	7	26,9	5	20,8	0,592
Hemodinamski parametri, mm/Hg							
Sistolni krvni pritisak	129,62±22,27		130,43±14,22		123,21±13,69		0,253
Dijastolni krvni pritisak	78,85±8,04		80,43±8,78		76,61±9,13		0,290
Srednji arterijski pritisak	95,69±12,22		97,17±9,5		92,14±10,13		0,226
Pulsni pritisak	50,77±16,41		50±11,48		46,61±8,72		0,437

Srednja vrednost±SD;

¹ANOVA, ²Kruskal-Valis test, ^a $p<0,05$ vs HFrEF, ^b $p<0,05$ vs HFmrEF;

PKI: perkutana koronarna intervencija; IP: implantacija pejsmejkera; AKB: aortno-koronarni bajpas.

plazmatskim aktivnostima AST ($p=0,032$) i ALT ($p=0,002$) i koncentraciji triglicerida ($p=0,027$), pri čemu su sve vrednosti bile najviše u podgrupi pacijenata sa redukovanom ejekcionom frakcijom (HF_rEF). Farmakološka terapija koja je bila primenjena u sve tri podgrupe ispitanika razlikovala se u primeni sledećih terapijskih protokola: ACE inhibitori ($p=0,021$), amiodaron ($p=0,040$), blokatori kalcijumovih kanala ($p=0,008$), spironolakton ($p<0,001$) i diuretici ($p=0,011$), tabela 16. Vrednosti plazmatskih koncentracija biomarkera miokardnog remodelovanja (sST2, galektin-3, GDF-15 i sindekan-1) i BNP prikazane su u istoj tabeli 17. Analizirane koncentracije svih biomarkera pokazale su sličan obrazac u podgrupama ispitanika: najviše vrednosti bile su u podgrupi pacijenata sa redukovnom ejekcionom frakcijom (HF_rEF), a najniže u podgrupi pacijenata sa očuvanom ejekcionom frakcijom (HF_pEF), $p<0,001$ za sve ispitivane biomarkere. Analizom BNP koncentracija i svih biomarkera miokardnog remodelovanja u podgrupi pacijenata sa graničnom ejekcionom frakcijom, pokazano je da HF_mrEF predstavlja intermedijarni biohemijski profil, što je prikazano na grafikonu 1. Analizom primenjene terapije prema kategoriji ejekcione frakcije dokazano je da se terapija ACE inhibitorima ($p=0,021$), amiodaronom ($p=0,040$), kalcijumskim antagonistima ($p=0,008$), diureticima ($p=0,011$) i spirinolaktonom ($p<0,001$) statistički značajno razlikovala između podgrupa, prikazano u tabeli 20.

Tabela 19. Osnovni biohemijski parametri pacijenata u kliničkim podgrupama klasifikovanih prema kategoriji ejekcione frakcije

Parametar	HF _p EF, n=26	HF _m rEF, n=26	HF _r EF, n=25	p ¹
Eritrociti ($10^{12}/l$)	4,75±0,57	4,85±0,59	4,68±0,59	0,614
Hemoglobin, g/l	136,35±11,37	141,96±14,34	140,18±17,64	0,396
Leukociti ($10^9/l$)	12,55±26,88	8,14±1,96	7,45±1,8	0,392 ²
CRP, mg/l	0,46±2,35	0,52±2,5	3±7,02	0,122 ²
Fibrinogen, g/l	3,7±0,62	3,75±0,93	3,98±0,88	0,556 ²
Ureja, mmol/l	6,2±1,65 ^a	6,61±2,65 ^a	9,8±7,24	0,014²
Kreatinin, μmol/l	100,09±24,45	100,54±20,26	120,75±63,42	0,217 ²
eGFR, ml/min/1,73m ²	64,7±15,22	62,38±12,63	58,28±18,11	0,665 ²
Mokraćna kiselina, mmol/l	320,18±89,46 ^{a,b}	395,26±66,97 ^a	468,68±143,68	<0,001²
Na, mmol/l	141,69±2,59	141,22±3,74	142,43±3,45	0,415
K, mmol/l	4,53±0,44	4,55±0,37	4,58±0,48	0,937
ALT, U/l	23,3±14,45 ^a	30,27±14,32	36,29±42,26	0,032²
AST, U/l	20,61±7,79 ^{a,b}	27,15±10,38	37,18±41,74	0,002²
Trigliceridi, mmol/l	1,49±0,77 ^a	1,64±0,58	1,97±0,79	0,027²
Totalni holesterol, mmol/l	4,6±1,53	4,92±1,49	4,84±1,12	0,480 ²
LDL, mmol/l	2,95±1,21	3,06±1,32	3,03±0,97	0,788 ²
HDL, mmol/l	1,03±0,24	0,97±0,13	1,08±0,29	0,755 ²
HbA1c, %	9,24±1,14	7,62±2,62	7,49±1,63	0,194 ²

Srednja vrednost±SD; ¹ANOVA, ²Kruskal-Valis test, ^a $p<0,05$ vs HF_rEF, ^b $p<0,05$ vs HF_mrEF.

U podgrupi pacijenata sa redukovanom ejakcionom frakcijom (HFrEF), 56,0% pacijenata dobijalo je terapiju amiodaronom, svi pacijenti terapiju ACE inhibitorima, dok je 96,0% pacijenata primenjivalo terapiju antagonista aldosteronskih receptora (spironolakton) i diuretike, prikazano na grafikonu 2. Primena ostale terapije bila je ujednačena u odnosu na ispitivane EF grupe, odnosno nije dokazana statistički značajna razlika.

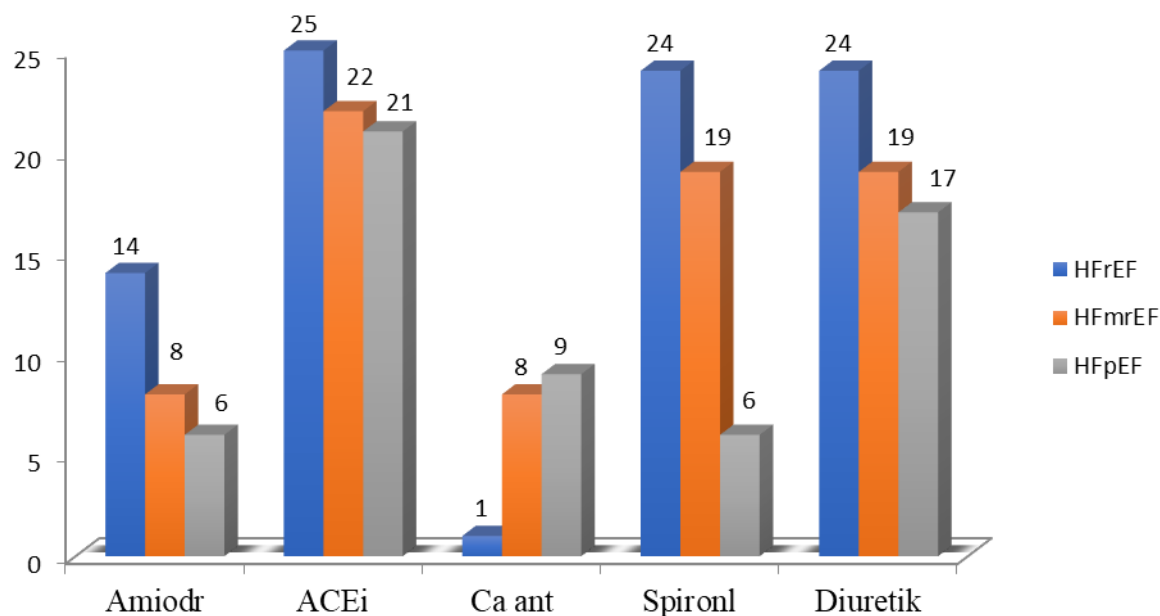
Tabela 20. Primenjena farmakološka terapija prema kategoriji ejakcione frakcije

Primenjena terapija, n,%	HFrEF, n=25		HFmrEF, n=26		HFpEF, n=26		p ¹
ARB	2	8,0	1	3,8	1	3,8	0,757
ACE inhibitori	25	100,0	22	84,6	21	80,8	0,021
Amiodaron	14	56,0	8	30,8	6	23,1	0,040
β-blokatori	25	100,0	24	92,3	25	96,2	0,250
Kalcijumski antagonisti	1	4,0	8	30,8	9	34,6	0,008
Spironolakton	24	96,0	19	73,1	6	23,1	<0,001
Diuretici	24	96,0	19	73,1	17	65,4	0,011
Statini	25	100,0	25	96,2	25	96,2	0,450
Nitrati	6	24,0	3	11,5	6	23,1	0,428
Trimetazid	11	44,0	13	50,0	6	23,1	0,104
Molsidomin	4	16,0	6	23,1	3	11,5	0,535
Ranolazin	1	4,0	0	0,0	1	3,8	0,433
Klopidogrel	6	24,0	4	15,4	7	26,9	0,569
Tikagrelor	4	16,0	6	23,1	5	19,2	0,815
Sedativna terapija	7	28,0	7	26,9	4	15,4	0,477
Antidepesivna terapija	4	16,0	1	3,8	3	11,5	0,315
Digitalis	1	4,0	2	7,7	0	0,0	0,240
Urikostatik	4	16,0	1	3,8	2	7,7	0,309
Oralni hipoglikemici	5	20,0	5	19,2	5	19,2	0,997
Metformin	5	20,	6	23,1	5	19,2	0,937
Sulfonilureja	1	4,0	2	7,7	2	7,7	0,814
Insulinska terapija	1	4,0	3	11,5	4	15,4	0,359
Terapija gvoždem	3	12,0	0	0,0	1	3,8	0,099

¹Hi-kvadrat test

U tabeli broj 21 prikazane su srednje vrednosti ispitivanih koncentracija biomarkera u plazmi (BNP, sST2, galektin-3, GDF-15 i sindekan-1) ispitanika kliničke grupe stratifikovanih prema kategoriji ejakcione frakcije i kontrolne grupe i dobijene statistički značajne razlike. Značajne razlike dokazane su između svih kliničkih podgrupa (HFpEF, HFmrEF i HFrEF) i kontrolne grupe, $p < 0,001$ za sve biomarkere. Trend promene koncentracija u plazmi ispitanika pokazivao je da su najviše koncentracije svih biomarkera bile kod pacijenata klasifikovanih kao HFrEF, a najniže kod HFpEF pacijenata. Kod ispitanika sa graničnom ejakcionom frakcijom (40-49%), verifikovane su vrednosti koje su

bile intermedijernog karaktera, što znači da su ovi pacijenti predstavljali “intermedijerni” biomarkerski profil.



Grafik 2. Primenjena terapija prema kategoriji ejskione frakcije

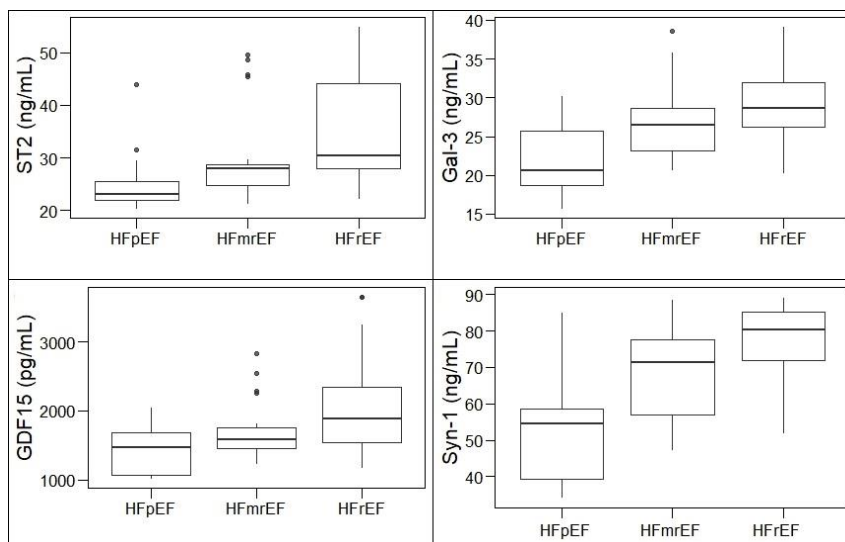
Tabela 21. Koncentracije biomarkera u plazmi kod ispitanika kliničkih podgrupa i kontrolne grupe

Biomarker	HFpEF, n = 26	HFmrEF, n = 26	HFrEF, n = 25	Kontrola	p ¹
BNP (pg/ml)	92,02±18,91 ^{a,b,c}	153,87±26,84 ^{a,c}	284,65±206,38 ^c	14,86±7,22	< 0,001
sST2 (ng/ml)	26,08±7,93 ^{a,b,c}	29,23±8,32 ^{a,c}	37,57±10,13 ^c	16,06±3,78	< 0,001
Galektin-3 (ng/ml)	22,32±4,89 ^{a,b,c}	26,39±4,99 ^{a,c}	30,05±4,56 ^c	17,11±1,29	< 0,001
GDF-15 (pg/ml)	1493,16±421,45 ^{a,c}	1672,95±394,84 ^{a,c}	2115,64±640,71 ^c	542,69±48,22	< 0,001
Sindekan-1 (ng/ml)	56,56±16,76 ^{a,b,c}	67,73±12,26 ^{a,c}	78,5±8,41 ^c	13,01±3,80	< 0,001

Srednja vrednost±SD.

¹Kruskal-Wallis test, ^ap<0,05 vs HFrEF, ^bp<0,05 vs HFmrEF; ^cp<0,001 vs kontrolna grupa.

Analiza ehokardiografskih parametara u sve tri kliničke podgrupe ispitanika pokazala je statistički značajne razlike u najvećem broju ispitivanih parametara: EF ($p < 0,001$), EDD ($p < 0,001$), ESD ($p < 0,001$), indeks mase leve komore ($p = 0,001$), masa leve komore ($p = 0,001$),



Grafik 3. Biomarkeri miokardnog remodelovanja klasifikovani prema ejectionoj frakciji; srednja vrednost \pm SD.

dijamenzije leve pretkomore ($p = 0,001$), TAPSE ($p < 0,001$), dijametar desne komore ($p = 0,001$) i sistolni pritisak desne komore ($p = 0,031$), svi rezultati prikazani su u tabeli 22.

Dodatno je dokumentovano da podgrupa ispitanika sa graničnom ejectionom frakcijom (HFmrEF) predstavlja apsolutni ehokardiografski intermedijarni profil, sa vrednostima između HFpEF i HFrfEF, za sve statistički značajne parametre.

Tabela 22. Osnovni ehokardiografski parametri pacijenata u kliničkim podgrupama klasifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije

Parametar	HFpEF, n=26		HFmrEF, n=26		HFrEF, n=25		p ¹
EFLK (%)	53,64±3,71 ^{a,b}		40,69±2,98 ^a		25,20±5,30		<0,001
EDD (mm)	35,5±3,06 ^{a,b}		36,78±2,94 ^a		48,77±8,6		<0,001
ESD (mm)	52,31±4,68 ^{a,b}		55,65±5,05 ^a		63,96±6,03		<0,001
IMLK (gr/m ²)	114,85±27,01 ^a		118,85±24,98 ^a		155,64±51,94		0,001
MLK (gr)	229,73±50,21 ^a		234,88±51,03 ^a		302,44±97,09		0,001
IV septum (mm)	12,00±1,59		11,20±1,27		11,00±1,43		0,269
Zadnji zid (mm)	10,52±1,04		9,93±0,97		9,14±1,81		0,627
Leva pretkomora (mm)	42,42±5,78 ^{a,b}		44,26±4,88 ^a		47,16±4,31		<0,001
Aortni koren (mm)	34,5±4,83		34,63±4,1		34,45±3,37		0,845
E/A	0,76±0,14		0,83±0,19		0,87±0,27		0,993
Aortna regurgitacija							
umerena	4	15,4	3	11,5	7	28,0	0,264 ²
srednja	2	7,7	2	7,7	0	0	
značajna	0	0,0	0	0,0	1	4,0	
Mitralna regurgitacija							
umerena	16	61,5	15	57,7	9	36,0	0,079 ²
srednja	3	11,5	7	26,9	8	32,0	
značajna	3	11,5	4	15,4	7	28,0	
Trikuspidna regurgitacija							
umerena	18	69,2	19	73,1	15	60,0	0,285 ²
srednja	5	19,2	4	15,4	8	32,0	
značajna	1	3,8	3	11,5	2	8,0	
TAPSE (mm)	22,84±4,2 ^{a,b}		21,83±4,10 ^a		18,34±2,33		<0,001
Desna komora (mm)	22,38±2,06 ^a		22,22±2,59 ^a		24,18±2,7		0,001
SPDK (mm/Hg)	31,96±10,5		32,3±8,92		36,54±11,9		0,031

Srednja vrednost±SD;

¹Kruskal-Valis test, ²Hi-kvadratni test, ^ap<0,05 vs HFrEF, ^bp<0,05 vs HFmrEF;

IMLK: indeks mase leve komore; MLK: masa leve komore; SPRV: sistolni pritisak desne komore.

U tabeli 23 prikazani su osnovni parametri dobijeni 24h-EKG monitoringom pacijenata stratifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije. Dobijene su statistički značajne razlike u učestalosti bradikardije (<35 sekundi), koja je bila značajno učestalija kod ispitanika sa redukovanom EF, u poređenju sa ispitanicima sa očuvanom i graničnom EF, između kojih nije bilo značajnosti u učestalosti svog poremećaja srčanog ritma.

Tabela 23. Osnovni parametri 24h-EKG monitoringa pacijenata u kliničkim podgrupama klasifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije

Parametar	HFpEF, n=26		HFmrEF, n=26		HFrEF, n=25		p ¹
Atrijalna fibrilacija, (%)	8	30,8	5	19,2	9	36,0	0,385
Srčana frekvencija (bpm)	67,54±10,48		64,27±8,57		66,32±9,56		0,424 ²
Maksimalna srčana frekvencija	96,85±18,17		98,69±15,62		104,32±17,20		0,310 ²
Minimalna srčana frekvencija	52,31±8,68		51,62±6,01		49,52±8,56		0,620 ²
Pauze, (%)							
Pauze (>2,5 sekunde)	2	7,7	0	0,0	1	4,0	0,537 ³
Pauze (2,0-2,5 sekunde)	1	3,8	0	0,0	2	8,0	0,316 ³
Bradikardija, (%)							
Bradikardija<35/min	2	7,7	1	3,8	6	24,0	0,046³
Bradikardija>35/min	9	34,6	8	30,8	5	20,0	0,537 ³
Atrioventrikularni blok, (%)	0	0,0	1	3,8	1	4,0	0,768 ³
Sinoatrijalni blok, (%)	1	3,8	0	0,0	0	0,0	1,000 ³
Supraventrikularne aritmije, (%)	20	76,9	19	73,1	18	72,0	0,913
Ventrikularne aritmije, (%)	26	100,0	24	92,3	25	100,0	0,108
ST-depresija, (%)	6	23,1	7	26,9	5	20,0	0,842
Lown klasifikacija, (%)							
0	3	11,5	10	38,5	11	44,0	
I	7	26,9	6	23,1	8	32,0	
II	5	19,2	6	23,1	5	20,0	0,030
III	10	38,5	4	15,4	1	4,0	
IV	1	3,8	0	0,0	0	0,0	
HRV (bpm)	105,74±50,74		105,44±42,86		115,93±45,84		0,749 ²

Srednja vrednost±SD;

¹Hi-kvadrat test, ²Kruskal-Wallisov test, ³Fisher-ov test egzaktne verovatnoće

U tabeli 24 prikazane su statistički značajne razlike između parametara dobijenih na testu fizičkim opterećenjem kod ispitanika stratifikovanih prema tipu ejeckione frakcije. Statistički značajne razlike dobijene su u broju pacijenata koji su bili podvrgnuti testu fizičkim opterećenjem ($p=0,019$) i broju onih koji su dostigli submaksimalnu frekvenciju ($p=0,025$).

Tabela 24. Osnovni parametri dobijeni na testu fizičkim opterećenjem u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema kategoriji ejeckione frakcije

Parametar	HFpEF, n=26		HFmrEF, n=26		HFrEF, n=25		p ¹
Test fizičkim opterećenjem	14	53,8	20	76,9	22 ^a	88,0	0,019
Submaksimalna frekvencija							
Dostignuta	7	26,9	13	50,0	16 ^a	64,0	0,025
Nije dostignuta	19	73,1	13	50,0	9	36,0	
Trajanje testa (min)	5,78±3,23		5,48±2,73		4,65±1,97		0,383 ²
Dostignuti MET	7,50±5,24		5,65±1,72		5,45±1,37		0,767 ²
Test pozitivan na miokardnu ishemiju	0	0,0	1	5,0	3	13,6	0,187
Test negativan na miokardnu ishemiju	14	100,0	19	95,0	19	86,4	
Stresehokardiografski test	2	7,7	5	19,2	3	12,0	0,458
Submaksimalna frekvencija							
Dostignuta	1	3,8	2	7,7	3	12,0	0,544
Nije dostignuta	25	96,2	24	92,3	22	88,0	
Trajanje testa (min.)	6,00±4,24		9,60±2,30		8,67±2,52		0,505 ²
Dostignuti MET	5,00±2,83		7,60±1,34		7,33±2,52		0,392 ²
Test pozitivan na miokardnu ishemiju	1	50,0	1	20,0	0	0,0	0,666 ³
Test negativan na miokardnu ishemiju	1	50,0	4	80,0	3	100,0	

Univarijantna i multivarijantna (rezultati prikazani u zagradi) regresiona analiza između kliničkih, laboratorijskih, koncentracija biomarkera u plazmi i vrednosti indeksa mase leve komore prema kategoriji ejeckione frakcije prikazana je u tabeli 25. U prvoj kliničkoj podgrupi, HFpEF, dokazana je statistički značajna nezavisna korelacija između vrednosti indeksa mase leve komore i sledećih ispitivanih varijabli: godine starosti ($B=1,372$, $\beta=0,461$, $p=0,021$), više vrednosti indeksa telesne mase (BMI) ($B=-3,887$, $\beta=-0,499$, $p=0,011$), više vrednosti kreatinina u plazmi ($B=1,011$, $\beta=0,535$, $p=0,006$), niže vrednosti jačine glomerulske filtracije izračunatih Cocroft-Gault formulom ($B=-0,851$, $\beta=0,200$, $p<0,001$) i MDRD formulom ($B=-1,144$, $\beta=-0,470$, $p=0,018$) i više koncentracije biomarkera u plazmi: sST2 ($B=3,329$, $\beta=0,590$, $p=0,002$), galektin-3 ($B=4,215$, $\beta=0,661$, $p<0,001$), GDF-15 ($B=0,042$, $\beta=0,502$, $p=0,011$) i sindekan-1 ($B=0,938$, $\beta=0,531$, $p=0,006$).

Metodom multivarijantne analize, nakon prilagođavanja za godine, indeks telesne mase i vrednosti biomarkera sST2, galektin-3, GDF-15 i sindekan-1, dokazana je značajna korelacija između indeksa mase leve komore i sledećih varijabli: godina starosti ($B=1,041$,

$\beta=0,349$, $p=0,025$) i viših vrednosti galektina-3 u plazmi ($B=3,799$, $\beta=0,595$, $p<0,001$ u kliničkoj podgrupi HFpEF. Identična multivarijantna analiza dokazala je da plazmatska koncentracija sST2 koreliše sa indeksom mase leve komore u podgrupi HFrEF ($B=3,237$, $\beta=0,632$, $p=0,010$).

Tabela 25. Koeficijent regresije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i IMLK u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema vrednostima ejeckione frakcije

Parametar	HFpEF			HFmrEF			HFrEF		
	B	β	p	B	β	p	B	β	p
*Godine	1,372	0,461	0,021	-0,214	-0,081	0,694	0,472	0,098	0,640
Pol	-5,544	-0,088	0,677	-4,286	-0,078	0,706	-5,447	-0,046	0,828
BMI (kg/m ²)	-3,887	-0,499	0,011	-1,038	-0,188	0,358	-4,167	-0,303	0,140
Koronarna bolest	-17,077	-0,316	0,124	-11,549	-0,209	0,305	-25,221	-0,200	0,348
Hipertenzija (mmHg)	-13,394	-0,161	0,442				-12,909	-0,082	0,695
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	1,011	0,535	0,006	-0,202	-0,135	0,510	-0,202	-0,243	0,242
eGFR (Cocroft-Gault)	-0,851	0,200	<0,001	-0,006	-0,005	0,980	-0,192	-0,083	0,692
eGFR (MDRD)	-1,144	-0,470	0,018	0,200	0,108	0,600	0,723	0,200	0,339
BNP (pg/ml)	0,277	0,191	0,359	0,165	0,177	0,386	0,149	0,594	0,002
*sST2 (ng/ml)	3,329	0,590	0,002	-0,247	-0,082	0,690	1,262	0,246	0,235
*Galektin-3 (ng/ml)	4,215	0,661	<0,001	0,527	0,105	0,609	1,736	0,152	0,467
GDF-15 (pg/ml)	0,042	0,502	0,011	-0,012	-0,189	0,355	0,009	0,113	0,590
Sindekan-1 (ng/ml)	0,938	0,531	0,006	0,201	0,099	0,632	1,587	0,257	0,215

B- nestandardizovani regresioni koeficijent, β -standardizovani regresioni koeficijent; $p<0,05$.

* Multivarijantni model prilagođen za: godine, BMI, sST2, galektin-3, GDF-15 i sindekan 1; Multivarijantna regresiona analiza (*backward* metoda): godine u HFpEF ($B=1,041$, $\beta=0,349$, **$p=0,025$**); sST2 u HFrEF ($B=3,237$, $\beta=0,632$, **$p=0,010$**); galektin-3: in HFpEF ($B=3,799$, $\beta=0,595$, **$p<0,001$**); IMLK: indeks mase leve komore.

Nasuprot dokazanim statistički značajnim korelacijama (pozitivnim i negativnim) između indeksa mase leve komore i biomarkera miokardnog remodelovanja u podgrupi pacijenata sa očuvanom ejeckionom frakcijom ($EF>50\%$), između koncentracije BNP u plazmi i indeksa mase leve komore u HFpEF podgrupi nije dokazana statistički značajna korelacija. Istovremeno, u podgrupi pacijenata sa redukovanom ejeckionom frakcijom ($<40\%$) dokazana je statistički značajna i nezavisna korelacija između indeksa mase leve komore i koncentracije BNP u plazmi ($B=1,049$, $\beta=0,594$, $p=0,002$). U trećoj kliničkoj podgrupi (HFmrEF), nije dokazana statistički značajna korelacija između ispitivanih parametara. Svi rezultati prikazani su u tabeli 25.

U tabeli 26 prikazani su rezultati linerane regresione analize i koeficijent regresije između kliničkih i laboratorijskih parametara i biomarkera u plazmi i dijametra leve pretkomore u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejeckionoj frakciji. Kao statistički

značajni faktori rizika za povećanje dijametra leve pretkomore (>40 mm) izdvojili su se koncentracija GDF-15 u plazmi ($B=-0,003$, $\beta=-0,385$, $p=0,042$) kod ispitanika sa $EF<50\%$ i BMI ($B=0,600$, $\beta=0,587$, $p=0,002$). U multivarijantni model u HFmrEF uključeni su BMI, koronarna bolest, sST2, galektin-3 (*enter metod*) i kao faktori rizika izdvojili su se: BMI ($B=0,500$, $\beta=0,490$, $p=0,009$); koronarna bolest ($B=-2,419$, $\beta=-0,237$, $p=0,171$); sST2 ($B=-0,117$, $\beta=-0,210$, $p=0,572$) i galektin-3 ($B=0,425$, $\beta=0,458$, $p=0,217$).

Tabela 26. Koeficijent regresije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i dijametra leve pretkomore u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejectionoj frakciji

Parametar	HFpEF			HFmrEF			HFrEF		
	B	β	p	B	β	p	B	β	p
*Godine	-0,034	-0,079	0,764	0,030	0,062	0,764	0,191	0,0302	0,142
Pol	-0,200	-0,018	0,929	0,831	0,081	0,693	-2,982	-0,223	0,284
BMI (kg/m ²)	-0,128	-0,102	0,621	0,600	0,587	0,002	-0,090	-0,055	0,795
Koronarna bolest	-1,044	-0,096	0,648	-3,568	-0,349	0,081	-2,436	-0,213	0,307
Hipertenzija (mmHg)	0,928	0,065	0,754	-	-	-	0,682	0,039	0,854
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	0,015	,0,206	0,314	-0,031	-0,128	0,532	0,085	0,359	0,078
eGFR (Cocroft-Gault)	-0,032	-0,201	0,324	0,055	0,318	0,113	-0,068	-0,323	0,115
eGFR (MDRD)	-0,053	-0,209	0,305	-0,002	-0,005	0,979	-0,119	-0,311	0,130
BNP (pg/ml)	0,006	0,243	0,231	0,019	0,109	0,595	0,108	0,353	0,083
sST2 (ng/ml)	-0,100	-0,227	0,264	0,194	0,349	0,081	0,367	0,316	0,124
Galektin-3 (ng/ml)	-0,241	-0,234	0,251	0,341	0,368	0,064	0,466	0,345	0,091
GDF-15 (pg/ml)	-0,003	-0,385	0,042	0,003	0,0261	0,199	0,005	0,282	0,171
Sindekan-1 (ng/ml)	-0,087	-0,159	0,439	0,119	0,315	0,117	0,095	0,255	0,218

B-nestandardizovani regresioni koeficijent, β -standardizovani regresioni koeficijent; $p<0,05$.

Tabela 27 prikazuje rezultat linearne regresione analize i koeficijent regresije između kliničkih i laboratorijskih parametara i biomarkera u plazmi i dijastolne disfunkcije ($E/A<1$) u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejectionoj frakciji. Kao statistički značajni faktori rizika za razvoj dijastolne disfunkcije izdvojili su se koncentracija GDF-15 u plazmi kod ispitanika sa redukovanom ejectionom frakcijom ($B=0,000$, $\beta=-0,435$, $p=0,026$), kao u podgrupi pacijenata sa očuvanom EF ($B=0,000$, $\beta=387$, $p=0,046$). Statistička značajnost faktora rizika za razvoj dijastolne disfunkcije dokazana je za muški pol kod ispitanika sa $EF<40\%$ ($B=-0,138$, $\beta=-0,442$, $p=0,027$) i povišena koncentracija kreatinina kod ispitanika sa graničnom EF ($B=0,005$, $\beta=0,543$, $p=0,004$).

U tabeli 28 prikazani su faktori rizika dobijeni metodom linerane regresije za pojavu miokardne ishemije u kliničkim podgrupama klasifikovanih prema ejectionoj frakciji. Kao statistički značajni izdvojili su se prisustvo koronarne bolesti (OR=42,50; 95%CI=3,159-571,818; p=0,005) kod ispitanika sa očuvanom ejectionom frakcijom. Kod pacijenata sa redukovanom ejectionom frakcijom koncentracije svih ispitivanih biomarkera miokardnog remodelovanja izdvojile su se kao značajni faktori rizika: sST2 (OR=0,765; 95%CI=0,569-1,028; p=0,046), galektin-3 (OR=0,797; 95%CI=0,638-0,997; p=0,047), GDF-15 (OR=0,998; 95%CI=0,996-1,001; p=0,023) i sindekan-1 (OR=0,938; 95%CI=0,880-0,999; p=0,048).

Tabela 27. Koeficijent regresije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i razvoja dijastolne disfunkcije u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejectionoj frakciji

Parametar	HFpEF			HFmrEF			HFrEF		
	B	β	p	B	β	p	B	β	p
*Godine	-0,001	-0,020	0,922	0,000	0,022	0,915	0,000	0,016	0,941
Pol	0,148	0,237	0,245	-0,161	-0,380	0,055	-0,138	-0,442	0,027
BMI (kg/m ²)	0,018	0,246	0,225	0,008	0,198	0,331	-0,003	-0,089	0,672
Koronarna bolest	0,066	0,109	0,605	-0,046	-0,108	0,598	0,044	0,166	0,428
Hipertenzija (mmHg)	0,093	0,113	0,582	-	-	-	-0,043	-0,105	0,617
Kreatinin (μ mol/l)	0,000	0,059	0,775	0,005	0,543	0,004	0,001	0,165	0,431
eGFR (Cocroft-Gault)	0,000	-0,025	0,903	-0,001	-0,097	0,637	0,000	-0,077	0,714
eGFR (MDRD)	-0,003	-0,196	0,338	-0,005	-0,302	0,134	0,000	0,045	0,832
BNP (pg/ml)	0,000	-0,202	0,322	0,000	0,048	0,817	0,000	0,041	0,846
sST2 (ng/ml)	-0,008	-0,303	0,132	-0,003	-0,129	0,530	0,007	0,273	0,186
Galektin-3 (ng/ml)	-0,019	-0,313	0,119	-0,009	-0,236	0,246	0,007	0,006	0,260
GDF-15 (pg/ml)	0,000	-0,435	0,026	-8,8889	-0,183	0,370	0,000	0,387	0,046
Sindekan-1 (ng/ml)	-0,007	-0,224	0,270	-0,003	-0,210	0,302	0,002	0,251	0,227

B-nestandardizovani regresioni koeficijent, β -standardizovani regresioni koeficijent; p<0,05.

Tabela 29 prikazuje faktore rizika za pojavu atrijalne fibrilacije dobijenih metodom linearne regresije. Dobijeni su sledeći statistički značajni faktori rizika za pojavu atrijalne fibrilacije, godine ispitanika, (OR=1,177; 95%CI=1,018-1,360; p=0,0027), visok BMI (OR=0,639; 95%CI=1,005-1,173; p=0,037), prisustvo koronarne bolesti (OR=0,057; 95%CI=0,006-0,585; p=0,016) i parametri bubrežne funkcije, visoka koncentracija kreatinina (OR=1,086; 95%CI=0,880-0,999; p=0,048) i jačina glomerulske filtracije računata Cocroft-Gault formulom (OR=0,876; 95%CI=0,775-0,990; p=0,033) i računata MDRD formulom (OR=0,882; 95%CI=0,788-0,988; p=0,030), ali samo u podgrupi ispitanika sa EF<40%. U

multivarijantni model u HFrEF uključeni su starost, BMI, koronarna bolest, kreatinin, eGFR, sST2 i galektin-3, ali bez statističke značajnosti.

Tabela 28. Koeficijent regresije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i pojave miokardne ishemije u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejectionoj frakciji

Parametar	HFpEF			HFmrEF			HFrEF		
	OR	95%CI	P	OR	95%CI	p	OR	95%CI	p
*Godine	1,012	0,933-1,099	0,771	1,041	0,953-1,137	0,374	0,941	0,856-1,035	0,213
Pol	0,714	0,099-5,178	0,739	0,778	0,133-4,536	0,780	0,727	0,115-4,585	0,735
BMI (kg/m ²)	1,266	0,958-1,674	0,098	0,914	0,763-1,094	0,326	1,078	0,850-1,367	0,538
Koronarna bolest	42,50	3,159-571,818	0,005	-	-	-	4,800	0,860-26,785	0,074
Hipertenzija	6,800	0,505-91,491	0,148	-	-	-	2,889	0,226-36,868	0,414
Kreatinin	1,011	0,980-1,043	0,477	1,016	0,971-1,063	0,506	0,975	0,935-1,017	0,236
eGFR (Cocroft)	1,003	0,974-1,033	0,826	0,975	0,942-1,010	0,163	1,019	0,987-1,052	0,257
eGFR (MDRD)	0,988	0,940-1,038	0,619	0,988	0,923-1,057	0,720	1,031	0,975-1,092	0,284
BNP	0,999	0,995-1,003	0,466	0,977	0,947-1,009	0,163	1,000	0,959-1,043	0,995
sST2	0,979	0,902-1,063	0,617	0,961	0,873-1,058	0,418	0,765	0,569-1,028	0,046
Galektin-3	0,973	0,804-1,179	0,782	0,960	0,817-1,129	0,624	0,797	0,638-0,997	0,047
GDF-15	1,000	0,999-1,001	0,929	0,999	0,997-1,001	0,596	0,998	0,996-1,001	0,023
Sindekan-1	0,981	0,883-1,090	0,722	0,975	0,912-1,043	0,462	0,938	0,880-0,999	0,048

OR-unakrsni odnos, 95%CI-95% interval poverenja.

Tabela 30 prikazuje koeficijent korelacije između kliničkih, laboratorijskih parametara i biomarkera u plazmi i pojave pauza u srčanom radu (>2 sekunde) u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema jačini ejectione frakcije. Kod pacijenata sa redukovanom ejectionom frakcijom koncentracije svih ispitivanih biomarkera miokardnog remodelovanja izdvojile su se kao značajni faktori rizika: sST2 (OR=1,654; 95%CI=1,012-2,701; p=0,045), galektin-3 (OR=0,1539; 95%CI=1,029-2,302; p=0,036), GDF-15 (OR=1,009; 95%CI=1,000-1,019; p=0,045) i sindekan-1 (OR=1,116; 95%CI=1,012-1,231; p=0,029). U multivarijantni model u HFrEF uključeni su starost, eGFR (Cocroft), sST2, galektin-3, GDF-15 i sindekan-1, bez statističke značajnosti.

Tabela 29. Koeficijent korelacije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i pojave atrijske fibrilacije u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejijskionoj frakciji

Parametar	HFpEF			HFmrEF			HFrEF		
	OR	95%CI	p	OR	95%CI	p	OR	95%CI	p
*Godine	1,077	0,983-1,179	0,112	1,138	0,989-1,308	0,070	1,177	1,018-1,360	0,027
Pol	1,167	0,166-8,186	0,877	2,133	0,274-16,60	0,469	0,857	0,124-5,944	0,876
BMI (kg/m ²)	1,115	0,875-1,420	0,378	1,079	0,881-1,322	0,460	0,639	0,428-0,953	0,028
Koronarna bolest	0,357	0,054-2,384	0,288	1,600	0,147-17,41	0,700	0,057	0,006-0,585	0,016
Hipertenzija (mmHg)	0,875	0,068-11,313	0,919	-			0,233	0,018-3,026	0,266
Kreatinin (μmol/l)	0,995	0,977-1,014	0,607	1,015	0,966-1,067	0,548	1,086	1,005-1,173	0,037
eGFR (Cocroft-Gault)	0,995	0,967-1,027	0,741	0,973	0,927-1,020	0,256	0,876	0,775-0,990	0,033
eGFR (MDRD)	0,998	0,954-1,045	0,942	0,940	0,859-1,028	0,175	0,882	0,788-0,988	0,030
BNP (pg/ml)	0,997	0,990-1,005	0,456	1,015	0,977-1,054	0,448	1,036	0,985-1,091	0,171
sST2 (ng/ml)	0,996	0,919-1,079	0,923	1,037	0,931-1,155	0,514	1,258	0,962-1,645	0,094
Galektin-3 (ng/ml)	0,983	0,814-1,187	0,862	1,124	0,924-1,368	0,241	1,199	0,971-1,481	0,092
GDF-15 (pg/ml)	1,000	0,99-1,001	0,852	1,001	0,998-1,003	1,002	0,99-1	0,189	
Sindekan-1 (ng/ml)	1,004	0,909-1,110	0,933	1,052	0,964-1,149	0,256	1,048	0,989-1,111	0,112

OR-unakrsni odnos, 95%CI-95% interval poverenja.

U multivarijantni model u HFrEF uključeni su starost, BMI, koronarna bolest, kreatinin, eGFR, sST2 i galektin-3, bez statističke značajnosti.

Tabela 30. Koeficijent korelacije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i pojava pauza u srčanom radu u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejijskionoj frakciji

Parametar	HFpEF			HFmrEF			HFrEF		
	OR	95%CI	p	OR	95%CI	p	OR	95%CI	p
*Godine	1,042	0,930-1,168	0,474	-			1,315	1,025-1,686	0,031
Pol	1,800	0,134-24,160	0,657	-			1,067	0,090-12,686	0,959
BMI (kg/m ²)	1,189	0,817-1,731	0,366				0,765	0,503-1,162	0,209
Koronarna bolest	0,588	0,044-7,914	0,689				0,303	0,027-3,407	0,334
Hipertenzija (mmHg)	-			-			0,316	0,021-4,660	0,401
Kreatinin (μmol/l)	0,994	0,963-1,027	0,734	-			1,035	0,989-1,082	0,137
eGFR (Cocroft-Gault)	1,000	0,959-1,042	0,995	-			0,929	0,862-1,001	0,053
eGFR (MDRD)	1,001	0,937-1,070	0,967	-			0,933	0,852-1,021	0,131
BNP (pg/ml)	0,995	0,981-1,010	0,550	-			1,117	0,944-1,322	0,198
sST2 (ng/ml)	0,945	0,828-1,079	0,406	-			1,654	1,012-2,701	0,045
Galektin-3 (ng/ml)	0,883	0,643-1,212	0,440	-			1,539	1,029-2,302	0,036
GDF-15 (pg/ml)	0,999	0,997-1,002	0,651	-			1,009	1,000-1,019	0,045
Sindekan-1 (ng/ml)	0,997	0,865-1,50	0,970	-			1,116	1,012-1,231	0,029

OR-unakrsni odnos, 95%CI-95% interval poverenja.

U tabeli 31 prikazani su rezultati linearne regresije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i pojava bradikardije u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejectionoj frakciji. U sve tri podgrupe ispitanika nisu dokazani značajni faktori rizika za pojavu bradikardije, <35/ minut.

Tabela 31. Koeficijent korelacije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i pojava bradikardije u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejectionoj frakciji

Parametar	HFpEF			HFmrEF			HFrEF		
	OR	95%CI	p	OR	95%CI	p	OR	95%CI	p
*Godine	0,961	0,888-1,041	0,332	1,094	0,991-1,207	0,075	1,089	0,983-1,207	0,102
Pol	0,750	0,110-5,109	0,769	1,286	0,220-7,499	0,780	0,556	0,081-3,795	0,549
BMI (kg/m ²)	0,973	0,783-1,209	0,806	1,067	0,894-1,274	0,471	1,007	0,802-1,264	0,954
Koronarna bolest	0,583	0,092-3,717	0,568	1,818	0,279-11,86	0,532	0,208	0,037-1,163	0,074
Hipertenzija (mmHg)	-			-			1,667	0,131-21,19	0,694
Kreatinin (μmol/l)	1,015	0,988-1,043	0,276	1,013	0,971-1,057	0,539	1,007	0,974-1,041	0,677
eGFR (Cocroft-Gault)	0,994	0,967-1,022	0,685	0,973	0,936-1,011	0,157	0,982	0,951-1,014	0,265
eGFR (MDRD)	0,987	0,945-1,031	0,558	0,958	0,892-1,029	0,238	0,971	0,918-1,027	0,308
BNP (pg/ml)	0,998	0,993-1,004	0,550	1,003	0,974-1,034	0,828	1,021	0,977-1,067	0,356
sST2 (ng/ml)	0,979	0,906-1,057	0,588	0,992	0,899-1,094	0,866	1,024	0,873-1,203	0,768
Galektin-3 (ng/ml)	0,936	0,779-1,125	0,483	1,075	0,912-1,266	0,390	1,101	0,909-1,334	0,326
GDF-15 (pg/ml)	1,000	0,998-1,001	0,607	0,999	0,997-1,002	0,526	1,002	0,999-1,005	0,115
Sindekan-1 (ng/ml)	1,007	0,916-1,107	0,885	1,021	0,955-1,091	0,547	1,026	0,973-1,082	0,351

OR-unakrsni odnos, 95%CI-95% interval poverenja.

Pirsonova korelaciona analiza između ehokardiografskih parametara i koncentracija ispitivanih biomarkera prikazana je u tabeli 32. Analizirane su sledeće varijable: ejectiona frakcija, E/A, EDD, ESD i dijometri septuma, zadnjeg zida i leve pretkomore. U kliničkoj podgrupi ispitanika sa očuvanom ejectionom frakcijom (HFpEF) dokumentovana je značajna i pozitivna korelacija između biomarkera miokardnog remodelovanja i dimenzija zadnjeg zida i septuma. Značajne pozitivne korelacije između debljine septuma leve komore i biomarkera miokardnog remodelovanja bile su: sST2 ($r=0,466$, $p=0,019$), galektin-3 ($r=0,501$, $p=0,011$), GDF-15 ($r=0,524$, $p=0,007$) i sindekan-1 ($r=0,548$, $p=0,005$); i između debljine zadnjeg zida leve komore i biomarkera: sST2 ($r=0,446$, $p=0,026$), galektin-3 ($r=0,513$, $p=0,009$), GDF-15 ($r=0,603$, $p=0,001$) i sindekan-1 ($r=0,595$, $p=0,002$). Istovremeno, koncentracija BNP u plazmi, u istoj podgrupi ispitanika, pozitivno je korelirala sa debljinom septuma, zadnjeg zida i leve pretkomore, ali bez statističke značajnosti. Analizom vrednosti ehokardiografskih parametara i koncentracija biomarkera u podgrupi pacijenata sa

redukovanom ejakcionom frakcijom (HFrEF) dobijeni su sledeći rezultati: između koncentracije BNP u plazmi i EF dokazana je snažna i negativna korelacija sa vrednostima ejakcione frakcije ($r=-0,606$, $p=0,001$) i snažna i pozitivna korelacija sa vrednostima end-dijastolne, EDD ($r=0,522$, $p=0,007$) i end-sistolne dimenzije, ESD ($r=0,447$, $p=0,025$). Zaključno, koncentracija u plazmi biomarkera GDF-15 negativno je korelirala sa vrednostima dijastolne disfunkcije, E/A, u obe podgrupe pacijanata sa srčanom slabošću (HFpEF i HFrEF), ($r=-0,387$, $p=0,046$) za podgrupu EF<50% i ($r=-0,449$, $p=0,024$) za pacijente sa EF<40%.

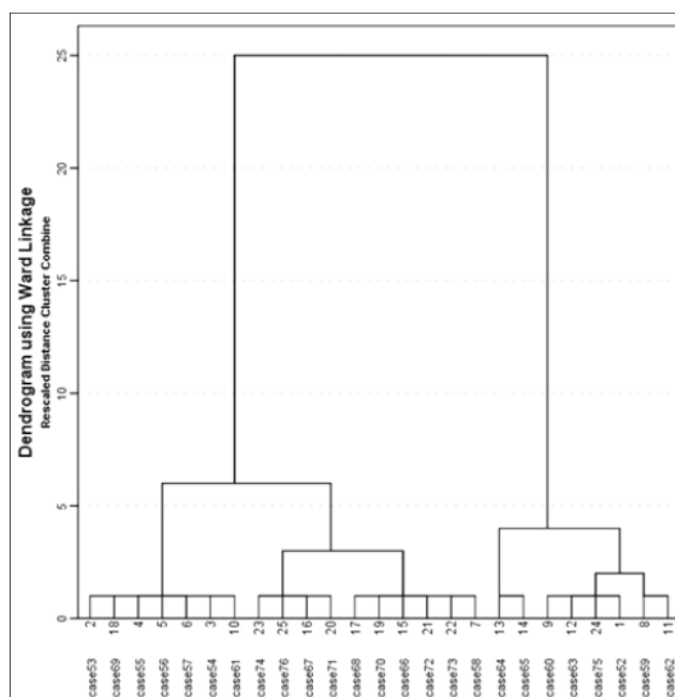
Tabela 32. Koeficijent korelacije između ehokardiografskih parametara i koncentracija biomarkera u plazmi prema kategoriji ejakcione frakcije

EF/biomarkeri	BNP (pg/ml)		sST2 (ng/ml)		Gal-3 (ng/ml)		GDF-15 (pg/ml)		Sin-1 (ng/ml)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
HFpEF										
EF (%)	-0,067	0,752	0,003	0,989	0,090	0,68	0,158	0,450	0,255	0,219
E/A	0,041	0,846	0,273	0,186	0,234	0,260	-0,387*	0,046	0,251	0,227
EDD (mm)	-0,155	0,460	0,093	0,658	0,210	0,313	-0,063	0,764	-0,039	0,854
ESD (mm)	0,003	0,987	0,198	0,343	0,206	0,323	0,101	0,631	0,047	0,824
Septum (mm)	0,361	0,076	0,466*	0,019	0,501*	0,011	0,524**	0,007	0,548**	0,005
Zadnji zid (mm)	0,393	0,052	0,446*	0,026	0,513**	0,009	0,603**	0,001	0,595**	0,002
LA (mm)	0,353	0,083	0,316	0,124	0,345	0,091	0,282	0,171	0,255	0,218
HFmrEF										
EF (%)	-0,267	0,187	-0,012	0,953	0,152	0,459	0,037	0,858	0,160	0,436
E/A	0,048	0,817	-0,129	0,530	-0,236	0,246	-0,183	0,370	-0,210	0,302
EDD (mm)	-0,025	0,905	0,010	0,962	-0,025	0,904	-0,046	0,822	0,040	0,847
ESD (mm)	0,068	0,741	0,055	0,791	-0,005	0,982	0,007	0,974	0,002	0,993
Septum (mm)	0,054	0,795	-0,001	0,995	0,095	0,646	-0,062	0,764	0,023	0,912
Zadnji zid (mm)	0,189	0,355	0,078	0,703	0,211	0,301	<0,001	0,999	0,109	0,596
LP (mm)	0,109	0,595	0,349	0,081	0,368	0,064	0,261	0,199	0,315	0,117
HFrEF										
EF (%)	-0,606	0,001	-0,135	0,519	-0,172	0,412	0,088	0,676	0,025	0,905
E/A	-0,202	0,334	-0,332	0,105	-0,322	0,116	-,449*	0,024	-0,239	0,250
EDD (mm)	0,522**	0,007	0,185	0,376	0,078	0,709	-0,021	0,922	0,284	0,169
ESD (mm)	0,447*	0,025	0,064	0,763	-0,013	0,949	-0,076	0,718	0,044	0,835
Septum (mm)	0,320	0,119	0,077	0,715	-0,077	0,715	-0,059	0,780	0,239	0,250
Zadnji zid (mm)	0,280	0,176	0,093	0,658	-0,016	0,938	-0,001	0,996	0,175	0,402
LP (mm)	0,194	0,352	-0,101	0,630	-0,178	0,395	-0,335	0,101	-0,058	0,782

r-korelacioni koeficijent; * $p<0,05$, ** $p<0,01$

U podgrupi pacijenata sa graničnom ejekcionom frakcijom (HFmrEF) nije dokazana statistički značajna korelacija između biomarkera miokardnog remodelovanja i ispitivanih ehokardiografskih parametara. Svi analizirani rezultati prikazani su u tabeli 32.

U tabeli 33 prikazane su srednje vrednosti koncentracija biomarkera miokardnog remodelovanja i BNP kod pacijenata sa očuvanom ejekcionom frakcijom klasifikovanih metodom aglomerativne hijerarhijske klasifikacije (AHK). Pacijenti sa očuvanom ejekcionom frakcijom (HFpEF) označeni su kao klinička grupa, a na osnovu vrednosti koncentracija ispitivanih biomarkera miokardnog remodelovanja (sST2, galektin-3, GDF-15, sindekan-1) uvedenih u dendrogram aglomerativne hijerarhijske klasifikacije podeljeni su na dve podgrupe (klasteri). Dendrogram ove analize prikazan je na grafikonu 4. Prvu podgrupu ispitanika (klaster) činili su pacijenti koji su imali značajno više koncentracije biomarkera miokardnog remodelovanja, što je označeno kao “remodelovani klaster”. Drugu podgrupu ispitanika činili su pacijenti koji su imali statistički značajno niže koncentracije biomarkera u plazmi, pri čemu je ova grupa označena kao “neremodelovani klaster”.



Grafik 4. Dendrogram klaster analize prema koncentracijama biomarkera miokardnog remodelovanja kod pacijenata sa očuvanom ejekcionom frakcijom

Pacijenti sa očuvanom ejakcionom frakcijom nalazili su se u rasponu od 46 do 80 godina, starosti $63,53 \pm 9,25$ godina u rasponu od 46 do 80 godina. Poređenjem koncentracija ispitivanih biomarkera miokardnog remodelovanja uočene su statistički značajne razlike između svih biomarkera (sST2, galektin-3, GDF-15 i sindekan-1), $p < 0,001$. Istovremeno, koncentracija BNP u plazmi nije se razlikovala između ispitanika novoformirane kliničke grupe, te nije korišćena za formiranje podgrupa (klastera). Rezultati su prikazani u tabeli 33.

Tabela 33. Koncentracije biomarkera miokardnog remodelovanja kod pacijenata sa očuvanom EF klasifikovanih metodom aglomerativne hijerarhijske klasifikacije

Biomarker	Remodelovani klaster	Neremodelovani klaster	p¹
BNP (pg/ml)	$96,73 \pm 17,67$	$88,93 \pm 19,67$	0,628
sST2 (ng/ml)	$30,16 \pm 5,87$	$22,36 \pm 1,4$	<0,001
Galektin-3 (ng/ml)	$27,33 \pm 1,84$	$19,26 \pm 2,1$	<0,001
GDF-15 (pg/ml)	$1794,62 \pm 145,53$	$1274,2 \pm 254$	<0,001
Sindekan-1 (ng/ml)	$72,7 \pm 12,08$	$46,98 \pm 8,75$	<0,001

¹Mann-Whitney

Srednja vrednost godina pacijenata u podgrupi nazvanoj “remodelovani” klaster bila je $65,88 \pm 11,22$, a pacijenata u drugoj podgrupi (“neremodelovani” klaster) iznosila je $62,47 \pm 8,33$. Prvu podgrupu pacijenata činili su predominantno ispitanici muškog pola, (87,5%), dok su drugu podgrupu takođe činili muškarci u većem procentu u poređenju sa ženskim polom (70,6%), ali bez statističke značajnosti ($p=0,673$), rezultati su prikazani u tabeli 34.

Poređenjem etioloških faktora za nastanak srčane insuficijencije u obe podgrupe ispitanika pokazano je da postoji statistički značajna razlika u postojanju pozitivne anamneze prethodnog infarkta miokarda kod pacijenata u podgrupi remodelovanog klastera ($p=0,047$), naročito sa ST-elevacijom ($p=0,046$), (tabela 34). Nije nađena statistički značajna razlika poređenjem ostalih varijabli: demografskih karakteristika, NYHA klasifikacije, hemodinamskih pokazatelja i primenjene farmakološke terapije.

Tabela 34. Osnovne demografske i kliničke karakteristike pacijenata sa očuvanom ejakcionom frakcijom klasifikovanih prema klaster klasifikaciji

Parametar	Remodelovani klaster	Neremodelovani klaster	p
Klinički parametri			
Starost (godine)	65,88±11,22	62,47±8,33	0,461 ²
Muškarci, (%)	87,5	70,6	0,673 ¹
Žene, (%)	12,5	29,4	0,673 ¹
BMI (kg/m ²)	26,28±2,28	28,50±3,85	0,280 ²
Etiologija srčane slabosti, (%)			
Koronarna bolest	52,9	37,5	0,770 ¹
Kardiomiopatija	70,6	75,0	1,000 ¹
Infarkt miokarda	70,6	25,0	0,047¹
STEMI	52,9	12,5	0,045¹
NSTEMI	17,6	12,5	
Valvularna bolest	62,5	29,5	0,255 ¹
NYHA klasa, (%)			
I	75,0	88,2	
II	25,0	11,8	0,797 ¹
III/IV	0	0	-
Kliničke karakteristike, (%)			
Arterijska hipertenzija	87,5	88,2	>0,999 ¹
Pušenje	37,5	58,8	0,571 ¹
Hiperholesterolemija	100,0	100,0	-
Porodično opterećenje	62,5	76,5	0,804
Šećerna bolest	37,5	41,2	>0,999 ¹
Gojaznost	37,5	76,5	0,148 ¹
Anemija	12,5	5,9	>0,999 ¹
Anksioznost/depresija	0	23,5	0,269 ⁴
Hemodinamika (mm/Hg)			
Sistolni pritisak	132,50±25,49	129,41±51,50	0,996 ³
Dijastolni pritisak	75,63±7,29	80,88±7,95	0,334 ²
Srednji arterijski pritisak	94,63±13,28	96,94±11,99	0,651 ²
Pulsni pritisak	56,88±18,69	48,53±15,39	0,813 ³
Terapija, (%)			
ARBs	0,0	5,9	>0,999 ⁴
Amiodaron	12,5	29,4	0,624 ¹
ACE inhibitori	87,5	76,5	0,915 ¹
β-blokatori	100,0	94,1	>0,999 ⁴
Blokatori kalcijumovih kanala	25,0	41,2	0,734 ¹
Spirinolakton	12,5	29,4	0,673 ¹
Diuretici	75	58,5	0,734 ¹

Srednja vrednost±SD; ¹Hi-kvadratni test, ²t-test, ³Mann-Whitney test, ⁴Fišerov test.

Poređenjem hematološko-biohemijskih parametara, statistički značajne razlike pronađene su u broju eritrocita (p=0,037) i vrednosti hematokrita (p=0,046). Nije nađena statistički značajna razlika u ostalim ispitivanim parametrima između ispitanika obe podgrupe, prikazano u tabeli 35. U tabeli 36 prikazani su ehokardiografski parametri ispitanika, pri

čemu su statistički značajne razlike pronađene između sledećih varijabli: indeksa mase leve komore ($p < 0,001$), mase leve komore ($p = 0,001$), debljine interventrikularnog septuma ($p = 0,027$) i zadnjeg zida ($p = 0,003$). Vrednosti svih parametara sa statističkom značajnošću bile su više kod ispitanika u pogrupi označenoj kao “remodelovani klaster”, tabela 36. Tabela 37 prikazuje rezultate 24h-EKG monitoringa ispitanika dva klastera. Prevalencija atrijalne fibrilacije je bila viša u podgrupi ispitanika “remodelovanog klastera” (62,5%) u poređenju sa “neremodelovanim klasterom” (23,5%), ali bez statističke značajnosti ($p = 0,087$). Istovremeno, statistička značajnost je dokazana u postojanju verifikovanih interedijarnih pauza u trajanju dužem od $>2,0$ sekunde ($p < 0,006$), jer je više od 50% ispitanika podgrupe remodelovanog klastera imalo verifikovane pauze >2 sekunde.

Tabela 35. Osnovni hematološko-biohemijski parametri pacijenata sa očuvanom ejakcionom frakcijom prema klaster klasifikaciji

Parametar	Remodelovani klaster	Neremodelovani klaster	p
Eritrociti ($10^{12}/l$)	4,43±0,74	4,92±0,41	0,037²
Leukociti ($10^9/l$)	7,14±1,64	15,46±33,19	0,754 ¹
Trombociti ($10^3/mm^3$)	180,90±107,58	235,29±52,78	0,215 ¹
Hemoglobin (g/l)	130,13±14,88	138,94±8,74	0,140 ²
Hematokrit (%)	0,39±0,04	0,41±0,02	0,046²
CRP (mg/dl)	1,00±0,67	0,71±2,91	0,842 ¹
Sedimentacija eritrocita	15,88±8,54	18,35±8,27	0,549 ¹
Kreatinin ($\mu mol/l$)	112,82±35,40	92,86±14,89	0,175 ¹
Ureja (mmol/l)	7,11±2,01	5,76±1,37	0,097 ¹
Mokraćna kiselina (mmol/l)	340,89±76,95	296,03±73,03	0,262 ¹
Glikemija (mmol/L)	6,08±1,93	6,75±2,26	0,440 ¹
HbA1c (%)	7,94±0,65	9,67±0,90	0,500 ¹
Ukupni holesterol (mmol/l)	4,77±1,69	4,57±1,54	0,588 ¹
Trigliceridi (mmol/l)	1,54±0,84	1,47±0,79	0,798 ¹
LDL (mmol/l)	3,26±1,18	2,85±1,27	0,238 ¹
HDL (mmol/l)	0,96±0,13	1,07±0,28	0,406 ¹
LDL/HDL	3,35±1,02	2,68±1,00	0,110 ¹
TC/HDL	4,87±1,42	4,33±1,18	0,406 ¹
TG/HDL	1,58±0,79	1,42±0,89	0,588 ¹
eGFR ($ml/min/1,73m^2$)	59,47±17,70	67,94±13,76	0,157 ¹
BNP (pg/ml)	96,73±17,67	88,93±19,67	0,628 ¹

Srednja vrednost±SD, ¹Mann-Whitney test, ²t-test,

Tabela 36. Osnovni ehokardiografski parametri pacijenata sa očuvanom ejeccionom frakcijom prema klaster klasifikaciji

Parametar	Remodelovani klaster	Neremodelovani klaster	p
Leva komora			
Ejekciona frakcija (%)	54,38±4,17	53,29±3,55	0,539 ¹
Indeks mase LK (gr/m ²)	142,88±19,48	101,71±19,94	<0,001 ¹
Masa LK (gr)	276±38,25	207,65±41,34	0,001 ¹
IV septum (mm)	13,19±1,85	11,44±1,20	0,027 ²
Zadnji zid (mm)	11,38±0,52	10,09±1,00	0,003 ¹
End-sistolna dimenzija (mm)	36,38±3,20	35,12±3,10	0,315 ¹
End-dijastolna dimenzija (mm)	54,13±3,23	51,47±5,22	0,238 ¹
Aortni koren (mm)	36,12±3,09	33,65±5,48	0,164 ¹
Aortna regurgitacija	0,63±0,74	0,18±0,53	0,157 ²
Mitralna regurgitacija	1,25±0,89	1,18±0,88	0,842 ²
Leva pretkomora (mm)	45,88±7,62	41,06±4,20	0,129 ¹
E/A	0,8±0,17	0,74±0,12	0,344 ²
Desna komora (mm)			
Trikuspidna regurgitacija	1,13±0,64	1,24±0,66	0,842 ²
TAPSE (mm)	21,43±4,16	23,15±4,06	0,344 ²
Sistolni pritisak DK (mm/Hg)	28,75±5,42	34,12±11,91	0,238 ²

Srednja vrednost±SD, ¹t-test; ²Mann-Whitney

Tabela 37. Osnovni parametri 24h-EKG monitoringa pacijenata sa očuvanom ejeccionom frakcijom prema klaster klasifikaciji

Parametar	Remodelovani klaster	Neremodelovani klaster	p
Atrijalna fibrilacija, (%)	62,5	23,5	0,087
Srčana frekvencija (bpm)	63,50±9,88	67,65±9,40	0,406 ²
Maksimalna srčana frekvencija	99,13±20,64	106,76±15,41	0,194 ²
Minimalna srčana frekvencija	50,00±5,56	49,29±9,82	0,977 ²
Pauze, (%)	50,0	0	0,006 ³
Pauze (>2,5 sekunde)	12,5	0	0,320 ³
Pauze (2,0-2,5 sekunde)	12,5	0	0,320 ³
Bradikardija, (%)			
Bradikardija<35/min	37,5	17,6	0,417
Bradikardija>35/min	25,0	17,6	
Atrioventrikularni blok, (%)	12,5	0	0,320 ³
Sinoatrijalni blok, (%)	100,0	100,0	-
Supraventrikularne aritmije, (%)	50,0	82,4	0,156 ³
Ventrikularne aritmije, (%)	100,0	100,0	-
ST-depresija, (%)	37,5	11,8	0,335 ¹
Lown klasifikacija, (%)			
I	25,0	52,9	
II	62,5	17,6	0,150 ¹
III	12,5	23,5	
IV	0	5,9	
HRV (bpm)	93,22±49,26	124,45±42,99	0,261 ²

¹Hi-kvadrat test, ²Mann-Whitney test, ³Fišer's test; bpm; broj otkucaja na minut, HRV; varijabilnost srčane frekvencije.

6.0. Diskusija

6.1. Kliničko-biohemijski profil pacijenata sa srčanom insuficijencijom klasifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije

Srčana slabost je prema aktuelnom Evropskom vodiču za lečenje i tretman srčane slabosti (2016) po prvi put zvanično podeljena na tri podtipa i to na: srčanu slabost sa redukovanom ejeckionom frakcijom (EF<40%), graničnom (EF 40-49%) i očuvanom ejeckionom frakcijom, EF>50%. Entitet „granična“ ejeckiona frakcija po prvi put je definisan 2013. godine u smernicama American College of Cardiology/American Heart Association, a ovaj tip „granične“ srčane slabosti opisan je kao prisustvo tipičnih simptoma i znakova srčane slabosti, uz postojanje ejeckione frakcije leve komore od 41% do 49%. Na ovaj način je, po prvi put u kliničku praksu, uvedena kao zvanična i priznata kategorija, srčana slabost sa EF između 40 i 49%, što je omogućilo pacijentima iz tzv. "sive zone" da budu uključeni u prospektivne studije i studije preseka kao posebna grupa pacijenata. To je omogućilo da se srčana slabost sa graničnom ejeckionom frakcijom definiše patofiziološki i biohemijski i da se za ove pacijente standardizuju terapijski protokoli, stratifikuju faktori rizika i definiše stopa preživljavanja. Zahvaljujući novoj klasifikaciji, ovim pacijentima je omogućeno sagledavanje i korelacija sa ostalim obolelim od srčane insuficijencije, u kontekstu kliničke slike, biohemijskog profila, patofizioloških mehanizama i prognoze. Dodatni benefit jeste i da se na osnovu rezultata studija definiše svrsishodnost ovakve podele, odnosno da li je srčana slabost sa graničnom ejeckionom frakcijom poseban kliničko-patofiziološko-biohemijski entitet ili se radi samo o prelaznoj formi, odnosno tranziciji srčane slabosti sa očuvanom u redukovanu ejeckionu frakciju. Na osnovu rezultata naše studije mogu se izvesti relevantni zaključci o podipovima srčane slabosti, njihovim biohemijskim profilima, faktorima rizika i vezi sa određenim ehokardiografskim i elektrokardiogramskim parametrima.

Prve pretpostavke da pacijenti sa EF 40-49% predstavljaju posebnu kliničku podgrupu proizašle su iz rezultata dve studije: Organized Program to Initiate Lifesaving

Treatment in Hospitalized Patients with Heart Failure, OPTIMIZE-HF [166] i Acute Decompensated Heart Failure Registry, ADHERE [167] u kojima su se po prvi put analizirale kliničke karakteristike, terapijski protokoli i ishodi pacijenata sa “umereno” redukovanom EF, zaključujući da se ovi pacijenti prema analiziranim varijablama, značajno razlikuju od pacijenata sa redukovanom i očuvanom EF.

Jedna od prvih velikih prospektivnih studija, sa 3480 pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću, podeljenih prema najnovijim preporukama [1], donela je nekoliko klinički relevantnih zaključaka. Dokazano je da se HFmrEF, prema svojim kliničkim karakteristikama i prognostičkim faktorima, nalazi između HFrEF i HFpEF; odnosno da HFmRF poseduje intermedijarni prognostički profil i predstavlja zaseban klinički entitet. Zaključeno je, takođe, da kod ovih pacijenata postoji značajna promena u jačini EF, tačnije verifikovana je tranzicija iz HFmrEF u HFrEF i to naročito unutar prve godine od registracije pacijenata. Sa druge strane, jačina EF u podgrupi pacijenata sa očuvanom EF, u najvećem broju slučajeva ostajala je nepromenjena, odnosno nije padala ispod 50%. Pomenuta studija je dokazala i da je prognoza HFmrEF slična onoj kod HFpEF, dok je prognostički efekat kardiovaskularne terapije bio sličniji u HFmrEF i HFrEF. Konačno, pacijenti sa HFmrEF imali su lošu prognozu, ali samo u slučajevima tranzicije iz HFmrEF u HFrEF [168].

Sveukupno, prema većini autora, prevalencija HFmrEF iznosi 17,1%, a HFpEF 61,9% i 21% za HFrEF. Rezultate naše studije o prevalenciji podtipova srčane slabosti prema EF ne možemo da tumačimo u kontekstu rezultata pomenute studije, jer smo od ukupnog broja pacijenata sa srčanom slabošću, koje su ispunjavali inkluzione kriterijume, formirali homogene podgrupe pacijenata, pri čemu je procenat svih tipova srčane slabosti bio izjednačen (26%). Iz tih razloga, procenat obolelih u svakoj podgrupi nije objektivan epidemiološki pokazatelj, već samo oslikava dizajn studije. Rezultati najvećeg broja studija pokazuju da se HFmrEF nalazi u opsegu između 13% i 24% [168], ali ima i autora koji smatraju da petina svih obolelih od srčane slabosti ima EF 40-49% [38, 169, 170], pri čemu 10% novodijagnostikovanih pripada ovoj kategoriji [38]. Analizom trenda prevalencije srčane insuficijencije, dobijeni su podaci da je prevalencija obolevanja od srčane slabosti sa graničnom EF relativno stabilna (između 13 i 15%), dok je trend obolevanja od srčane slabosti sa redukovanom EF u opadanju (sa 52 na 47%), a HFpEF u porastu (33 na 39%) [171]. Rezultati studija: The Candesartan in Heart Failure: Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity, CHARM, Cardiovascular Heart Study i Kineske studije, bili su gotovo istovetni, a to je da 17% pacijenata sa srčanom slabošću ima jačinu EF između 43% i 52% [172-174].

Precizan patofiziološki, a samim tim i biohemijski, profil pacijenata sa graničnom ejectionom frakcijom još uvek nije striktno definisan. Patogenetski mehanizmi verovatno odgovaraju onima opisanim kod pacijenata sa redukovanom EF, s obzirom na to da je kao glavni etiološki faktor za nastanak ovog tipa srčane slabosti navedena hronična ishemija miokarda, prisutna kod 40% obolelih [175]. Ova hipoteza o redukovanoj i graničnoj ejectionoj frakciji kao etiopatogenetski sličnim fenomenima može se primeniti i na naš model, jer je kao glavni etiološki faktor u našoj podgrupi pacijenata navedena ishemijska bolest srca (73,1%), što se nije statistički značajno razlikovalo od HFrEF, gde je ishemijska bolest verivikovana kod 79,3% pacijenata. U poređenju sa njima, kod manje od polovina ispitanika (46,2%), stratifikovanih kao HFpEF ishemijska bolest srca bila je navedena kao glavni etiološki faktor za nastanak srčane insuficijencije. Patofiziološki posmatrano, može biti da pacijenti sa graničnom EF predstavljaju podtip srčane insuficijencije sa očuvanom EF i koronarnom bolešću i samim tim se nalaze u ranoj fazi HFrEF. Istovremeno, može se pretpostaviti da HFmrEF čine pacijenti kod kojih postoji limitirano polje infarkcije ili su u pitanju revaskularizacija miokarda, patološko remodelovanje leve komore, miokarditis ili kardiomiopatija u remisiji ili se nalaze u inicijalnoj fazi bolesti [40].

Ukoliko se pođe od pretpostavke da je HFmrEF preklapajući fenotip sistolne i dijastolne insuficijencije [176], može se postaviti hipoteza o postojanju generalizovane endotelne disfunkcije, kao patofiziološkoj osnovi za dijastolnu disfunkciju, dok bi osnovno kardiovaskularno oboljenje predstavljalo osnovu za nastanak sistolne i/ili dijastolne insuficijencije [40, 177]. Takođe se može poći od pretpostavke da su pridružene bolesti osnova za razvoj sistemske inflamacije, koja je osnovni patogenetski mehanizam u razvoju dijastolne slabosti. Zna se da sistemska inflamacija podrazumeva postojanje mikrovaskularne endotelne disfunkcije, a samim tim i razvoj i progresiju kardiomiocitne hipertrofije i fibroze [19]. Sa ciljem individualizacije terapijskog pristupa, predloženo je da su osnovne patofiziološke lezije u HFmrEF endotelna disfunkcija i sistemska inflamacija, te bi njihovo farmakološko “targetiranje” potencijalno imalo benefita u smanjenju stope morbiditeta u ovom specifičnom podtipu srčane slabosti.

Na osnovu definisanja i analize centralnih patofizioloških fenomena u HFmrEF, mogu se izvesti relevantni zaključci o biohemijskom profilu pacijenata. Merenjem biomarkera iz različitih patofizioloških kategorija (oksidativni stres, inflamacija, miokardno istezanje) dokazano je da HFmrEF pacijenti imaju “graničan” biohemijski profil, između inflamacije i miokardnog istezanja [178]. Naši rezultati su u skladu sa većinom publikovanih, jer je i na modelu naših ispitanika sa HFmrEF dokazan nezavisan intermedijerni biohemijski

profil, odnosno ovi ispitanici imali su srednje vrednosti svih ispitivanih biomarkera (BNP i biomarkeri miokardnog remodelovanja). U velikim studijama, ispitivan je prediktivni potencijal brojnih biomarkera u sva tri tipa srčane slabosti. Dokazano je da su markeri inflamacije i miokardnog remodelovanja značajni kao faktori rizika za neželjene kardiovaskularne događaje za pacijente sa HFmrEF i HFpEF, ali ne i za HFrEF. Natriuretski peptidi, cistatin C i visokosenzitivni troponin verifikovani su kao značajni faktori rizika kod pacijenata sa HFmrEF, za period praćenja od 12 godina [179], dok su druge studije dokazale superiornost natriuretskih peptida za praćenje pacijena sa HFrEF, ali se njihov prediktivni potencijal nije značajno razlikovao u podgrupama ispitanika sa HFmrEF i HFpEF. Dodatno je dokazano da se natriuretski peptidi (NT-proBNP) ipak mogu koristiti kod pacijenata sa HFmrEF, jer je dokazana pozitivna korelacija između niskih koncentracija NT-proBNP i smanjenja stope hospitalizacija ili smrti bilo kog uzroka [179]. Naši rezultati ne mogu se tumačiti u kontekstu pomenutih, jer metodom logističke regresije nismo analizirali prediktivni potencijal ispitivanih biomarkera prema stepenu ejskione frakcije. Uzorak pacijenata je nakon randomizacije (n=77) bio nedovoljan za realizaciju pomenute metode, ujedno predstavlja glavni limitirajući faktor naše studije. Iz tih razloga urađena je metoda logističke regresije čitavog uzorka. Za dodatno potvrđivanje prognostičkog karaktera u odnosu na stratifikaciju pacijenata prema stepenu EF, neophodno je sprovođenje dodatnog istraživanja i inkluzija većeg broja ispitanika.

Analizom dostupnih literaturnih podataka o demografskim i kliničkim karakteristikama prema tipu srčane insuficijencije, HFmrEF pokazuje intermedijerni profil, koji diskretno naginje ka onome u HFpEF. Verifikovano je da su ovi pacijenti predominantno ženskog pola i da je osnovni etiološki faktor za nastanak srčane slabosti arterijska hipertenzija i/ili atrijska fibrilacija [169]. Postoje i autori koji tvrde da je u ovoj podgrupi dominantan muški pol i mlađi pacijenti u poređenju sa HFpEF [180]. Istovremeno, koronarna bolest je učestalija u poređenju sa HFpEF [42], a dokazano je i da ovi pacijenti pokazuju veći rizik za razvoj ishemijske bolesti srca u odnosu na ispitanike sa EF>50% [42]. Analogno ovim podacima, pacijenti sa HFmrEF imaju značajno veću učestalost infarkta miokarda i/ili revaskularizacija, u poređenju sa HFpEF [51]. Ovi podaci u skladu su sa našim rezultatima što se tiče prevalencije ishemijske bolesti srca, ali na našem uzorku nije utvrđena statistički značajna razlika u analiziranim demografskim podacima (pol i godine ispitanika) između tri podtipa srčane slabosti. Istovremeno, nije postojala značajna razlika u prevalenciji ostalih analiziranih etioloških faktora (kardiomiopatije ili valvularne bolesti), kao ni u prevalenciji infarkta miokarda. Pacijenti stratifikovani prema jačini EF statistički značajno su

se razlikovali prema NYHA funkcionalnoj klasifikaciji, u smislu da je najveći procenat HFpEF pacijenata pripadao NYHA I (84,6%) i NYHA II (15,4%), dok su HFmrEF bili najviše pripadali NYHA II klasi (62,9%) i HFrEF NYHA III/IV (72%).

Procenat HFmrEF pacijenata sa atrijalnom fibrilacijom, prema literaturnim podacima, iznosi nešto više od polovine obolelih (60%) i nalazi se između HFrEF (53%) i HFpEF (65%), dok su dimenzije levog srca kod HFmrEF značajno manje u poređenju sa istim parametrima u HFrEF [38, 181]. Procenom komorbiditeta dokazano je da su pacijenti sa HFmrEF demonstrirali sličnosti sa HFpEF u kontekstu postojanja bubrežne i šećerne bolesti, arterijske hipertenzije i fibrilacije pretkomora i da su bili mnogo češći u poređenju sa istim pridruženim stanjima kod HFrEF [180]. Na našem uzorku nije dokazana statistički značajna razlika između komorbiditeta ili štetnih navika (šećerna bolest, gojaznost i hiperlipidemija, pušenje, anemija i depresija), ali je postojala značajna razlika u prevalenciji hiperlipidemije, koja je bila najučestalija u HFpEF (100%) i HFmrEF (96,2%) i što je bilo značajno različito od HFrEF (68%). Prisustvo arterijske hipertenzije značajno se razlikovalo između HFmrEF (100%), u poređenju sa HFrEF (88%) i HFpEF (88,2). Komparativnom analizom ehokardiografskih podataka pronađena je statistički značajna razlika u gotovo svim parametrima, što je i prikazano u rezultatima, pri čemu je verifikovan nezavistan “granični” ehokardiografski profil ispitanika sa HFmrEF.

Analizom primenjene farmakološke terapije, na našem uzorku, dokazana je statistički značajna razlika u upotrebi ACE inhibitora, amiodarona, kalcijumskih antagonista, spirinolaktona i diuretika, gde je HFmrEF demonstrirala nezavisan “intermedijerni” farmakološki profil. Slično našim nalazima i rezultati velikih studija potvrdili su da je upotreba β -blokatora uniformna u sve tri podgrupe, kao i da pacijenti sa HFrEF u terapiji više koriste digoksin i farmakološke blokatore sistema RAA, dok su blokatori kalcijumovih kanala predominantna terapija kod ispitanika sa EF>50% [182, 183], što je takođe identično našim rezultatima.

6.2. Koncentracije ispitivanih biomarkera miokardnog remodelovanja kod pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću

6.2.1. Koncentracije solubilnog ST2 u hroničnoj srčanoj slabosti

Prema aktuelnim smernicama Evropskog vodiča za tretman i lečenje srčane slabosti iz 2016. godine, još uvek nema dovoljno dokaza na osnovu kojih bi merenje i praćenje

koncentracija solubilnog ST2 [1] predstavljalo metodu za monitoring pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću. Prema Američkom vodiču [184] preporučeno je da se koncentracije sST2 mogu smatrati prediktivnim za hospitalizaciju i smrtni ishod kod pacijenata sa srčanom slabošću, naročito kada se njihova prognostička vrednost doda koncentraciji natriuretskih peptida. Postoje istraživači koji su na osnovu rezultata multicentričnih i randomizovanih studija dali preporuku graničnih vrednosti za koncentracije sST2 i galektina 3 u plazmi kod ispitanika sa srčanom insuficijencijom koje bi se mogle koristiti u cilju stratifikacije rizika za morbiditet i mortalitet kod pacijenata sa srčanom slabošću [185]. Na osnovu rezultata našeg istraživanja koncentracija sST2 u plazmi pacijenata sa srčanom slabošću sST2 može se smatrati faktorom rizika za smanjenje jačine ejeckione frakcije (OR=1,120, p=0,002), faktorom rizika za pojavu ishemije (OR=0,933, p=0,018) i faktorom rizika za povećanje dijametra leve pretkomore (OR=1,096, p=0,042) u grupi pacijenata sa srčanom slabošću, bez obzira na stepen ejeckione frakcije.

Supresor tumorigeneze 2 (ST2) nalazi se u obliku dve forme, kao transmembranska (ST2L) forma i solubilna forma (sST2), koja se lako može meriti u cirkulaciji. Kao ligand za ST2 identifikovan je IL-33 [97] i njegova protektivna uloga u kardiovaskularnoj patologiji višestruko je dokazana [110]. Dokumentovano je da, preveniranjem hipertrofije, fibroze i apoptoze, ekspirira antiproliferativan efekat na miokard. Na animalnom modelu je dokazano da administracija sST2 kardiomiocitima eksperimentalne životinje dozno-zavisno blokira kardioprotektivan efekat IL-33. Ovakvi rezultati doveli su do postavljanja hipoteze da solubilna forma ST2 služi kao “receptor mamac” za IL-33 [186]. U skladu sa tim, dokazano je da sST funkcioniše kao promoter miokardne apoptoze, fibroze i generalno hipertrofije, osnovnih patofizioloških fenomena u mehanizmu miokardnog remodelovanja. Ukoliko se rezultati ovih studija posmatraju sa kliničkog aspekta, dolazi se do zaključka da bi serijsko određivanje ovog biomarkera moglo da ukaže na tok srčane insuficijencije i da potencijalno pomogne u identifikaciji fenotipa miokardnog remodelovanja. Komparativnom analizom postojećih patofizioloških fenomena (patološko remodelovanje leve komore, značajna dijastolna disfunkcija i pogoršanje performansa desne komore) i povišenih koncentracija sST2 kod pacijenata sa hroničnom srčanom insuficijencijom, zaključeno je da postoji nesumnjiva i nezavisna veza između ispitivanih varijabli [187]. Finalni zaključak, izveden na osnovu velikog broja studija, je da bi se solubilna forma ST2 mogla koristiti kao prediktor za buduće komplikacije kod pacijanata sa srčanom slabošću: hospitalizacije, pojavu aritmija i smrtni ishod.

Najrelevantniji rezultati serijskog merenja sST2 dobijeni su na osnovu rezultata tri velika istraživanja: 1) *Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure*, CORONA studije [188], 2) *Pro-BNP Outpatient Tailored Chronic HF Therapy*, PROTECT [189] i 3) *Valsartan Heart Failure Trial*, Val-HeFT studije [190].

U CORONA studiji merena je koncentracija solubilnog ST2 kod skoro 1500 ispitanika (1449) sa srčanom insuficijencijom i prethodnom disfunkcijom leve komore, pri čemu je medijana praćenja bila 2,6 godina [188]. Za taj vremenski period, kod 28,2% ispitanika zabeležen je primarni *end point* studije: kardiovaskularni smrtni ishod, nefatalni akutni infarkt miokarda ili moždani udar, pri čemu je 29,1% ispitanika uključenih u studiju doživelo smrtni ishod. Medijana koncentracije solubilnog ST2 na početku istraživanja bila je 17,8 ng/ml, sa interkvartilnom razlikom od 13,0 do 25,0 (na našem uzorku srednja vrednost koncentracija sST2 za kliničku grupu pacijenata sa srčanom insuficijencijom bila je $30,87 \pm 9,97$ ng/ml). Pacijenti sa najvišim koncentracijama sST2 ($>28,8$ ng/ml) bili su stariji muškarci, imali su nižu ejectionu frakciju, višu stopu atrijalne fibrilacije i više koncentracije NT-proBNP i C-reaktivnog proteina, što je u skladu sa našim rezultatima, za analizirane varijable (BNP i vrednosti ejectione frakcije). Podaci ove studije pokazali su da su pacijenti sa visokim vrednostima sST2 u terapiji predominantno koristili ACE inhibitore i inhibitore AT1 receptora [188].

Generalni zaključak CORONA studije bio je da je inicijalna koncentracija sST2 bila nezavisni prediktor za svaki postavljeni *end point*: kardiovaskularni smrtni ishod, nefatalni infarkt miokarda ili moždani udar i pogoršanje toka bolesti ili ponavljane hospitalizacije. Upotreba statinske terapije i godine pacijenata nisu uticali na prediktorni potencijal sST2.

Nakon dihotomne analize, korišćenjem medijane koncentracija sST2 (17,8 ng/ml), dokazan je prediktivni kapacitet ovog biomarkera, veoma sličan prediktivnom potencijalu koji poseduje NT-proBNP. Za većinu postavljenih *end pointa* studije, pacijenti koji su imali koncentracije NT-proBNP-a ispod medijane, imali su višu stopu neželjenih događaja ukoliko im je i koncentracija sST2 bila iznad medijane. Istovremeno, pacijenti čije su koncentracije oba ispitivana biomarkera bile iznad medijane (sST2 i NT-proBNP) imali su najviši rizik za rehospitalizaciju ili hospitalizacije bilo kog uzroka [188].

CORONA studija bila je dizajnirana tako da je koncentracija sST2 serijski merena (u trenutku uključivanja u studiju i nakon tri meseca randomizacije), pri čemu nije bilo značajnih razlika u njihovim koncentracijama za ovaj vremenski period (medijana koncentracije 0 ng/ml, sa interkvartilnom razlikom od -3 do 3 ng/ml). Na osnovu sprovedene cox regresione analize, zaključeno je da većina kardiovaskularnih događaja nije bila u vezi sa

porastom sST2, ali da je sniženje koncentracija sST2 tokom tri meseca bilo u pozitivnoj vezi sa redukcijom rizika za hospitalizaciju zbog progresije srčane slabosti (HR=0,87, p=0,02) i hospitalizacijom usled nekog kardiovaskularnog događaja (HR=0,88, p=0,006). Zaključno, porast plazmatskih vrednosti sST2 \geq 15,5% bio je u pozitivnoj korelaciji sa kardiovaskularnim uzrokom za bolničko lečenje. Nakon prilagođavanja za sve varijable, porast u koncentraciji sST2 dokazan je kao statistički značajan prediktor za primarni *end point* studije, kao i prediktor za hospitalizaciju zbog kardiovaskularnih faktora [188]. Naša studija dizajnirana je kao studija preseka i pacijenti nisu sagledavani nakon inicijalne randomizacije, tako da je prediktivni potencijal biomarkera dobijen metodom logističke regresije, a ne nakon perioda praćenja. Iz tih razloga neophodan je kontinuirani *follow up* randomizovane grupe pacijenata u cilju potvrđivanja (ili opovrgavanja) dobijenih rezultata.

Druga značajna studija u kojoj su određivane i praćene koncentracije nekoliko biomarkera kod pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću bila je PROTECT studija, a merene su plazmatske koncentracije sST2, GDF-15, hsTNT i NT-proBNP [189]. U pomenutu studiju bio je uključen 131 pacijent sa hroničnom srčanom slabošću i prethodnom sistolnom disfunkcijom leve komore (EF<40%). Koncentracije u plazmi tri biomarkera (sST2, GDF-15 i hsTNT), zajedno sa kliničkim parametrima i koncentracijama NT-proBNP-a uvedene su u model za predikciju rizika. Rezultati su pokazali da su njihove inicijalne koncentracije, uključujući sST2 i GDF-15 statistički značajno bili bolji pokazatelji rizika u poređenju sa kliničkim varijablama, čak i sa merenjem NT-proBNP, kao samostalnog biomarkera. Tokom serijskog merenja, dokazane su značajne promene u koncentraciji sST2 tokom perioda praćenja u trajanju od 10 meseci. Suprotno ovoj opservaciji, tokom istog perioda nisu primećene razlike u koncentracijama u plazmi GDF-15 i hsTNT-a.

Poređenjem koncentracija ispitivanih biomarkera u trenutku randomizacije sa finalnim merenjima, dobijen je koeficijent korelacije od 0,67 za sST2, što je bilo slično koeficijentu korelacije za NT-proBNP. Dobijene vrednosti korelacionih koeficijenata bile su: za GDF-15 0,86 i za hsTNT 0,87. Ovi rezultati ukazuju da je najveća promena u koncentraciji “novih” biomarkera uočena merenjem sST2 u plazmi, što ukazuje na najveći potencijal ovog biomarkera za kliničku obradu i monitoring pacijenata. Istovremeno, autori studije predložili su granične vrednosti za sve ispitivane biomarkere, odnosno koncentracije <35 ng/ml za sST2 (>35 ng/ml smatrane su vrednostima sa povišenim kardiovaskularnim rizikom) i GDF-15 <2000 ng/l [189].

Pomenute promene u koncentracijama sST2 tokom perioda praćenja analizirane su u kontekstu potencijalnih prediktora za neželjene kardiovaskularne događaje. Metodom cox

regresione analize, u koju je bila uključena varijabla vremenske zavisnosti, dobijen je model predikcije za kardiovaskularni morbiditet. Varijable koje su bile uključene u cox regresionu analizu bile su: tradicionalni faktori rizika, inicijalne koncentracije sST2 i promene koncentracija sST2 tokom praćenja. Dobijenim rezultatom je dokazano da kada su inicijalne vrednosti sST2 bile niže od 35 ng/ml, bilo je produženo vreme do prve kardiovaskularne epizode (HR=0,30, p=0,002). Pored toga, promena u koncentraciji sST2 (<35 do >35 ng/ml) tokom izvođenja studije, bila je povezana sa statistički značajno kraćim periodom do pojave neželjenog kardiovaskularnog događaja (HR=3,64, p=0,009). Rezultati *PROTECT* studije impliciraju da je naj snažniji kardiovaskularni faktor rizika, u periodu jednogodišnjeg praćenja, vremenski period tokom koga su ispitanici imali vrednosti sST2 u plazmi ispod 35 ng/ml (HR=0,86 za svakih 10% vremena sa vrednostima ST<35 ng/ml). U cilju stratifikacije kardiovaskularnog rizika, a na osnovu dobijenih rezultata, preporučena je stratifikacija pacijenata prema graničnoj vrednosti za sST2 i to na one čije vrednosti konstantno iznose <35 ng/ml, na ispitanike čije su koncentracije ponekada ispod 35 ng/ml i na pacijente čije koncentracije sST2 nikada ne padaju ispod 35 ng/ml. Ukoliko su pacijenti većinu vremena praćenja imali vrednosti <35 ng/ml, imali su statistički značajno smanjenje end-dijastolnog indeksa leve komore (OR=1,22, p=0,01), nakon prilagođavanja za relevantne kliničke parametre dobijene tokom randomizacije. Ovakav nalaz upućuje na postojanje patofiziološke veze između koncentracija sST2 i patološkog remodelovanja leve komore, implicirajući potencijalni značaj uvođenja ovog markera za biomonitoring strukturnih promena leve komore. Treba napomenuti da, bez obzira što dizajnom naše studije nije uključeno utvrđivanje potencijalnih veza između primenjene terapije i sST2, postoje analize kojima je dokazan uticaj lekova na koncentracije sST2 u plazmi, predominantno β -blokatora. Pacijenti koji su imali više koncentracije sST2 uz istovremeno administrirane više doze β -blokatora (metoprolol >50 mg/dan) imali su niži rizik za razvoj kardiovaskularnih događaja u poređenju sa pacijentima koji su primali niže doze istog leka. Istovremeno, pacijenti koji su primali niže doze β -blokatora, uz visoke vrednosti sST2 u plazmi imali su najviši rizik (OR=6,0, p=0,001) za neželjeni kardiovaskularni događaj [189].

Treća velika studija, *Val-HeFT*, čijim ispitanicima (1650) sa srčanom insuficijencijom i sistolnom disfunkcijom leve komore je serijski određivana koncentracija sST2 u plazmi i to: prilikom uključivanja u studiju, nakon 4 meseca i posle 12 meseci randomizacije [190]. Inicijalno, najviše koncentracije ovog biomarkera zabeležene su kod starijih ispitanika i kod muškaraca, kao i kod onih koji su imali težu kliničku sliku, znake kongestije, atrijalnu fibrilaciju ili komorbiditete poput šećerne bolesti. Bez obzira što su se koncentracije sST2

razlikovale među polovima, nisu verifikovane statistički značajne razlike u dobijenim korelacijama između njihovih vrednosti i finalnih ishoda. Istraživači ove studije dokumentovali su postojanje lineranog porasta rizika, čak i u slučajevima kada su koncentracije sST2 bile <35 ng/ml. Pretpostavljeno je da rizik za neželjeni kardiovaskularni događaj postoji i kada su koncentracije sST2 >33,2 ng/ml i da je razlika u prognostičkom potencijalu ove dve referentne vrednosti (35 i 33,2 ng/ml) praktično zanemarljiva. Sa praktičnog aspekta to znači da su pacijenti sa vrednostima sST2>33,2 ng/ml takođe identifikovani kao potencijalni kandidati za neželjeni kardiovaskularni događaj. Veoma važan zaključak *Val-HeFT* studije ogleda se u tome da je inicijalna koncentracija sST2 dokazana kao umereni prediktor za prvo pogoršanje bolesti ($p=0,005$), smrtni ishod ($p=0,035$), ali ne i za rehospitalizaciju zbog dekompenzacije srčane slabosti, ali i da je prediktorni potencijal NT-proBNP superioran u poređenju sa sST2 [190]. Suprotno ovim rezultatima, serijsko merenje sST2 i rezultati dobijeni merenjem u 12 mesecu nakon randomizacije, pokazali su značajan prognostički karakter za sST2. Dokazano je da je stopa morbiditeta rasla sa porastom koncentracija sST2 za 1 ng/ml ($\beta=0,028$, $p<0,0001$), pri čemu su slični rezultati dobijeni i kada je ispitivana stopa mortaliteta i hospitalizacije. Pacijenti koji su u 12 mesecu imali značajan porast sST2 u plazmi u poređenju sa inicijalnim koncentracijama, imali su značajno viši rizik za razvoj pomenutih neželjenih događaja. Istovremeno, smanjenje vrednosti sST2 unutar 12 meseci nije bilo u značajnoj vezi sa redukcijom rizika, tačnije za finalni ishod bio je značajan samo eksponencijalni porast koncentracija sST2, ali ne i njihovo smanjenje. Finalni zaključak studije bio je da je za stratifikaciju rizika i kao prognostički pokazatelj najvažnija koncentracija sST2 koju su ispitanici imali u 12 mesecu nakon uključivanja u studiju [190].

Pretpostavlja se da bi praćenje promena u koncentraciji sST2 bilo značajnije za predikciju događaja vezanih za komplikacije srčane insuficijencije, u poređenju sa potencijalnim koronarnim događajima [188], mada je na našem modelu metodom logističke regresije dokazana prediktivna sposobnost sST2 za epizode ishemije. Takođe je dokazano da je prediktivni potencijal sST2 identičan potencijalu koji pokazuje NT-proBNP, a superioran u poređenju sa GDF-15 ili hsTNT. Ovi podaci ukazuju na mogućnost ambulantnog merenja sST2, a time i na identifikaciju pacijenata kod kojih tokom vremena dolazi do porasta koncentracija i samim tim su označeni kao “rizična grupa”. Pored toga, pomenute studije su dokazale da preporučena terapija srčane slabosti (ACEI, ARB, β -blokatori i blokatori aldosteronskih receptora) smanjuje koncentraciju sST2 u plazmi pacijenata, što implicira da bi se merenjem sST2 mogle titrirati doze ovih lekova, sa ciljem smanjenja kardiovaskularnog

i opšteg morbiditeta. Za testiranje ove, atraktivne hipoteze, neophodno je sprovođenje novih randomizovanih i multicentričnih studija.

Zaključno, na osnovu naših rezultata može se govoriti o prediktornom potencijalu sST2 za određene kliničke varijable (pojava ishemije, smanjenje jačine ejakcione frakcije, <40% i povećanje dijametra leve pretkomore, >40 mm), ali je za definitivno potvrđivanje ove hipoteze neophodno dalje praćenje pacijenata i serijsko merenje biomarkera. Da li se preporučena granična vrednost od 35 ng/ml može smatrati prognostičkom, na osnovu dostupnih literaturnih podataka, kao i iz rezultata naše studije, ne mogu se još uvek izvesti sigurni zaključci.

6.2.2. Koncentracije galektina-3 u hroničnoj srčanoj slabosti

Galektin-3 pripada porodici galektina i uključen je u brojne fiziološke i patološke procese, od kojih su hronična inflamacija i fibroza ključni patogenetski mehanizmi progresije srčane insuficijencije. Ove tvrdnje su dokazane na eksperimentalnom modelu, kada je u ćelijskoj kulturi miokardnih fibroblasta, nakon administracije egzogenog rekombinantnog galektina-3, značajno povećan stepen proliferacije fibroblasta, što je finalno dovelo do snažne produkcije kolagena i posledične hipertrofije miokarda [125]. Za potpuno razumevanje patofiziologije i plejotropnosti galektina-3 značajno je otkriće da njegove funkcije zavise od toga gde je lociran u ćeliji, odnosno da li se nalazi u citoplazmi ili jedru, da li je eksprimiran na ćelijskoj membrani ili je sekretovan u ekstracelularni prostor [191]. Citoplazmatska lokalizacija galektina-3 odgovorna je za preživljavanje ćelija, ukoliko se nalazi u jedru ima ulogu u genskoj transkripciji, dok je ekstracelularni galektin-3 zadužen za interćelijsku interakciju, između epitelnih ćelija i ekstracelularnog matriksa [192]. Takođe se zna da ekstracelularni galektin-3 funkcioniše kao modulator ćelijske diferencijacije, inflamacije, fibrogeneze i ćelijske odbrane [192].

Pretpostavljeno je da galektin-3 indukuje razvoj miokardne fibroze posredovane aktivacijom ciklina D1 [125]. *Up-regulacija* galektina-3 dokazana je u brojnim patofiziološkim procesima, u kojima postoji visok stepen fibroze i remodelovanja tkiva: ciroza, plućna fibroza i hronični pankreatitis [193], pri čemu se sa sigurnošću zna da postoji pozitivna korelacija između visokog stepena ekspresije mRNK sa količinom i stepenom rasprostranjenosti fibroznog tkiva. To finalno dovodi do zaključka da su aktivisani makrofagi

i visoka koncentracija galektina-3 ključni patogenetski procesi tokom akumulacije i aktivacije miofibroblasta i patološkog remodelovanja miokardnog tkiva. Iz tih razloga se galektin-3, pored sST2, smatra etabliranim biomarkerom fibroze i najperspektivnijim biomarkerom za praćenje progresije srčane insuficijencije.

Rezultati naše studije impliciraju da bi galektin-3 mogao da se koristi za monitoring pacijenata sa hroničnom srčanom insuficijencijom, jer je metodom logističke regresije dokazano da se može koristiti kao prediktor za smanjenje jačine ejeckione frakcije (OR=1,237, $p<0,001$), za povećanje dijametra leve pretkomore, >40 mm, (OR=1,213, $p=0,010$) i za pojavu miokardne ishemije (OR=0,858, $p=0,012$). Nakon podele pacijenata prema stepenu EF, najznačajniji rezultati dobijeni su u podgrupi pacijenata sa očuvanom ejeckionom frakcijom, dok se na osnovu našeg modela ne može govoriti o značajnoj upotrebi galektina-3 kod pacijenata sa redukovanom ili graničnom ejeckionom frakcijom.

U podgrupi pacijenata sa ejeckionom frakcijom $>50\%$ dokazano je, metodom linerane regresije, da koncentracije galektina-3 pozitivno korelišu sa indeksom mase leve komore, kao i sa dimenzijama leve komore, tačnije sa debljinom zadnjeg zida i septuma. Ovi rezultati nesumnjivo dokazuju vezu između parametara koji ukazuju na hipertrofiju leve komore i plazmatskih vrednosti galektina-3, ali je neophodno dalje praćenje pacijenata za dokazivanje postavljenih hipoteza.

Neke od prvih studija koje su za cilj imale određivanje koncentracija galektina-3 kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom, ukazale su na neophodnost merenja ovog biomarkera kod pacijenata sa redukovanom ejeckionom frakcijom, što nije u potpunosti u skladu sa našim rezultatima. Očekivano je da koncentracije galektina-3 budu najviše kod pacijenata sa $EF<45\%$, kao što je slučaj na našem modelu, jer je najznačajniji etiološki faktor odgovoran za nastanak ovog tipa srčane slabosti koronarna bolest i ishemijska kardiomiopatija, na našem uzorku 70% pacijenata. Posmatrano sa patofiziološkog aspekta, ovi pacijenti imaju najviši stepen miokardne fibroze, kao patofiziološki odgovor na prethodnu miokardnu ishemiju i ožiljak nakon infarkcije. Smatra se da aktivacija aldosteron/makrofag/galektin-3/TGF- β /ciklin D1 osovine dovodi do značajne fibroze leve komore i redukcije sistolne funkcije srca, za prosečno 22% [194].

Istovremeno, druga grupa autora [185] dokazala je da je koncentracija galektina-3 značajno povišena u poređenju sa kontrolom, što je u skladu sa našim rezultatima, kao i da se ovaj biomarker može koristiti za dokazivanje dijastolne disfunkcije leve komore kao samostalni marker ili u kombinaciji sa relevantnim kliničkim pregledom i ehokardiografskim parametrima [118]. Dokazano je da ima karakteristike nezavisnog faktora rizika, čak i nakon

korekcije za određene varijable (godine, pol, koncentracija BNP, pristustvo šećerne bolesti i bubrežne disfunkcije) i da je njegov prognostički potencijal značajno veći u podgrupi pacijenata sa očuvanom ejakcionom frakcijom. Za razliku od sST2 gde je preporučeno serijsko merenje, u slučaju galektina-3 nije dokazan benefit serijskog određivanja [118, 124]. Dokazano je i da visoke koncentracije galektina-3 pozitivno korelišu sa neželjenim ishodom, nezavisno od vrednosti natriuretskih peptida [124, 195], ali samo kod pacijenata sa EF<50%. Isti autori su dokazali da galektin-3 pokazuje nezavistan prognostički kapacitet u ovoj subpopulaciji pacijenata, nezavisno od etabliranih kliničkih pokazatelja [124]. Sa druge strane, analizom 27 kliničkih studija, dokazano je da galektin-3 ne poseduje superiornost kao prediktor mortaliteta u poređenju sa prognostičkim potencijalom natriuretskih peptida, C-reaktivnog proteina ili sST2 [196]. Rezultati *Coordinating Study Evaluating Outcomes of Advising and Counselling Failure, COACH* studije, pokazali su da je galektin-3 nesumnjivi prognostički parametar mortaliteta, ali je korelacija između koncentracija biomakera i stope mortaliteta bila značajnija u podgrupi pacijenata sa EF>50% [197]. Dodatnim istraživanjem, proizašlim iz *RELAX* studije [198] verifikovano je da koncentracija galektina-3 zavisi od godina ispitnika, male težine i stepena bubrežne insuficijencije. Zbirnom analizom tri kliničke studije koje su uključivale pacijente sa hroničnom srčanom insuficijencijom, dokazano je da je koncentracija galektina-3 prediktor za buduće hospitalizacije, naročito kod pacijenata sa očuvanom ejakcionom frakcijom [199].

Prospektivnim praćenjem pacijenata sa srčanom slabošću (*follow-up* od 26 meseci) dokazano je da su koncentracije galektina-3 nezavisni pokazatelj mortaliteta (za ispitivani period od 26 meseci), kao i da su vrednosti >21 ng/ml galektina-3 koncentracije koje su bile povezane sa najvišom stopom mortaliteta [200]. U grupi pacijenata gde je koronarna bolest bila glavni etiološki faktor za nastanak srčane slabosti, dokazano je da je galektin-3 u plazmi bio nezavisni prediktor sveukupnog (opšteg) mortaliteta i budućih rehospitalizacija. Takođe je dokumentovana snažnija asocijacija između koncentracija galektina-3 i sveukupnog ishoda pacijenata sa očuvanom, u poređenju sa redukovanom ejakcionom frakcijom [201]. Verifikovano je, takođe, da vrednost galektina-3 koreliše sa stepenom progresije srčane insuficijencije, da reflektuje dinamske promene tokom mehaničkog stresa miokarda i predviđa ishod nakon implantacije kardioverter defibrilatora. Prognostički potencijal ovog biomarkera u populaciji pacijenata sa srčanom slabošću ispitivan je i nakon transplantacije srca. Dokazano je da porast koncentracija galektina-3 u plazmi ukazuje na razvoj posttransplantacijske vaskulopatije miokardnog grafta i njegovog potencijalnog odbacivanja. Drugi autori [199] dokumentovali su da se galektin-3 može koristiti kao prediktor

potencijalnih rehospitalizacija u sveukupnoj populaciji pacijenata sa srčanom slabošću, nezavisno od stratifikacije prema ejectionnoj frakciji. U grupi pacijenata kod kojih je srčana insuficijencija prouzrokovana mitralnom regurgitacijom, kao osnovnim etiološkim faktorom [202], vršeno je preoperativno merenje koncentracija galektina-3 i dokazano je da su visoke vrednosti, pre hirurške intervencije, bile nezavisno povezane sa patološkim remodelovanjem leve komore. Dodatno je dokazano da prognostička vrednost galektina-3 ne zavisi od primenjene metode lečenja, niti godina pacijenata [195, 203], što značajno povećava mogućnosti korišćenja ovog biomarkera u kliničkoj praksi. Zanimljiv je i podatak da značaj merenja galektina-3 zavisi od etničke pripadnosti i da je najopravdanije njegovo merenje u populaciji bele rase. Analizom podataka *Atherosclerosis Risk in Communities Observational Cohort* studije zaključeno je da galektin-3 nezavisno koreliše sa stopom mortaliteta samo u populaciji bele rase, te je postavljeno pitanje svrsishodnosti njegove upotrebe kod pacijenata drugih etničkih grupa [204].

Tumačenja da li bi galektin-3 trebalo meriti serijski za sada su kontraverzna. Postoje autori koji smatraju [191] da su promene koncentracija galektina-3 u poređenju sa inicijalnim vrednostima mnogo senzitivniji indikator ozbiljnosti i prognoze bolesti, a samim tim i mnogo značajniji prognostički biomarker. Dokazano je, pre svega, da su koncentracije biomarkera više kod pacijenata sa III/IV NYHA funkcijskom klasom, kao i kod onih koji imaju veći stepen bubrežne slabosti, što su rezultati proizašli iz *VAL-HeFT* studije [190]. Ova studija je dokazala da je porast galektina-3 tokom praćenja pacijenata nezavisno povezan sa ozbiljnošću simptoma i konačnim ishodom bolesti [190]. Dokumentovano je da je tokom četvoromesečnog praćenja, svaki porast koncentracija galektina-3 za 1 µg/l bio u nezavisnoj vezi sa stepenom mortaliteta, epizodom prve dekompenzacije i hospitalizacijama. Druge dve prospektivne studije *Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure* (tromesečni period praćenja) i *Coordinating Study Evaluating Outcomes of Advising and Counseling Failure trial* (praćenje u periodu od šest meseci) dokazale su da postoji značajan porast ekspresije galektina-3 (<17,8 do >17,8) za određene periode praćenja [197]. Ova promena koncentracija, u obe studije, bila je u značajnoj vezi sa porastom broja hospitalizacija i stopom mortaliteta od srčane slabosti. Kod pacijenata sa sistolnom insuficijencijom (EF<40%), u periodu praćenja od >deset meseci, dokazano je da su vrednosti galektina <20 ng/ml bile u statistički značajnoj vezi sa nižom stopom neželjenih kardiovaskularnih događaja, a nakon prilagođavanja za kliničke parametre i nezavisni prediktor za neželjene kardiovaskularne događaje. Dodatno je dokazano da indikovana terapija (ACEI, ARB i tiazidni diuretici) nije uticala na promenu koncentracija galektina-3

kod ispitivanih pacijenata [205]. Nakon praćenja od šest meseci, verifikovano je da su vrednosti galektina-3 (posle šest meseci) bile bolji indikatori neželjenih kardiovaskularnih događaja u poređenju sa vrednostima dobijenim u trenutku randomizacije ispitanika [206]. Postoje autori koji smatraju da se serijskim merenjem galektina-3 ne dobijaju informacije koje poseduju prognostički benefit [207].

Naglašeno je da u populaciji naših pacijenata postoje statistički značajne razlike u koncentracijama evaluiranih biomarkera u zavisnosti od stepena ejectione frakcije, sa trendom da su najviše vrednosti evidentirane kod ispitanika sa EF<40% i najniže kod pacijenata sa EF>50%. Pacijenti sa graničnom EF (40-49%) demonstrirali su granični biohemijski profil, odnosno imali su srednje vrednosti biomarkera u plazmi. Suprotno našim rezultatima, postoje i podaci da se koncentracije biomarkera ne razlikuju prema stepenu EF [191]. Kod pacijenata sa kompenzovanom sistolnom insuficijencijom nije dokazana statistički značajna korelacija sa jačinom glomerulske filtracije, ejectionom frakcijom ili funkcijskim kapacitetom leve komore [208]. Dodatno, dokazano je da koncentracija galektina-3 statistički značajno koreliše sa strukturno-funcijskim promenama leve komore, ali isključivo u ukupnoj populaciji pacijenata sa srčanom insuficijencijom, nezavisno od EF [209], što je u skladu sa delom naših rezultata.

Postoje studije u kojima su analizirani faktori kojima se prati i procenjuje progresija srčane slabosti, gde je ispitivana njihova veza sa koncentracijama galektina-3, pri čemu je ovaj biomarker dobio epitet kardio-renalnog pokazatelja. Kod ambulantnih pacijenata sa srčanom slabošću verifikovano je da serumska koncentracija galektina-3 reflektuje povišen stepen neurohumoralne aktivnosti i smanjen stepen bubrežne funkcije, mnogo značajnije nego što koreliše sa miokardnom disfunkcijom [210]. Analizom sličnih parametara dokazana je veza sa mikroalbuminurijom [211] i sa stopom mortaliteta, u slučajevima gde su pacijenti imali jačinu glomerulske filtracije >60 ml/min/1,73 m² [65], ali je istovremeno dokazano da nezavisna i pozitivna korelacija postoji bez obzira na stepen bubrežne funkcije [212]. Postoje i dokazi (*RELAX* studija) da je kod pacijenata sa očuvanom EF od većeg kliničkog značaja monitoring bubrežne funkcije i da je funkcija bubrega značajniji pokazatelj u poređenju sa drugim patofiziološkim parametrima [198]. Ovi rezultati pokazuju da je tokom interpretacije značaja merenja galektina-3, u multivarijantni model prilagođavanja za određene varijable, neophodno uneti parametre koji ukazuju na stepen bubrežne funkcije.

Poređenjem OR između ispitivanih biomarkera dobijenih metodom logističke regresije za parametre kod kojih je evidentirana statistička značajnost (smanjenje jačine EF, veličina leve pretkomore i pojava ishemije), ne može se doneti zaključak o superiornosti

jednog markera u poređenju sa drugim. Sa druge strane, prema literaturnim podacima, postoje podaci o prognostičkoj superiornosti galektina-3 u poređenju sa ostalim biomarkerima. U *Penn Heart Failure* studiju uključeni su pacijenti selektovani prema kategoriji EF, na one sa redukovanom, očuvanom i oporavljenom, za petogodišnji period praćenja. Vrednosti galektina-3 i BNP demonstrirale su superiornost kao faktori rizika u poređenju sa koncentracijama sST2 i troponina I, kod pacijenata sa očuvanom i oporavljenom EF [213]. Kod pacijenata sa očuvanom EF, galektin-3 je pokazao značajniju senzitivnost, ali manju specifičnost kao biomarker, u poređenju sa BNP, dok su drugi autori dokazali da je specifičnost galektina-3 kao prediktivnog biomarkera za progresiju srčane slabosti bio značajniji u poređenju sa NT-proBNP [192, 214]. Kod pacijenata koji su bili stratifikovani prema vrednostima jačine EF, galektin-3 je bio dokazan kao najznačajniji prediktor mortaliteta u podgrupi pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću i jačinom glomerulske filtracije >73 ml/min/1,73m². Nasuprot ovim rezultatima, sST2 bio je značajan prediktor mortaliteta, ali kod pacijenata sa najslabijom funkcijom bubrega [215]. Dodatnim istraživanjima dokazano je da je prediktivni potencijal galektina-3 nešto niži u poređenju sa drugim markerima fibroze, matriks metaloproteinazama-2, u populaciji pacijenata sa redukovanom EF. Takođe je verifikovan niži prediktivni potencijal galektina-3, u poređenju sa serumskim sST2, kao faktor za dugoročnu stratifikaciju rizika kod ambulanto praćenih pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću [107, 216]. Zanimljiva je hipoteza da je sST2, u poređenju sa galektinom-3, mnogo korisniji marker za dugoročni monitoring srčane slabosti, dok bi, sa druge strane, galektin-3 bio značajan za verifikaciju patofiziološkog rearanžmana, npr. miokardnog remodelovanja. Naši rezultati bi se čak mogli tumačiti u ovom kontekstu, jer je ustanovljena snažna veza između parametara koji indikuju hipertrofiju leve komore, debljine zadnjeg i posteriornog zida, kao i indeksa mase leve komore i koncentracija galektina-3 u plazmi.

Prema nekim istraživačima, osim prognostičkog potencijala galektina-3, može se govoriti o njegovom dijagnostičkom kapacitetu, mada se na osnovu rezultata naše studije ne može izvući takav zaključak. Da li je galektin-3, kao samostalan biomarker, dovoljan za praćenje pacijenata ili je ipak svrsishodnija njegova upotreba u multimarkerskom pristupu, na osnovu dosadašnjih saznanja i raspoloživih literaturnih podataka ne može se izvesti definitivni zaključak. Iz naših rezultata može se preporučiti kao potencijalni marker za monitoring ispitanika sa očuvanom EF, ali je neophodno dalje praćenje i serijsko merenje.

6.2.3. Koncentracije faktora rasta i diferencijacije 15 u hroničnoj srčanoj slabosti

Faktor rasta i diferencijacije 15 (GDF 15) pripada porodici TGF- β faktora rasta i u literaturi se može naći pod brojnim sinonimima: *macrophage inhibiting cytokine 1* (MIC-1), *placental transformation growth factor β* (PTGF- β), *prostate derived factor* (PDF), *placental bone morphogenic protein* (PLAB), *NSAID activated gene-1* (NAG-1) i PL74 [217]. Brojnost sinonima kojima se opisuje, ukazuje na plejotropnost ovog biomarkera, implicirajući njegovo široko polje delovanja, a samim tim potencijalnu upotrebu u kliničkoj praksi. Pored fiziološke ekspresije u placenti i prostati, GDF-15 se može naći u kardiomiocitima, adipocitima, endotelnim ćelijama, makrofagima i glatkomišićnim ćelijama, sa najvišim stepenom ekspresije u stresogenim uslovima: nakon ishemije i/ili hipoksije tkiva. Istovremeno je dokazano da može biti indukovano proinflamatornim citokinima (IL-1 β , *macrophage colony stimulating factor*, M-CSF, TNF- α , angiotenzin II, TGF- β , ali i proteinom p53). Sa sigurnošću se zna da ga kardiomiociti značajno ekspimiraju nakon ishemijsko-reperfuzione povrede tkiva.

Dokazano je da su koncentracije GDF-15 povišene kod osoba sa kardiovaskularnim bolestima i da značajno koreliše sa parametrima metaboličkog sindroma. Takođe je dokazano da je uključen u patogenezu srčane slabosti, koronarne bolesti, atrijske fibrilacije, šećerne bolesti i različitih tipova karcinoma [218]. Zna se da je kod gojaznih pacijenata sa kardiovaskularnim bolestima glavno mesto produkcije GDF-15 potkožno masno tkivo [219], dok je kod pacijenata sa koronarnom bolešću visoka ekspresija GDF-15 pronađena unutar aterosklerotskog plaka [220], kao i u samim kardiomiocitima u slučajevima akutnog infarkta miokarda [221]. Istovremeno, neka istraživanja su dokazala da je kod pacijenata sa neishemijskom etiologijom hronične srčane insuficijencije, sinteza i sekrecija GDF-15 uglavnom periferne lokalizacije [222]. Nedostatak miokardne specifičnosti, prema brojnim autorima, može se smatrati prednošću ovog biomarkera, jer je predikcija kardiovaskularnog rizika značajno determinisana ne samo miokardnim, već i perifernim i sistemskim pokazateljima, gde bi GDF-15 mogao biti značajan indikator. Prognostički kapacitet ovog markera postaje značajniji ukoliko se zna da su njegove koncentracije u plazmi u direktnoj koncentraciji sa stadijumom kardiovaskularne bolesti [220, 221, 223], kao i da mu ekspresija zavisi od “konteksta” povrede. U stanju akutne miokardne ishemije ekspimiraju

antiinflamatorni efekat, tako što vrši direktnu inhibiciju mijeloidnih ćelija i blokira njihovo nakupljanje na mestu lezije [221], ali se zna da je promoter indirektnog proinflamatornog efekta u eksperimentalnom modelu ateroskleroze [220].

Na osnovu naših rezultata može se zaključiti da pacijenti sa redukovanom ejekcionom frakcijom imaju najvišu koncentraciju GDF-15 u plazmi, u poređenju sa pacijentima sa graničnom ili očuvanom ejekcionom frakcijom ($p < 0,001$ za sve), kao i da pokazuje karakter faktora rizika za smanjenje EF $< 40\%$ (OR=1,002, $p=0,003$), za povećanje dijametra leve pretkomore > 40 mm (OR=1,001, $p=0,046$) i za pojave miokardne ishemije (OR=0,999, $p=0,034$). Veliki broj autora dokumentovao je da su unutar celokupne populacije pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću, kod ispitanika sa redukovanom EF detektovane najviše koncentracije ovog biomarkera [224], što je u korelaciji sa našim rezultatima. Prema nekim autorima, koncentracije GDF-15, među ispitanicima sa redukovanom EF, značajno se razlikuju u zavisnosti od stepena bolesti ili od toga da je došlo do ugradnje kardioverter defibrilatora [222], mada na našem modelu nisu detektovane statistički značajne razlike u zavisnosti od NYHA klasifikacije pacijenata. Dokazano je i da se GDF-15 u plazmi razlikuje prema NYHA funkcionalnoj klasi, suprotno našim rezultatima, prema postojanju perifernih edema ili visokih koncentracija natriuretskih peptida (BNP ili NT-proBNP) ili hsTNT [221, 224, 225]. Takođe se zna da su koncentracije GDF-15 u plazmi više kod ispitanika sa komorbiditetima: šećernom i bubrežnom bolešću, kaheksijom i anemijom, kao i da su u pozitivnoj korelaciji sa godinama starosti i drugim markerima inflamacije, hsCRP i mokraćnom kiselinom [221, 224, 225]. Finalno je dokazano da tesno korelišu sa stepenom neurohumoralne aktivacije, determinisanom visokim koncentracijama noradrenalina u plazmi [221, 224, 225]. Postoje i studije na osnovu čijih rezultata se ne može govoriti o značajnoj razlici u koncentracijama GDF-15 stratifikovanih prema stepenu ejekcione frakcije, na redukovanu ili očuvanu [226]. Ovakav rezultat objašnjen je tvrdnjom da svako postojanje sistemske inflamacije (starost i komorbiditeti), koja je osnovni patogenetski mehanizam u progresiji srčane insuficijencije sa očuvanom EF, povećava mogućnost porasta GDF-15, koji reflektuje stanje hronične inflamacije [19]. Kao i na našem modelu, što je diskutovano u sledećem poglavlju, GDF-15 je kod pacijenata sa očuvanom EF u nezavisnoj i pozitivnoj korelaciji sa ehokardiografskim parametrima koji ukazuju na hipertrofiju leve komore i sa parametrima dijastolne disfunkcije (E/A). Smatra se da se potencijal njegove kliničke upotrebe ogleda i u tome što se GDF-15 može koristiti u kombinaciji sa BNP ili sa NT-proBNP za diferencijaciju pacijenata sa očuvanom ili redukovanom EF [227, 228].

Pored diskriminatorskih karakteristika, GDF-15 je na osnovu rezultata velikih studija, u obe podklase srčane insuficijencije, pretpostavljen i kao marker sa značajnim prediktornim potencijalom. Kod pacijenata sa redukovanom EF [221, 224, 229] i sa očuvanom EF [226] GDF-15 je dokazani prediktor opšteg mortaliteta i mortaliteta usled komplikacija osnovne bolesti. Kao granične vrednosti GDF-15 u plazmi definisane su tri grupa pacijenata: sa koncentracijama GDF-15 ispod 1200 ng/l, koji su imali najnižu stopu mortaliteta, između 1200 i 1800 ng/l sa srednjom stopom i sa najvišom stopom mortaliteta bili su ispitanici sa koncentracijama GDF-15 u plazmi iznad 1800 ng/l ($p < 0,001$). GDF-15 je dokazan kao prediktor koji je nezavisan od kliničkih varijabli (NYHA klasa, bubrežna funkcija, natriuretski peptidi i markeri inflamacije). U *Singapore Heart Failure Outcomes and Phenotype Study*, *SHOP* studiji GDF-15 je dokazani nezavisni prediktor sveukupnog mortaliteta i ponavljanih hospitalizacija, nezavisno od kliničkih pokazatelja, tipa srčane slabosti (redukovana ili očuvana) i etabliranim kardiovaskularnim markerima (NT-proBNP i hscTNT) [226]. Dodatnom analizom *Val-HeFT* studije (1734 pacijanata sa redukovanom EF) dokumentovan je porast koncentracija GDF-15 od 8%, tokom dvanaestomesečnog praćenja [224], pri čemu je ovaj porast bio u vezi sa pogoršanjem funkcijskog statusa pacijenata i neželjenih ishoda i to ukoliko su u multivarijantnom modelu bili prilagođeni za kliničke parametre sa randomizacije i za ostale ispitivane biomarkere. Nasuprot ovim nalazima, koncentracija BNP je za isti vremenski period pokazala značajno smanjenje vrednosti, u zavisnosti od primenjene terapije, što generalno dovodi do zaključka da se koncentracija ova dva biomarkera razlikuje od primenjenog terapijskog protokola (blokada angiotenzinskih receptora). Studija je dodatno dokazala da su interindividulane razlike u koncentracijama GDF-15 kod pacijanta sa kompenzovanom formom bolesti značajno manje, u poređenju sa variranjem u koncentracijama BNP, što potencijalnu kliničku upotrebu GDF-15 čini mnogo senzitivnijom [230].

Iako još uvek nije definisan uticaj farmakološke terapije na promenu koncentracija GDF-15 kod ispitanika sa srčanom slabošću, dokumentovano je da implantacija kardioverter defibrilatora snižava njegovu koncentraciju kod pacijenata sa redukovanom EF i višim stepenom NYHA klase [222]. Na osnovu ovih tvrdnji postavljena je hipoteza o reverzibilnosti koncentracija GDF-15 u plazmi, implicirajući da se može koristiti kao biomarker za praćenje efekata aplikovane terapije (farmakološke ili mehaničke). Ova studija je dovela do formiranja hipoteze da je GDF-15 predominantno perifernog porekla i da predstavlja kontratežu BNP, koji reflektuje kardijalni efekat implantacije kardioverter defibrilatora [231].

Faktor rasta i diferencijacije 15 dokazano koreliše sa stepenom hipertrofije leve komore i intersticijske miokardne fibroze [137], te ako se uzme u obzir hipoteza da je osnovni patogenetski fenomen u srčanoj insuficijenciji sa očuvanom EF miokardna hipertrofija, može se zaključiti da bi GDF-15 mogao biti korisniji za stratifikaciju rizika i u predikciji kardiovaskularnog i opšteg morbiditeta i mortaliteta u ovoj subpopulaciji pacijenata [232]. Ova prospektivna studija (149 pacijenata sa HFpEF), dokazala je da je kod pacijenata sa višim koncentracijama GDF-15 u plazmi bila detektovana viša stopa neželjenih kardiovaskularnih događaja kod pacijenata sa EF>50%. Iako relativno mala, ova studija nesumnjivo je ukazala na značaj određivanja GDF-15 kod pacijenata sa očuvanom EF, a naročito kod onih koji se ne nalaze u uznapredovalim formama bolesti. Autori studije smatraju da povišene vrednosti GDF-15 predstavljaju kompenzatorni odgovor na miokardni *overload* i da vrednosti GDF-15 mogu da reflektuju patogenetski mehanizam srčane slabosti, nezavisno od povećanja mase leve komore. Kod pacijenata sa hipertrofijom leve komore uzrokovanom arterijskom hipertenzijom, GDF-15 u plazmi takođe je povišen u poređenju sa zdravom kontrolom i u pozitivnoj je korelaciji sa debljinom zadnjeg zida, interventrikularnog septuma i masom leve komore, kao i sa koncentracijama noradrenalina u plazmi [137]. Ovi podaci su u skladu sa našim rezultatima o postojanju pozitivne i nezavisne korelacije između ehokardiografskih parametara koji ukazuju na hipertrofiju leve komore i koncentracija GDF-15, što je detaljnije diskutovano u narednom poglavlju. Treba dodati da su koncentracije GDF-15 više kod ispitanika sa hipertrofijom leve komore i arterijskom hipertenzijom u poređenju sa onima koji imaju samo hipertenziju [233]. Postavljena je i hipoteza potencijalnog mehanizma kojim GDF-15 učestvuje u razvoju hipertrofije leve komore. Na eksperimentalnom modelu je pretpostavljeno da GDF-15 funkcioniše kao autokrini/parakrini faktor, koji ublažava miokardnu hipertrofiju aktivacijom SMAD i kinaznih (PI3K i ERK) signalnih puteva [137]. To finalno znači da GDF-15 predstavlja protektivan mehanizam protiv miokardne hipertrofije i smrti kardiomiocita mehanizmom aktivacije Smad proteina [137]. Iako postoje dokazi koji ukazuju da GDF-15 eksprimira profibrotski efekat (prekomerna ekspresija Smad6 ili Smad7), najveći deo autora se slaže da većina signalnih puteva koje aktivira i promoviše deluju kao protektivno, što GDF-15 čini kardioprotektivnim regulatornim faktorom [137]. Generalno, kojim god mehanizmom da je indukovana hipertrofija leve komore (infuzija noradrenalina ili indukovana pritiskom), GDF-15, preko svojih Smad nezavisnih signalnih puteva (MAPK, TAK-1, PI3K/AKT) i putem inhibicije receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR) eksprimira antifibrotski efekat i stoga se može smatrati markerom hipertrofije leve komore.

Prognostički potencijal GDF-15 analiziran je u velikoj *Heart Failure: A Controlled Trial Investigating Outcomes of Exercise Training (HF-ACTION)*, u koju je bilo uključeno 910 pacijenata sa HFrEF i periodom praćenja od 30 meseci [234]. Pacijenti sa EF<40% bili su podeljeni prema koncentraciji GDF-15 u plazmi na četiri podgrupe, sa medijanom koncentracija 1596 pg/ml. Dokazano je da je GDF-15 nezavisni prediktor opšteg mortaliteta (HR=2,3 za dupliranje vrednosti GDF-15, p=0,0001), kao i nakon prilagođavanja za demografske, kliničke i biohemijske parametre, hsTNT i NT-proBNP, (HR 1,3 za dupliranje vrednosti GDF-15, p=0,029). Autori *HF-ACTION* studije smatraju da su inicijalne vrednosti GDF-15 kod pacijenata sa HFrEF prediktori dugoročnog neželjenog kardiovaskularnog događaja, a da je dupli porast koncentracija GDF-15 prediktor opšeg mortaliteta u istoj populaciji pacijenata. Iz tih razloga, sugerisano je da se GDF-15 može koristiti sa ciljem stratifikacije rizika kod pacijenata sa EF<40% [234].

Važno je napomenuti da je i kod pacijenata sa akutnom kompenzacijom srčane slabosti, koncentracija GDF-15 značajno viša u poređenju sa hemodinamski stabilnim pacijentima [235]. Istom studijom je dokazano da GDF-15 predstavlja prediktor mortaliteta, kao i da dolazi do smanjenja njegovih koncentracija nakon stabilizacije pacijenata. Patofiziološki posmatrano, vrednosti GDF-15 su reverzibilne i nakon stabilizacije pacijenata vraćaju se na vrednosti pre dekompenzacije [235]. Detektovane su brže promene u koncentraciji GDF-15 kod pacijenata u zavisnosti od terapijskog protokola, što ukazuje na potencijal ovog biomarkera da reflektuje efekat terapije. Ispitanici kod kojih je dolazilo do bržeg smanjenja vrednosti GDF-15 imali su manji rizik za kardiovaskularni mortalitet ili rehospitalizaciju, čak i nakon multivarijantnog prilagođavanja za vrednosti ostalih biomarkera, NT-proBNP, hs-cTNT i ureje [235].

Na osnovu rezultata velikog broja studija u kojima je GDF-15 serijski određivan u plazmi, dokazano je da je njegovo serijsko merenje superiorna metoda za stratifikaciju rizika kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom i da se maksimalni diskriminatorni efekat GDF-15 dobija serijskim merenjem i dodavanjem dobijenih vrednosti postojećim koncentracijama natriuretskih peptida [236].

Faktor koji limitira upotrebu GDF-15 u dijagnostičke svrhe je njegova nespecifičnost. Na molekulskom nivou ekspresija GDF-15 regulisana je pomoću transkripcionog faktora p53 kao odgovor na različite vrste tkivnih oštećenja, hipoksija, ishemija, inflamacija i ostalih lezija. Plazmatska koncentracija GDF-15 reflektuje stepen tkivnog oštećenja, ali ga ne lokalizuje, što ga ne čini tkivno-specifičnim markerom, već markerom koji označava stanje i progresiju bolesti u generalnom smislu. Pored GDF-15,

smatra se da je upotreba sST2 i galektina-3 limitirana iz istih razloga, što ih čini neadekvatnim dijagnostičkim pokazateljima. Ukoliko se GDF-15 smatra markerom fibroze tkiva, takođe se mora uzeti u obzir da u svim stanjima koja su praćena fibrozom tkiva njegove koncentracije moraju da budu povišene. Kvantifikacija i kvalifikacija cirkulišućih biomarkera nije direktna mera homeostaze kolegena miokarda, naročito ako se zna da je homeostaza kolagena poremećena i kod pacijenata sa cirozom, plućnom fibrozom i hroničnom bubrežnom bolešću [185].

Zaključno, sinteza i sekrecija GDF-15 predstavljaju odgovor na metabolički stres kardiomiocita. Eksperimentalno je dokazano da učestvuje u procesima ćelijske diferencijacije i tkivnog remodelovanja, te je stoga opravdano analiziran kao potencijalni marker remodelovanja leve komore i kardiovaskularnog ishoda kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom. Korelacijom serijskih merenja sST2, GDF-15 i troponina [189], kao prediktora kardiovaskularnog ishoda u populaciji pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću, dokazano je da sva tri poseduju sličan i nezavisan prognostički karakter, što dodatno ukazuje na složenost patogeneze srčane slabosti. Istovremeno, analizom promena u koncentracijama sST2 tokom trajanja studije, u poređenju sa GDF-15, dokazano je da sST2 bolje reflektuje promene na miokardu i prognozira gubitak funkcije leve komore. Da li ovakvi nalazi limitiraju mogućnost kliničkog korišćenja GDF-15 ili ostaje mogućnost korišćenja u multimarkerskom pristupu, neophodna su dalja multicentrična i prospektivna istraživanja sa većim brojem pacijenata.

6.2.4. Koncentracije sindekana-1 u hroničnoj srčanoj slabosti

Klinički značaj upotrebe sindekana-1 kod pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću još uvek je predmet kontraverzi. Iako je realizovan određen broj studija koje su za cilj imale dokazivanje prognostičkog potencijala ovog biomarkera u kardiovaskularnim bolestima, nije dokazana njegova superiornost u poređenju sa natriuretskim peptidima [143]. Dodatno je dokazano da bi se sindekan-1 mogao koristiti u multimarkerskom pristupu, kao dodata vrednost postojećim, etabliranim biomarkerima, BNP i NT-proBNP. Na osnovu rezultata našeg istraživanja može se reći da bi sindekan-1 potencijalno bio statistički značajan faktor rizika za smanjene jačine EF u grupi pacijanata sa srčanom slabošću, nezvano za stepen ejeckione frakcije (OR=1,073, $p<0,001$), za povećanje dijametra leve pretkomore

(OR=1,056, p=0,012) i za pojavu miokardne ishemije (OR=0,939, p=0, 012). Pored ovih rezultata, dokazano je da sindekan-1 značajno koreliše sa ehokardiografskim parametrima koji ukazuju na hipertrofiju leve komore, indeksom mase leve komore ($\beta=0,531$, p=0,006) i dimenzijama zadnjeg zida (r=0,595, p=0,002) i septuma (r=0,548, p=0,005), ali samo kod pacijenata sa očuvanom ejekcionom frakcijom. Na osnovu naših rezultata može se izvesti zaključak da bi sindekan-1 mogao da se koristi kao marker za stratifikaciju rizika i praćenje progresije srčane slabosti u populaciji pacijanta sa EF>50%.

Sindekan-1 predstavlja glavnu komponentu glikokaliksa (oblaže lumen krvnih sudova) i očekivano je da povišene koncentracije u plazmi ispitanika indikuju značajnu destrukciju glikokaliksa, odnosno da korelišu sa različitim stepenom endotelne disfunkcije. Ova hipoteza predstavljala je osnovu za dizajn eksperimentalnih modela, u kojima je verifikovano da je sindekan-1 uključen u patogenezu inflamacije i fibroze, nakon oštećenja kardiomiocita. Inicijalno je dokazano da kod pacijenata sa ishemijskom bolešću srca i srčanom slabošću ishemijske etiologije, ne samo da postoji visoka koncentracija sindekana-1 u plazmi, već i da ta koncentracija tesno i inverzno koreliše sa gubitkom funkcije miokarda, a istovremeno i bubrega. Na osnovu ovih rezultata sprovedeno je veliko istraživanje sa pacijentima sa očuvanom EF, gde je dokazano da su visoke koncentracije sindekana-1 kod ispitanika bile značajan prediktor morbiditeta i da se ovaj biomarker, sa pravom, može uvrstiti u prognostičke biomarkere kod pacijenata sa očuvanom ejekcionom frakcijom [237]. Pomenuta studija obuhvatila je 567 ispitanika, kod kojih je tokom randomizacije određena koncentracija sindekana-1, sa medijanom vrednosti 20,1 ng/ml i interkvartilnom razlikom 13,9-27,7 ng/ml. Studija je bila prospektivnog karaktera, tako da su analizirane vrednosti sindekana-1 u plazmi nakon 18-mesečnog praćenja, i to u kontekstu faktora rizika za ponavaljane hospitalizacije i ukupnog (opšteg) mortaliteta. Dokazano je da je postojala pozitivna korelacija između vrednosti natriuretskih peptida i sindekana-1, što je u skladu sa našim rezultatima. Metodom multivarijantne regresione analize, dokazano je postojanje pozitivne korelacije između sindekana-1 i ostalih markera miokardne fibroze i remodelovanja, što je, takođe u korelaciji sa rezultatima ove disertacije. Interakcionom analizom verifikovana je međuzavisnost između jačine ejekcione frakcije i koncentracije sindekana-1 (p=0,047) i da je dupliranje koncentracija sindekana-1 u vezi sa povišenim rizikom za smrtni ishod, ali samo kod pacijenata sa očuvanom EF (HR=2,10, p=0,017). Zaključak je da sindekan-1 može da bude faktor za stratifikaciju rizika kod pacijenata sa očuvanom ejekcionom frakcijom, ukoliko bi se uključio u prognostički model zajedno sa ostalim etabliranim faktorima rizika. Podatak da nije dokazana veza sa markerima inflamacije (visokosenzitivni CRP i IL-6), već

samo sa markerima remodelovanja (galektin-1, sST2, periostin i TGF- β), ukazuje da je sindekan-1 cirkulišući marker patološkog remodelovanja miokarda i da je pogodan za praćenje progresije bolesti. Sa kliničkog aspekta to znači da bi bio koristan marker za identifikaciju pacijenata koji su pod povišenim rizikom za neželjeni ishod bolesti.

Da je sindekan-1 biomarker fibroze miokarda utemeljeno je nakon što su definisani i dokazani njegovi patogenetski mehanizmi. Patofiziološki posmatrano, sindekan-1 je uključen u značajne procese remodelovanja miokarda: ćelijske adhezije, signalizacije, diferencijacije, migracije, stvaranja ekstracelularnog matriksa i metabolizma kalcijuma [238]. Zna se da prevelika aktivacija sistema renin angiotenzin aldosteron predstavlja prekursor fibroze i da stimuliše diferencijaciju miokardnih fibroblasta u miofibroblaste, što dovodi do produkcije i odlaganja kolagena. Dokazano je da je angiotenzin II molekul sa najizraženijim profibrotskim efektom i da funkcioniše preko aktivacije TGF- β -Smad signala [239]. Na eksperimentalnom modelu dokazano je da je sindekan-1 esencijalni medijator TGF- β indukovanom miokardnom fibrozom [144], jer je u zonama miokarda sa izraženom fibrozom detekovana značajna *up regulacija* ekspresije sindekana-1. Istovremeno je dokumentovano da je kod životinja kod kojih je genetskim inženjeringom uklonjen gen za sindekan-1, značajno ublažen stepen postojeće miokardne fibroze nakon infuzije angiotenzina-II. Deficit sindekana-1, nakon aktivacije sistema RAA, dokazano je u vezi sa redukcijom ekspresije kolagena I i III i faktora rasta za kolageno tkivo (CTGF), što su ciljni patogenetski mehanizmi preko kojih TGF- β ispoljava svoj efekat. U kulturi izolovanih kardiomiocita miševa bez gena za sindekan-1 dokazana je smanjena ekspresija kolagena I i faktora rasta za kolagen, kao i smanjenja fosforilacija, odnosno aktivacija Smad sistema, nakon tretmana angiotenzinom II i TGF- β . Analizom rezultata dobijenih na animalnim modelima, zaključeno je da je profibrotski efekat sindekana-1 indukovano aktivacijom sistema RAA, što finalno uslovljava kvantitativne i kvalitativne promene matriksa.

U pomenutoj studiji [237] dokazano je da je prognostički karakter sindekana-1 amplifikovan dodavanjem poznatih faktora rizika, što je označeno kao “*COACH*” model rizika za neželjeni ishod kod pacijenata sa očuvanom EF [240]. Ukoliko se u obzir uzmu pomenute hipoteze o sindekanu-1, kao molekulu koji reflektuje izmenjen metabolizam kolagena (centralni patofiziološki fenomen u HFpEF) [241], kao i da je sindekan-1 biološki uključen u patogenezu srčane slabosti sa očuvanom EF, navodi se na zaključak da bi njegovo serijsko određivanje bilo od značaja u kratkoročnom i dugoročnom praćenju pacijenata. U ranijim studijama dokazana je značajna interakcija između sindekana-1, pola ispitanika i ishoda bolesti [242]. Verifikovano je da su ispitanice ženskog pola, kod kojih je postojala

visoka koncentracija sindekana-1, imale višu stopu neželjenih ishoda bolesti, za razliku od muškog pola, gde ovakva veza nije dokazana. Naše je stanovište da ovakvu interpolnu interakciju treba interpretirati sa oprezom, ukoliko uzmemo u obzir da su podgrupe koje se formiraju na osnovu pola nedovoljno velike za izvođenje ovakvih zaključaka.

Postoje istraživanja čiji publikovani rezultati i zaključci nisu u korelaciji sa pomenutim. Sindekan-1, prema nekim autorima, ima karakter faktora rizika i prediktora za neželjene kardiovaskularne događaje, ali je pretpostavljeno da su visoke koncentracije sindekana-1 protektivnog karaktera. Zaključeno je da su pacijenti, predominantno klasifikovani kao NYHA klasa III/IV, koji su eksprimirali visoke koncentracije sindekana-1, imali manju stopu rehospitalizacija i smrtnog ishoda [243], u periodu praćenja od tri meseca. Pored toga, dokazano je da sindekan-1 pozitivno koreliše sa markerima inflamacije, određivanim za potrebe studije (IL-1 β i IL-6). Pozitivna korelacija sa proinflamatornim citokinima objašnjena je nalazom da je aktivacija sindekana-1 u tesnoj vezi sa stimulisanim metaloproteinazama, koje su indukovane delovanjem proinflamatornih citokina. Ako se postavi inicijalna hipoteza da sindekan-1 reflektuje stepen inflamacije, fibroze i remodelovanja, teško se može zaključiti da visoke koncentracije mogu da impliciraju ka pozitivnom ishodu. Autori ovog istraživanja postavili su pitanje kardioprotektivnog delovanja sindekana-1. Naše je mišljenje da se najverovatnije radi o kompenzatornom, a ne protektivnom ili štetnom efektu sindekana-1. Sindekan-1 je marker difuznog oštećenja endotela i generalizovane endotelne disfunkcije i najverovatnije doznno-zavisno oslikava poremećaj hemodinamike, ali na nju ne utiče. Zaključuje se da je malo verovatno da njegove visoke koncentracije mogu da ukazuju na dobru prognozu i smanjenu stopu hospitalizacije. Relevantno patofiziološko objašnjenje podrazumeva i mogućnost formiranja tkivnog edema, što doprinosi progresiji oštećenja miokarda. Natrijum se vezuje za glikozoaminoglikane, što dovodi do hipertonijske intersticijuma i promocije limfangiogeneze [244, 245]. Svako narušavanje glikozoaminoglikanskog integriteta remeti komplijansu intersticijuma i dovodi do formiranja tkivnog edema [246], uključujući i miokard i tkivnu fibrozu. Ovaj proces učestvuje u nastanku i razvoju komplikacija srčane slabosti, te smo mišljenja da visoke koncentracije sindekana-1 ne mogu biti u vezi sa dobrim ishodom pacijenata. U prilog tome govori i saznanje da je kod pacijenata sa srčanom slabošću dokazana snažna veza između koncentracija sindekana-1 i pojave kardiorrenalnog sindroma tip 1 i visoke stope šestomesečnog mortaliteta [247]. Dokazana je visoka ekspresija sindekana-1 kod pacijenata koji su pre hospitalizacije bili u NYHA III/IV, nego kod onih koji su pripadali NYHA I/II ($p=0,002$) [247], ali nije dokazana korelacija između koncentracija sindekana-1 i BNP, što

nije u skladu sa našim rezultatima. Na našem modelu dokazana je pozitivna i nezavisna korelacija između BNP i sindekana-1. U istoj studiji je dokazano da je sindekan-1 značajan i pouzdan prediktivni faktor intrahospitalnog ($p < 0,001$) i dugoročnog mortaliteta ($p = 0,007$) kod pacijenata sa srčanom slabošću, nevezano od stepena EF, ali ukoliko je kao granična vrednost uzeta koncentracija sindekana-1 u plazmi od 125 ng/ml [247].

Pored istraživanja vezanih za patofiziologiju srčane slabosti, sindekan-1 je ispitivan u modelima infarkcije tkiva, gde je dokazano da je njegova ekspresija povećana u neishemijskoj leziji [248], graničnom pojasu ishemije [148] i u samom polju ishemije [149]. Istovremeno, njegova ekspresija je povećana i u kardiomiocitima eksperimentalnih životinja nakon podvezivanja aorte u periodu od 24h, odnosno nakon opterećenja pritiskom. Smatra se da učestvuje u patogenezi aterosklerotske lezije [249], a dokazana je i njegova povećana ekspresija u serumu pacijenata sa akutnim koronarnim sindromima, uz patofiziološko objašnjenje da oštećenje endotelnog glikokaliksa značajno povećava vulnerabilnost aterosklerotskog plaka [250].

Praćenje progresije srčane slabosti podrazumeva, pored monitoringa srčane funkcije, praćenje rezidualne funkcije bubrega, što je prema nekim autorima, moguće merenjem koncentracije sindekana-1 u plazmi ispitanika [251]. Smatra se da kod pacijenata sa dekompenzacijom srčane slabosti, čak i u slučajevima akutne srčane insuficijencije, porast sindekana-1 u plazmi brže i kvalitetnije oslikava smanjenje funkcije bubrega. Patofiziološki posmatrano, sindekan-1 ne reflektuje smanjenje klirensa kreatinina, već kontinuirano oštećenje endotela, što je inicijalni fenomen u kontinuumu akutnog bubrežnog oštećenja. U poređenju sa aktuelnim markerima koji se ispituju u svrhu pravovremene detekcije akutnog bubrežnog oštećenja (NGAL i KIM-1), pojedina istraživanja su dokazala superiornost sindekana-1, uz preporuku da je prava preventivna mera za očuvanje funkcije bubrega zapravo prevencija oštećenja glikokaliksa [247].

Važno je napomenuti da je pored ekspresije u miokardu, dokazana i njegova ekspresija u plućima, gde je takođe definisan kao profibrotski molekul [252], ali i u različitim tipovima tumorskog tkiva, gde je evaluiran njegov prediktivni potencijal [143]. Koncentracije sindekana-1 takođe su povišene u hroničnim stanjima: šećernoj bolesti [253] i stanjima akutnih lezija: septičkom šoku, ishemijsko-reperfuzionim oštećenjima ili snažnoj adrenergičkoj stimulaciji [254, 255]. Ova saznanja smanjuju specifičnost sindekana-1 kao ekskluzivnog miokardnog biomarkera, a veliki broj patoloških stanja u kojima je njegova ekspresija značajna, smanjuje verovatnoću njegovog uvođenja u kliničku praksu. Iz tih razloga svako tumačenje koncentracije sindekana-1 kod pacijenata sa srčanom

insuficijencijom zahteva detaljno uzimanje anamneze u cilju otkrivanja drugog potencijalnog izvora sindekana-1.

Pretpostavka je da je oštećenje endotela jedan od ključnih patogenetskih mehanizama u inicijaciji i progresiji srčane slabosti i da od stepena tog oštećenja zavisi stopa morbiditeta i mortaliteta obolelih [143], tako da je, sa kliničkog aspekta, opravdano merenje i praćenje promena koncentracija sindekana-1 kod obolelih. Analizom naših rezultata ne može mu se dati prednost u odnosu na ostale biomarkere miokardnog remodelovanja, kao ni u odnosu na BNP, ali postoji mogućnost njegovog uvođenja u multimarkerski pristup, gde bi se smatrao biomarkerom značajnim za praćenje pacijenata i stratifikaciju rizika. Za dokazivanje ove hipoteze neophodno je sprovođenje serijskog merenja u prospektivnoj studiji sa većim brojem pacijenata.

6.3. Korelacija biomarkera miokardnog remodelovanja i BNP sa ehokardiografskim parametrima stratifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije

Između koncentracija ispitivanih biomarkera i određenih ehokardiografskih parametara metodom korelacione analize dokumentovano je nekoliko klinički relevantnih zaključaka. Prvenstveno je dokazano da se koncentracije biomarkera miokardnog remodelovanja, kao i BNP značajno razlikuju između pacijenata klasifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije. Dokumentovano je da vrednosti koncentracija u plazmi pokazuju određeni obrazac prema kategoriji ejeckione frakcije, tačnije koncentracije svih ispitivanih biomarkera bile su najviše kod pacijenata sa redukovanom ejeckionom frakcijom, a najniže su kod pacijenata sa očuvanom ejeckionom frakcijom. Pacijenti sa graničnom ejeckionom frakcijom, EF 40-50%, imali su intermedijerni biohemijski profil. Na osnovu tumačenja rezultata dobijenih ehokardiografskim pregledom, ova grupa pacijenata (HFmrEF), takođe se našla između pacijenata sa redukovanom i očuvanom ejeckionom frakcijom, što znači da su imali i intermedejerni ehokardiografski profil. Analizom koncentracija biomarkera prema patofiziološkom mehanizmu koji je dominantan u patogenezi srčane slabosti, biomarkeri miokardnog remodelovanja od najvećeg su značaja kod ispitanika sa očuvanom ejeckionom frakcijom, zahvljujući značajnoj i pozitivnoj korelaciji sa većinom ehokardiografskih parametara, korišćenih za procenu hipertrofije leve komore. Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da kod pacijenata sa EF>50 % postoji značajna profibrotska

aktivnost. Sa druge strane, koncentracija u plazmi BNP-a statistički značajno i pozitivno je korelisala sa vrednostima ejeckione frakcije, indeksa mase leve komore i end-sistolnog i end-dijastolnog dijametra leve komore, ali kod ispitanika klasifikovanih kao srčana slabost sa redukovanom ejeckionom frakcijom. U istoj podgrupi ispitanika (HFrEF), metodom multivarijantne analize dobijeno je da je koncentracija sST2 u plazmi statistički značajno korelisala sa vrednostima indeksa mase leve komore. Koncentracije GDF-15 statistički značajno i negativno su korelisale sa ehokardiografskim pokazateljem dijastolne disfunkcije (E/A), u podgrupama ispitanika sa redukovanom i očuvanom ejeckionom frakcijom.

Remodelovanje miokarda predstavlja očekivani patofiziološki fenomen tokom progresije srčane insuficijencije, najčešće nastaje usled razvoja intersticijske fibroze i hipertrofije leve komore i neminovno vodi ka pogoršanju funkcije miokarda [256]. Hipertrofija leve komore, zajedno sa porastom mase leve komore predstavlja nezavisni prediktor kardiovaskularnog mortaliteta i prevremenog smrtnog ishoda u populacijskim studijama, naročito sa ispitanicima sa hroničnom srčanom slabošću [257, 258]. Iz tih razloga neophodno je praćenje svih parametara koji bi blagovremeno ukazali na nastanak i/ili progresiju hipertrofije leve komore. Biomarkeri miokardnog remodelovanja, sST2, galektin-3, GDF-15 i sindekan-1 poseduju najbolji potencijal za detekciju i praćenje hipertrofije leve komore, o čemu svedoči veliki broj publikacija i saopštenja vezanih za njihovo određivanje i prognostički značaj kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom.

Predložene su granične vrednosti za koncentracije sST2 i galektina-3 u plazmi, koje bi predstavljale faktore rizika za opšti morbiditet i mortalitet [185] u populaciji ispitanika sa srčanom slabošću. Dokumentovano je da ovi biomarkeri mogu da se koriste kao prediktori hospitalizacije i smrtnog ishoda, naročito ukoliko bi se njihove vrednosti koristile u kombinaciji sa koncentracijama BNP [184]. Istovremeno, prema ESC vodiču, procena je da ne postoji dovoljno relevantnih i klinički opravdanih dokaza za njihovo uključivanje u svakodnevnu praksu [1]. Rezultati naše studije ukazuju da bi određivanje i praćenje ovih biomarkera u cirkulaciji moglo biti vrlo relevantno, naročito u kategoriji ispitanika sa očuvanom ejeckionom frakcijom. Istovremeno, merenje koncentracija sST2 i GDF-15 moglo bi da bude od značaja kod ispitanika sa redukovanom ejeckionom frakcijom.

Najznačajniji patofiziološki efekat koji sST2 ostvaruje inhibicijom vezivanja IL-33 za membranu ST2 jeste sinteza kolegena, što ga čini profibrotski orijentisanim molekulom. Istovremeno, galektin-3 poreklom iz stimulisanih makrofaga, povećava aktivaciju fibroblasta i takođe učestvuje u promociji sinteze kolagenih vlakana, dodatno promovišući profibrotski efekat [123, 259]. Rezultati naše studije ukazuju da postoji snažna i pozitivna veza između

oba biomarkera i vrednosti indeksa mase leve komore i dimenzija zadnjeg zida i septuma u podgrupi ispitanika sa očuvanom ejakcijom frakcijom, implicirajući vrlo verovatnu ulogu ovih molekula u patogenezi hipertrofije miokarda leve komore. Rezultati velikog broja objavljenih publikacija ukazuju da bi serijsko merenje ova dva biomarkera bilo veoma značajno za praćenje toka bolesti u podgrupi HFpEF i da bi se na osnovu njihovih koncentracija u plazmi mogla dodatno identifikovati podgrupa pacijenata koja bi imala najbolji odgovor prilikom uvođenja antifibrotske terapije, što je i dokazano u animalnom modelu [34]. Neki istraživači promovišu stav da bi određivanje galektina-3, kao najpotentnijeg biomarkera miokardnog remodelovanja, trebalo da bude obavezno u svim studijama koje bi se bavile stratifikacijom rizika i prognozom u HFpEF podgrupi [260]. Na osnovu rezultata našeg istraživanja zaključuje se o racionalnoj opravdanosti tako dizajniranih studija, jer je dokazana nezavisna korelacija između galektina-3 u plazmi i indeksa mase leve komore ($p < 0,001$). U multivarijantnom modelu, nakon prilagođavanja za određene varijable, (godine, indeks telesne mase i koncentracije ostalih biomarkera u plazmi) koncentracija galektina-3 i dalje je značajno i pozitivno korelirala sa parametrima koji indikuju postojanje hipertrofije leve komore, u podgrupi ispitanika sa EF > 50%. Postoje studije koje su dokazale da su povišene vrednosti galektina-3 u HFpEF snažno korelirale sa lošim ishodom, nezavisno od koncentracija BNP-a [195] i da galektin-3 eksprimira nezavisan prognostički značaj, nezavisno od kliničkog statusa ispitanika [124]. Dodatno je dokazano da merenje galektina-3 ne pokazuje superiornost u poređenju sa merenjem natriuretskih peptida ili sST2 prilikom određivanja opšteg mortaliteta [196], ali da je kombinacija galektina-3 sa natriuretskim peptidima pokazala superiornost u predikciji rizika u odnosu na bilo koji biomarker koji je određivan samostalno. Za galektin-3 je dokazano da je prediktor mortaliteta u populaciji pacijenata sa srčanom insuficijencijom, pri čemu je snažnija veza dokazana u podgrupi ispitanika sa očuvanom ejakcionom frakcijom u poređenju sa onima sa EF < 40% [197], što je u skladu sa našim rezultatima. Naša studija, s obzirom na to da je dizajnirana kao studija preseka, ne daje informacije vezane za prediktivne vrednosti ispitivanih biomarkera prema kategoriji ejakcione frakcije, ali ukazuje na postojanje snažne i pozitivne korelacije između galektina-3 i hipertrofije leve komore, a samim tim i miokardnog remodelovanja. Na taj način se postavlja hipoteza o galektinu-3 kao potencijalnom faktoru rizika za progresiju srčane slabosti sa očuvanom ejakcionom frakcijom, pri čemu su slične studije već realizovane [209]. Treba napomenuti da postoji značajan faktor koji uslovljava, ograničava ili onemogućava korišćenje galektina-3 u svakodnevnom kliničkom radu, a to je da galektin-3 nije specifičan biomarker miokardne fibroze, (nije organ-specifičan) već ukazuje na postojanje profibrotskog

miljea u načelu. Limitirajući faktor za njegovu upotrebu u rutinskom radu ogleđa se u tome što bi vrednosti galektina-3 bile povišene kod pacijenata sa fibrozom različitih tkiva, te bi time *a priori* pacijenti sa hroničnom bubrežnom bolešću, cirozom jetre ili hroničnom opstruktivnom bolešću pluća bili kandidati za neopravđano visoke vrednosti ovog biomarkera, čak i u odsustvu srčane slabosti [185].

Povišene vrednosti sST2 u plazmi takođe impliciraju aktivaciju profibrotskih mehanizama. U prilog tome govore i rezultati brojnih studija kojima je dokazana pozitivna asocijacija između sST2 u cirkulaciji i parametara koji ukazuju na ozbiljnost i progresivni karakter bolesti u podgrupi pacijenata sa očuvanom EF (>50%). Pozitivna korelacije je dokumentovana između sST2 u plazmi i varijabli: dijametra leve pretkomore, E/e⁻, jačine glomerulske filtracije i koncentracije u plazmi NTproBNP [185]. Treba napomenuti da je ista studija dokazala da postoji pozitivna korelacija između galektina-3 i parametara koji ukazuju na progresiju bolesti (eGFR i NTproBNP), ali ne i sa parametrima dobijenih ehokardiografskim pregledom, za razliku od našeg modela. Istraživači su na osnovu takvih rezultata zaključili da se praćenjem koncentracija sST2 može pratiti odgovor na primenjenu terapiju. Određene studije sugerisale su da se sST2 može određivati nezavisno od EF i da predstavlja nezavisni prediktor mortaliteta u populaciji srčane insuficijencije [261]. Kod pacijenata sa kombinacijom arterijske hipertenzije i EF>50%, serumske vrednosti sST2 bile su nezavisni prediktor za prognozu stabilne bolesti [186]. Ista studije je dokazala da su koncentracije sST2 u pozitivnoj korelaciji sa dijastolnom disfunkcijom i da su bile najviše kod pacijenata sa najizraženojom dijastolnom disfunkcijom, odnosno sa vrednostima E/e⁻>15. Na isti način, nakon multivarijantnog prilagođavanja dokazano je da su koncentracije sST2 u plazmi nezavisno korelisale sa postojanjem HFpEF. Na osnovu naših rezultata plazmatske vrednosti sST2 pozitivno su korelisale sa indeksom mase leve komore i dijametrima zadnjeg zida i septuma, ali ne i sa parametrom za procenu dijastolne disfunkcije (E/A). Istovremeno, metodom multivarijantne analize dokazano je da postoji snažna korelacija između sST2 i indeksa mase leve komore, ali kod pacijenata sa EF<40%. Na osnovu naših rezultata može se govoriti o širem spektru potencijalnih indikacija za određivanje sST2 kod pacijenata sa očuvanom, ali i sa redukovanom ejakcionom frakcijom. Različita prognoza usled identičnog terapijskog pristupa u podtipovima srčane insuficijencije (HFpEF vs. HFfrEF) ukazuje na to da se značajno razlikuju prema patogenezi i da ih karakterišu divergentni patofiziološki mehanizmi, što implicira ka mogućem uključivanju biomarkera miokardnog remodelovanja u procese stratifikacije rizika i procenu progresije bolesti, predominantno u populaciji pacijenata sa EF>50%.

Na osnovu rezultata naše studije dokazano je i postojanje pozitivne korelacije između koncentracija GDF-15 u plazmi i indekana-1 sa indeksom mase leve komore i dimenzijama zadnjeg zida i septuma kod pacijenata sa očuvanom ejekcionom frakcijom, na sličan način kao i galektin-3 i sST2. Istovremeno, dokazana je i snažna korelacija između koncentracije GDF-15 i parametra dijastolne disfunkcije (E/A), u obe podgrupe ispitanika (EF>50% i EF<40%). GDF-15, primarno predstavlja marker inflamacije, ali se veliki broj istraživača slaže da je istovremeno i značajan biomarker miokardnog remodelovanja i prema rezultatima nekoliko studija potencijalno predstavlja marker dijastolne disfunkcije u podgrupi pacijenata sa očuvanom ejekcionom frakcijom. Dokazana je pozitivna korelacija između GDF-15 u plazmi sa parametrima dijastolne disfunkcije (E/e⁻) [228, 262], što je u skladu sa našim rezultatima, mada je u našem modelu dijastolna disfunkcija izražena odnosom E/A. GDF-15 predstavlja biomarker koji se u fiziološkim uslovima ne nalazi u tkivu miokarda, ali je njegova povećana ekspresija dokazana u eksperimentalnom modelu sa ciljem inhibicije apoptoze, hipertrofije kardiomiocita i miokardnog remodelovanja [221]. Istovremeno, dokazana je njegova povećana ekspresija u endotelnim i glatkomišićnim ćelijama krvnih sudova, adipocita i makrofaga [228]. Naši rezultati nisu dobijeni patohistološkim uzorkovanjem tkiva miokarda, već su dobijeni merenjem solubilnih proteina u plazmi ispitanika, ali na posredan način korelišu sa rezultatima pomenutih istraživanja. Dokazana pozitivna korelacija između parametara koji ukazuju na hipertrofiju leve komore i snažna i negativna korelacija između GDF-15 i dijastolne disfunkcije ukazuju na to da su povišene vrednosti GDF-15 najverovatnije odraz različitih formi stresa ili insuficijencije miokarda: hipertrofije i/ili dijastolne disfunkcije. Dokazano je da kombinacijom različitih biomarkera u kardiovaskularnoj patologiji, uključujući sST2 i visokosenzitivne troponine, kombinacija natriuretskih peptida i GDF-15 pokazala je najznačajniji diskriminatorski potencijal u diferencijaciji pacijenata sa očuvanom i redukovanom ejekcionom frakcijom. Istovremeno, određivanje koncentracija GDF-15 u plazmi omogućilo je diferencijaciju HFpEF u odnosu na kontrolnu grupu, na identičan način kao i natriuretski peptidi [228]. Istraživači iste studije dali su predloge koje bi bile granične vrednosti za GDF-15 (<879 pg/ml) sa visokom senzitivnošću (92%) i specifičnošću (84%) za postavljanje dijagnoze HFpEF. Treba napomenuti i da je slična studija takođe predložila optimalne granične vrednosti za GDF-15 u plazmi (1169 pg/ml) za postavljanje dijagnoze HFpEF [227]. Još uvek nema dovoljno dokaza za uvođenje ovih kriterijuma u rutinsku kliničku praksu za postavljanje dijagnoze srčane insuficijencije sa očuvanom ejekcionom frakcijom, niti za diferenciranje tipova srčane slabosti. Dosadašnje studije kojima su merene koncentracije GDF-15 u plazmi ispitanika sa

očuvanom i redukovanom EF u najvećem broju su dokazale da su evaluirane koncentracije značajno više kod pacijenata u poređenju sa kontrolom, ali da se ne razlikuju značajno između specifičnih tipova srčane insuficijencije, te da se ne mogu koristiti u svrhu diferencijacije. Iz tih razloga predloženo je da bi određivanje solubilnog GDF-15 moglo da služi u svrhu identifikacije pacijenata kod kojih postoji povišeni rizik za smrtni ishod ili za ponovljeno bolničko lečenje, u populaciji ispitanika sa srčanom slabošću, nevezano za jačinu EF [263]. Na osnovu rezultata studije koja je dala prioritet merenju koncentracija GDF-15 kod pacijenata sa redukovanom EF, dokazano je da su inicijalno visoke koncentracije GDF-15 značajno i pozitivno korelisale sa dugoročnim i lošim kardiovaskularnim ishodom. Određivanje i praćenje koncentracija GDF-15 služilo bi stratifikaciji rizika kod pacijenata sa redukovanom ejectionom frakcijom [234]. Neslaganje između naših rezultata, (gde se prednost daje određivanju GDF-15 u HFpEF) i rezultata pomenute studije (HFrEF) moglo bi se objasniti na dva načina. Inicijalno je dokazano da stepen fibroze i hipertrofije leve komore stoje u pozitivnoj korelaciji sa plazmatskim vrednostima GDF-15 u HFpEF, na osnovu čega je GDF-15 predložen za biomarker miokardnog remodelovanja, centralnog patofiziološkog fenomena u srčanog slabosti sa očuvanom ejectionom frakcijom. Nakon što je dokazano da povišena koncentracija u plazmi GDF-15 predstavlja tkivni odgovor na ishemiju ili hipoksiju i ukoliko se pretpostavi da je najčešći etiološki faktor za nastanak srčane slabosti hronična ishemija, odnosno hronična koronarna bolest (na našem uzorku 79,2% ispitanika) sasvim je razumljivo da će koncentracija GDF-15 biti najviša u ovoj podgrupi pacijenata. Dokazano je da GDF-15 sekretuju kardiomiociti ili fibroblasti u zavisnosti od stimulusa i da koncentracija GDF-15 u plazmi reflektuje različite patofiziološke mehanizme, nevezano od mase leve komore [232]. Na osnovu našeg uzorka, može se dati prioritet određivanju koncentracija GDF-15 u HFpEF, sa ciljem praćenja progresije srčane slabosti, zahvaljujući snažnoj vezi sa ehokardiografskim parametrima hipertrofije leve komore. Što je još važnije, naši rezultati ukazuju da bi GDF-15 mogao da oslikava dijastolnu disfunkciju, zbog snažne i negativne korelacije sa E/A, nevezano za ejectionu frakciju (HFpEF i HFrEF).

Rezultati dobijeni korelacionom analizom između koncentracija sindekana-1 u plazmi i ehokardiografskih parametara, gotovo su identični kao i rezultati ostlih biomarkera miokardnog remodelovanja. Dokazana je snažna i pozitivna korelacija između sindekana-1 i indeksa mase leve komore i dijametara zadnjeg zida i septuma, ali samo kod pacijenata sa očuvanom ejectionom frakcijom. Studije su dokazale da koncentracije sindekana-1 pozitivno korelišu sa biomarkerima miokardnog remodelovanja, sST2 i galektinom-3 i da su u nazavisnoj korelaciji sa kliničkim ishodom, prilikom praćenja u periodu od 18 meseci.

Identični rezultati dobijeni su i prilikom praćenja opšteg mortaliteta u periodu od tri godine, u grupi pacijenata sa HFpEF, ali ne i kod HFrEF. Pored toga, dokazano je i da se koncentracije sindekana-1 u plazmi mogu koristiti za stratifikaciju rizika kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom, sa istom značajnošću kao i natriuretski peptidi ili određeni klinički parametri [148]. Dokumentovano je i da je povišena koncentracija sindekana-1 u plazmi nakon infarkta miokarda ili kardiogenog šoka nezavisni prediktor kratkoročnog mortaliteta [264]. Vrlo skora istraživanja dokazala su negativnu korelaciju između koncentracija sindekana-1 u plazmi i mortaliteta usled srčane slabosti ili hospitalnog lečenja nezavisno od EF, što je dovelo do hipoteze o protektivnoj ulozi sindekana-1 u patogenezi hronične srčane insuficijencije [243]. Na osnovu naših rezultata ne može se sa sigurnošću govoriti o patogenetskoj ulozi sindekana-1 u progresiji srčane slabosti, već samo o potencijalnoj ulozi u praćenju pacijenta sa očuvanom ejekcionom frakcijom. Porast koncentracije ovog biomarkera u stanjima ko što su ishemija i reperfuzija [265] može se smatrati protektivnim. U hroničnim stanjima, sa patofiziološkog aspekta, povišene vrednosti sindekana-1 verovatno reflektuju profibrotski milje i povećanu sintezu kolagena, nego da oslikavaju proces ishemije. Tumačenje da li je ovaj porast koncentracije sindekana-1 od kliničkog značaja i da li može pravovremeno da ukaže na pacijente kod kojih postoji visok rizik za remodelovanje miokarda, naročito kod pacijenata sa očuvanom ejekcionom frakcijom, zahteva dodatna pojašnjenja i prospektivne studije. Rezultati našeg istraživanja ukazuju da bi određivanje i praćenje plazmatskih koncentracija sindekana-1 bilo indikovano u grupi pacijenata sa očuvanom ejekcionom frakcijom, najverovatnije za stratifikaciju rizika i praćenje progresije bolesti.

B-natriuretski peptid je za sada jedini etabilirani marker za postavljanje dijagnoze i praćenje pacijenata sa srčanom slabošću, nezavisno od jačine EF. Njegova uloga u patofiziologiji ili fenotipizaciji podtipova srčane slabosti, naročito pacijenata sa očuvanom ejekcionom frakcijom još uvek nije precizno definisana [34]. Na osnovu rezultata naše studije ne mogu se izvesti značajni zaključci o ulozi BNP u patogenezi srčane slabosti sa očuvanom ejekcionom frakcijom, jer nije dokazana značajna korelacija između BNP-a i evaluiranih ehokardiografskih parametara u HFpEF. Nasuprot tome, dokazana je snažna korelacija između BNP i sledećih ehokardiografskih parametara: indeksa mase leve komore EF, end-sistolne dimenzije leve komore, end-dijastolne dimenzije leve komore, ali samo kod pacijenata sa redukovanom EF. Tumačenje ovih rezultata treba bazirati na patofiziološkom efektu BNP-a koji pre svega odražava istezanje miokarda, koje postoji u HFrEF, a ne strukturne promene, dokumentovane u HFpEF [38, 175]. Predloženo je da se BNP ipak može koristiti i u podgrupi pacijenata sa očuvanom EF i to za identifikaciju i diferencijaciju

pacijenata koji su pod povećanim rizikom za neželjeni kardiovaskularni događaj [34, 260]. Dodatno je dokazano da su plazmatski nivoi u HFpEF subgrupi pacijenata pozitivno korelisali sa stepenom dijastolne disfunkcije leve komore [262, 266], mada na našem uzorku nije dokazana statistički značajna korelacija između BNP-a i E/A. Takođe je predloženo da bi merenje BNP-a uvek trebalo izvoditi uporedo sa ehokardiografskim i kliničkim pregledom, sa ciljem što validnijeg nalaza [38, 175]. Značaj ehokardiografskog nalaza kod pacijenata sa očuvanom EF je nesumnjiv, jer je dokazano da su indeks mase leve komore i dijastolna disfunkcija snažni prediktori za hospitalizaciju pacijenata, kardiovaskularni mortalitet i srčani zastoj i da su njihove prediktivne vrednosti specifičnije od kliničkih i laboratorijskih parametara [267]. U skladu sa tim, a na osnovu naših rezultata, određivanje koncentracija biomarkera miokardnog remodelovanja koji pozitivno i snažno korelišu sa indeksom mase leve komore i dijametrima septuma i zadnjeg zida, može biti veoma značajno za stratifikaciju rizika i praćenje progresije bolesti, ali samo kod pacijenata sa očuvanom EF.

Pacijenti sa graničnom ejskcionom frakcijom (EF 40-50%) imali su interemedijarni ehokardiografski nalaz, za najveći broj evaluiranih ehokardiografskih parametara i biohemijski profil, kada su bile u pitanju plazmatske koncentracije BNP-a i biomarkera miokardnog remodelovanja. Na osnovu rezultata o srčanoj insuficijenciji sa graničnom EF može se govoriti kao o posebnom biohemijskom i ehokardiografskom entitetu srčane slabosti. Istovremeno, nije dokazana statistički značajna korelacija između ehokardiografskih parametara i ispitivanih biomarkera, te se, na osnovu našeg ispitivanog uzorka, ne može preporučiti određivanje ovih biomarkera kod pacijenata sa graničnom EF. Da li ova kategorija srčane slabosti predstavlja poseban klinički entitet i samim tim opravdava najnoviju klasifikaciju srčane slabosti na tri kategorije ili je samo tranziciona forma bolesti, između redukovane i očuvane ejskcionne frakcije ostaje nerazjašnjeno.

Više plazmatske koncentracije biomarkera miokardnog remodelovanja snažno i nezavisno su korelisale sa indikatorima hipertrofije leve komore (porast indeksa mase leve komore, dijometri zadnjeg zida i septuma) u HFpEF. Istovremeno, koncentracije BNP u plasmu snažno i nezavisno su korelisale sa vrednostima indeksa mase leve komore, EDD, ESD i EF, ali u podgrupi pacijenata sa EF<40%.

Postoji opravdana potreba za identifikacijom biomarkera koji bi brzo, jednostavno, pravovremeno, neinvazivno i jeftino mogli da dijagnostikuju postojanje hipertrofije leve komore, da se njihovim praćenjem dobija uvid u progresiju bolesti ili odgovor na primenjeni terapijski pristup, kao i da se omogući stratifikacija rizika i adekvatna prognoza pacijenta. Na osnovu naših rezultata biomarkeri miokardnog remodelovanja poseduju potencijal indikatora

hipertrofije leve komore, ali su istraživanja prospektivnog karaktera, sa većim brojem ispitanika, neophodna za dalje dokazivanje takve pretpostavke.

6.4. Fenotipizacija pacijenata sa očuvanom ejekcionom frakcijom

Kategorija srčane slabosti sa očuvanom ejekcionom frakcijom sublimira kardio-metaboličke poremećaje i proinflatrona stanja, kombinovanih sa brojnim pridruženim bolestima i starijom životnom dobi [34]. Značajna heterogenost ove kategorije komplikuje terapijske protokole i onemogućava uniformnost u lečenju pacijenata, [268], što dovodi do neprimereno visokog stepena morbiditeta i mortaliteta u HFpEF, praktično ih izjednačavajući onima kod pacijenata sa redukovanom ejekcionom frakcijom [269]. Uvidom u etiologiju HFpEF, zaključuje se da se kao najznačajniji faktori izdvajaju arterijska hipertenzija, koronarna bolest, atrijska fibrilacija, šećerna bolest, gojaznost i hronična bubrežna bolest [270]. Ovi komorbiditeti nisu ekskluzivni samo za kategoriju pacijenata sa očuvanom ejekcionom frakcijom, pa je neminovno definisanje što preciznijih patofizioloških mehanizama i biohemijskog profila, koji bi odgovarali kliničkim karakteristikama ovih pacijenata [34]. Cilj ovakve patofiziološko-biohemijsko-kliničke fenotipizacije bio bi određivanje najkorisnijeg terapijskog protokola u zavisnosti od fenotipa HFpEF. Iz tih razloga uvedene su nove, moderne statističke metode na osnovu kojih se, korišćenjem različitih varijabli, mogu identifikovati i definisati različiti fenotipovi unutar jedne kategorije srčane slabosti (HFpEF) [17, 267, 271, 272].

Na osnovu rezultata jedne od prvih statističkih metoda, nazvane “klaster” analizom i aplikovane na grupu pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću [272] definisana su četiri različita “klastera” (tipa) srčane slabosti. Novodobijeni klasteri međusobno su se razlikovali prema godinama, polu, rasi, simptomima, komorbiditetima, etiologiji, socioekonomskom statusu, kvalitetu života, parametrima kardiopulmonalnih ispitivanja i koncentracijama ispitivanih biomarkera (sST2, NT-proBNP i galektin-3). Ova studija sa velikim brojem ispitanika sa srčanom insuficijencijom, dovela je do zaključka da su pacijenti u okviru svog fenotipa drugačije odgovarali na primenjenu terapiju vežbanjem, što je ukazalo na potrebu fenotipizacije pacijenata sa srčanom slabošću. Pored toga, pokrenuto je vrlo značajno pitanje vezano za ejekcionu frakciju leve komore kao jedinog parametra za fenotipizaciju srčane insuficijencije. Tumačenjem rezultata pomenute studije, pokazano je da je EF leve komore

bila samo jedna od brojnih varijabli koje su bile statistički identične između svih obrađenih ispitanika sa srčanom slabošću i nakon što su na osnovu drugih parametara bili podeljeni u četiri različita fenotipa. Limitirajući faktor studije je taj što su istraživanjem obuhvaćeni samo pacijenti sa EF<35%. Istovremeno, broj ispitivanih varijabli (45) koje su bile uključene u statistički model fenotipizacije čini da se rezultati mogu interpretirati u kliničkom kontekstu. Dodatni limitirajući faktor za ovakvu fenotipizaciju pacijenata sa srčanom slabošću bio je taj što je kao osnov za klasifikaciju korišćena simptomatologija bolesti, umesto odgovarajućeg patofiziološkog mehanizma [271]. Najveći broj autora slaže se da fenotipizaciju srčane insuficijencije, ali i bilo kog drugog patološkog stanja, treba utvrditi na osnovu definisanih patofizioloških mehanizama i biohemijskog profila, a ne na osnovu simptoma bolesti ili kliničke prezentacije.

Druga studija koja je uključila pacijente sa očuvanom EF, definisala je dva klastera pacijenata, unutar primarne kliničke grupe (HFpEF), retrospektivno analizirajući 11 kliničkih parametara. Pacijenti su u okviru svoje HFpEF podgrupe dalje bili podeljeni u šest fenotipova, između kojih je postojala statistički značajna razlika u preživljavanju [17]. Finalno je zaključeno da je stopa preživljavanja u okviru različitih fenotipova bila različita i da se fenotipovi mogu identifikovati korišćenjem kliničkih karakteristika ispitanika koji mogu da se dobiju rutinskim pregledom. Klinički značaj ovakve klasifikacije ispitanika ogleda se u tome što se kombinacijom različitih parametara, dostupnim i lekarima opšte prakse, mogu identifikovati kategorije pacijenata, koje impliciraju ka određenim kliničkim ishodima, s obzirom da nije moguće izračunati *hazard ratio* za sve kombinacije kliničkih karakteristika [17]. Kombinacija komorbiditeta kao što su šećerna bolest, anemija, gojaznost i hronična bubrezna bolest povećava stepen hronične inflamacije i endotelne disfunkcije, što su patogenetski faktori u nastanku hipertrofije leve komore i posledično progresiji srčane slabosti. Slična, populacijski manja studija, nakon analize 67 kontinuiranih varijabli, iz kliničkog, ehokardiografskog, elektrokardiogramskog i biohemijskog aspekta, potvrdila je postojanje fenotipova unutar kategorije srčane insuficijencije sa očuvanom EF [273]. Na osnovu objavljenih rezultata zaključeno je da postoje tri različita fenotipa unutar HFpEF, sa odgovarajućim komorbiditetima, patofiziološkim mehanizmima i prognozom, koji se statistički značajno razlikuju međusobno. Studija je dokumentovala da uprkos izuzetnoj heterogenosti koja postoji unutar kategorije pacijenata sa očuvanom EF, ovaj tip srčane slabosti se može dodatno podeliti na tri ekskluzivna fenotipa, sa statistički značajnim razlikama između identifikovanih patofizioloških mehanizama, faktora rizika, terapijskih protokola ili prognostičkih faktora. Istovremeno je dokazano da se na osnovu kombinacije

kliničkih karakteristika, ehokardiografskog i laboratorijskog nalaza, mogu vrlo precizno definisati patofiziološki mehanizmi uključeni u progresiju srčane insuficijencije

Pojedini autori dali su prednost biohemijskom profilisanju obolelih u odnosu na profilisanje na osnovu kliničkih karakteristika, zahvaljujući činjenici da pacijenti mogu da fenotipski izgledaju slično ili isto, ali da i pored toga imaju drugačiji odgovor i prognozu usled primenjene terapije [271]. Vrlo skorašnja studija, koja je istraživanjem obuhvatila pacijente sa redukovanom ejakcionom frakcijom, identifikovala je i definisala šest fenotipova pacijenata (“endotipova”), korišćenjem 92 etablirana biomarkera, iz različitih patofizioloških kategorija. Svaki od šest identifikovanih fenotipova imao je različite karakteristike, stepen hospitalizacije, stopu mortaliteta ili odgovor na terapiju. Prednost biohemijskog profilisanja pacijenata (na osnovu koncentracija u plazmi različitih biomarkera) ogleda se u tome što se merenjem koncentracija biomarkera oslikavaju različiti biološki procesi u tačno određenom vremenskom trenutku, uz istovremeno praćenje individualnog biološkog odgovora [271]. Takođe je dokazano da su pacijenti kod kojih je odabir terapije bio baziran na osnovu biohemijskog profila, a ne na osnovu kliničkih varijabli, imali značajno bolji klinički ishod [271]. Najznačajniji zaključak ove studije bio je da je fenotipizaciju pacijenata moguće uraditi na osnovu malog broja varijabli ili biomarkera, koji se koriste u okviru rutinskog pregleda pacijenata, što omogućava i lekarima u primarnoj zdravstvenoj zaštiti da za potrebe boljeg pregleda pacijenata urade njihovu fenotipizaciju. Na sličan način, naša studija je dizajnirana tako da se na osnovu merenja koncentracija biomarkera miokardnog remodelovanja, mogu definisati različiti fenotipovi srčane insuficijencije. Iz tih razloga, logično je bilo određivanje koncentracija biomarkera miokardnog remodelovanja, s obzirom da je dokazano da su intersticijska fibroza i miokardna hipertrofija osnovna patofiziološka obeležja srčane insuficijencije sa očuvanom EF [241]. Rezultati dobijeni metodom aglomerativne klaster analize, odnosno na osnovu dendrograma dobijenog na osnovu koncentracija biomarkera miokardnog remodelovanja, (ali ne i koncentracija BNP-a), pokazali su da u okviru naše ispitivane populacije pacijenata sa EF>50%, postoje dva fenotipa, nazvani “remodelovani” i “neremodelovani klaster”. Dobijeni klasteri inicijalno su se značajno razlikovali na osnovu koncentracija biomarkera miokardnog remodelovanja ($p<0,001$ za sve biomarkere), dok nije postojala statistička značajnost u koncentraciji BNP. Daljom analizom pokazano je da postoje značajne razlike između kliničkih varijabli, tačnije između pacijenata koji su imali prethodni infarkt miokarda, naročito sa ST-elevacijom, ali i anemiju. Takođe je dokazano da između fenotipova postoji statistička razlika u različitim ehokardiografskim varijablama: indeksu mase leve komore i dimenzijama zadnjeg zida i

interventrikularnog septuma. Zaključno, poređenjem podataka dobijenih metodom fizičkog opterećenja dobijena je značajna razlika između broja intermedijernih pauza, trajanja dužeg od 2 sekunde. Iako je postojala razlika u zastupljenosti atrijalne fibrilacije, koja je bila nešto više zastupljena kod pacijenata sa fenotipom “remodelovanog klastera”, nije bila statistički značajna, te ovi podaci nisu dalje obrađivani niti analizirani.

Rezultati ovakve fenotipizacije ukazuju na nekoliko značajnih kliničkih implikacija. Biohemijsko profilisanje pacijenata (na našem uzorku) omogućilo je da vrlo heterogena grupa pacijenata sa očuvanom ejectionom frakcijom bude podeljena na dve klinički značajne podgrupe u zavisnosti od prisustva koronarne bolesti. Time je naglašen značaj ishemijske u patogenezi srčane insuficijencije sa očuvanom ejectionom frakcijom. Ukoliko se zna da od 35 do 60% HFpEF pacijenata ima koronarnu bolest [274, 275] dijagnostički protokoli usmereni ka detekciji lezija trebalo bi da budu deo rutinske dijagnostike ove kategorije pacijenata, naročito pošto se zna da kod jedne trećina pacijenata sa EF>50% dijagnoza koronarne bolesti ne može da se postavi neinvazivnom dijagnostikom, čak i u prisustvu lezija [276]. Kod pacijenata kod kojih se zajedno javljaju srčana slabost sa očuvanom EF i koronarna bolest dolazi do značajnog i brzog pada ejectione frakcije leve komore i smrtnog ishoda [274]. Istovremeno, može se postaviti hipoteza da biomarkeri jedne patofiziološke kategorije (miokardno remodelovanje), a ne miokardnog rastezanja (BNP), oslikavaju tačan patofiziološki mehanizam, što može da ovakvu vrstu klasifikacije učini značajnom za klinički rad. Koncentracija BNP u plazmi nije se značajno razlikovala između dva fenotipa, te se ovaj biomarker, na osnovu naših rezultata, ne može predložiti kao potencijalno koristan za fenotipizaciju pacijenata sa očuvanom EF. Sa druge strane dokazano je da natriuretski peptidi interferiraju sa strukturnim promenama tokom remodelovanja miokarda u srčanoj slabosti sa očuvanom EF [277], tako da njihova potencijalna uloga u fenotipizaciji HFpEF tek treba da bude dokazana [34]. Na osnovu rezultata naše studije, postoji opravdanost korišćenja biomarkera miokardnog remodelovanja u odnosu na BNP, jer natriuretski peptidi generalno oslikavaju hemodinamske, a ne strukturne promene ili postojanje komorbiditeta, koji su centralni fenomen u HFpEF.

Najracionalnija i klinički najopravdanija podela srčane insuficijencije sa očuvanom EF, prema najvećem broju istraživača, je na četiri klinička fenotipa označenih kao: fenotip godina, gojaznosti, plućne hipertenzije i koronarne bolesti [278]. Osnovna prednost ovakve klasifikacije je jednostavnost i mogućnost brze orijentacije tokom kliničke opservacije pacijenata. Limitiranost ove podele ogleda se u preklapanju fenotipova i činjenici da se retko u praksi nalaze pacijenti kod kojih, pored srčane insuficijencije postoji još samo jedno

pridruženo stanje na osnovu kog bi se uradila fenotipizacija. Pored toga, zna se da se hipertenzija, šećerna bolest i gojaznost češće nalaze kod starijih pacijenata, tako da je za adekvatnu fenotipizaciju potrebna dodatna dijangostika, potencijalno određivanje biomarkera u plazmi ili ehokardiografski nalaz. Nalaz atrijalne fibrilacije takođe je očekivana patologija u populaciji pacijenata sa očuvanom EF, naročito kod starijih ispitanika sa istorijom arterijske hipertenzije, pri čemu stopa prevalencije iznosi između 44 i 51% [17]. Patomorfološki supstrat za nastanak atrijalne fibrilacije jeste remodelovanje leve pretkomore, koje se dešava u velikom procentu kod obolelih od srčane insuficijencije sa $EF > 50\%$, pri čemu je dokazano da je postojanje atrijalne fibrilacije nezavisni prediktor loše prognoze [278]. Na osnovu rezultata naše studije najveći procenat pacijenata sa očuvanom EF imao je atrijalnu fibrilaciju (62%) i svi su imali izmenjene dimenzije leve pretkomore. Međutim, nije postojala statistička značajnost u zastupljenosti fibrilacije pretkomora između dobijenih fenotipova. Sa praktičnog aspekta, na osnovu našeg modela, atrijalna fibrilacija ne bi bio relevantan parametar za fenotipizaciju HFpEF na osnovu biomarkera miokardnog remodelovanja. Statistička značajnost je dokazana između zastupljenosti interemedijernih pauza dužih od 2 sekunde između dva analizirana fenotipa, a pacijenti kod kojih su plazmatske koncentracije biomarkera bile više imali su značajno višu stopu pauza u srčanom radu. U skladu sa tim, nedavna istraživanja dokazala su da interemedijerne pauze trajanja više od 2 ili 3 sekunde stoje u pozitivnoj korelaciji sa povišenim rizikom za različite neželjene kardiovaskularne događaje [279].

Na osnovu plazmatskih koncentracija markera miokardnog remodelovanja moguće je dodatno podeliti grupu pacijenata sa $EF > 50\%$ na dva biohemijski različita fenotipa, koji se značajno razlikuju u nekoliko kliničkih karakteristika i miokardnoj strukturi/funkciji. Dobijeni rezultati ukazuju na značaj miokardne ishemije u etiopatogenezi srčane insuficijencije sa očuvanom ejectionom frakcijom i nameću realnu potrebu za boljom detekcijom i tretmanom koronarne bolesti kod ovih pacijenata.

7.0. Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Dokazane su značajne razlike između kliničke i kontrolne grupe u učestalosti hiperlipidemije, vrednostima pulsnog pritiska, inflamatornim parametrima: broju leukocita i koncentracijama fibrinogena, kreatinina i natrijuma.
- Statistički značajne razlike postojale su i u koncentracijama svih ispitivanih biomarkera: BNP, sST2, galektina-3, GDF-15 i sindekana-1 i bile su značajno više kod ispitanika sa srčanom insuficijencijom u poređenju sa kontrolnom grupom.
- Značajnost između ispitivanih grupa postojala je i u sledećim ehokardiografskim parametrima: ESD, EDD, ZZ, DK, LPK i SPDK, pri čemu su svi ispitivani parametri bili značajno viši kod ispitanika kliničke grupe. Vrednosti jačine EF, TAPSE i E/A takođe su bile značajno različite između ispitivanih grupa, ali su ispitivani parametri bili niži kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom u poređenju sa zdravom kontrolom.
- Analizom parametara dobijenih 24-EKG monitoringom zaključeno je da su postojale značajne razlike između srednjih vrednosti srčane frekvencije i minimalne srčane frekvencije, koja su bile niže kod ispitanika kliničke grupe. Postojale su i značajne razlike u učestalosti supraventrikularnih i ventrikularnih aritmija, koje su bile učestalije kod ispitanika sa srčanom insuficijencijom.
- Kao nezavisni faktori rizika za smanjenje jačine ejeckione frakcije u kliničkoj grupi dokazane su koncentracije svih evaluiranih biomarkera (BNP, sST2, galektin-3, GDF-15 i sindekan-1). Nakon multivarijantnog prilagođavanja jedini faktor rizika bila je koncentracija u plazmi BNP.
- Za povećanje indeksa mase leve komore, kao nezavisan faktor rizika, ali i nakon multivarijantnog prilagođavanja, bila je koncentracija BNP u plazmi.

- Kao nezavisni faktori rizika za povećanje dijametra leve pretkomore u kliničkoj grupi dokazani su svi ispitivani biomarkeri. Koncentracija BNP u plazmi jedini je parametar koji je zadržao značajnost faktora rizika za povećanje dijametra leve pretkomore nakon multivarijantnog prilagođavanja.
- Kao nezavisni faktori rizika za razvoj dijastolne disfunkcije u univarijantnom i multivarijantnom modelu bilo je postojanje koronare bolesti.
- Kao nezavisni faktori rizika za pojavu ishemijske na testu fizičkim opterećenjem dokazani su BNP i biomarkeri miokardnog remodelovanja. Nakon prilagođavanja, statističku značajnost kao faktor rizika imala je samo koncentracija BNP u plazmi.
- Nezavisni faktori rizika za pojavu atrijske fibrilacije bili su starost ispitanika i postojanje koronarne bolesti, u univarijantnom i multivarijantnom modelu.
- Nezavisan faktor rizika za pojavu pauza u srčanom radu, dužim od 2 sekunde bile su godine ispitanika. Nakon multivarijantnog prilagođavanja dobijen je identičan rezultat.
- Nezavisan faktor rizika za pojavu bradikardije (<35) bilo je postojanje koronarne bolesti. Identičan rezultat dobijen je i nakon multivarijantnog prilagođavanja.
- Nijedan od ispitivanih parametara nije se izdvojio kao nezavisan faktor rizika za značajnu varijabilnost srčane frekvencije.
- Poređenjem osnovnih demografskih, hematoloških i biohemijskih parametara između tri podgrupe klasifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije, postojale su statistički značajne razlike između sledećih parametara: prevalencije koronarne bolesti, koja je bila najučestalija kod ispitanika sa redukovanom ejeckionom frakcijom, NYHA klasifikacije, prevalencije hiperlipidemije i arterijske hipertenzije, koncentracija ureje i mokraćne kiseline i aktivnosti enzima AST i ALT.
- Analiza medikamentne terapije između podgrupa dokazala je značajnu razliku u primeni sledećih grupa lekova: ACE inhibitora, amiodarona, kalcijumskih antagonista, spirinolaktone i diuretika.
- Značajna razlika je dokazana i u koncentracijama svih ispitivanih biomarkera, između pacijenata klasifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije. Pacijenti sa redukovanom EF imali su statistički značajno najviše koncentracije biomarkera u plazmi, dok su najniže koncentracije postojale kod pacijenata sa očuvanom EF.
- Srčana insuficijencija sa graničnom ejeckionom frakcijom predstavlja nezavistan intermedijerni biohemijski entitet, kada su u pitanju BNP i markeri miokardnog remodelovanja.

- Ehokardiografski parametri koji su se značajno razlikovali između podgrupa klasifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije bili su: EF, EDD, ESD, IMLK, MLK, LPK, TAPSE, DK, SPDK.
- Srčana insuficijencija sa graničnom ejeckionom frakcijom predstavlja nezavisan intermedijerni ehokardiografski entitet, za sve parametre gde je, između podgrupa, dokazana statistički značajna razlika.
- Analizom parametara dobijenih na testu fizičkim opterećenjem statistički značajne razlike dobijene su u broju ispitanika koji su bili podvrgnuti testu i u dostignutoj submaksimalnoj frekvenciji.
- Korelacionom analizom parametara kod ispitanika sa očuvanom ejeckionom frakcijom dokazana je značajna pozitivna i nezavisna korelacija između IMLK i sledećih varijabli: starosti ispitanika, BMI, koncentracije kreatinina u plazmi, jačine glomerulske filtracije i koncentracijama svih biomarkera miokardnog remodelovanja. Nakon multivarijantnog prilagođavanja za istu grupu ispitanika nađena je pozitivna korelacija između IMLK i starosti i koncentracije galektina-3.
- Istom analizom u grupi ispitanika sa redukovanom EF dokazana je pozitivna i nezavisna korelacija između IMLK i vrednosti BNP u plazmi. Nakon multivarijantnog prilagođavanja pozitivna korelacija je pronađena između IMLK i koncentracije sST2 u plazmi.
- Primenjenom analizom kod pacijenata sa graničnom ejeckionom frakcijom nije dokazana značajna korelacija između IMLK i ispitivanih parametara.
- Kao faktori rizika za povećanje dijametra leve pretkomore dokazani su koncentracija GDF-15 i BMI u plazmi kod ispitanika sa očuvanom EF. Nakon multivarijantnog prilagođavanja dokazani faktori rizika bili su BMI, postojanje koronarne bolesti i povišene koncentracije sST2 i galektina-3 u plazmi.
- Kao značajni faktori rizika za razvoj dijastolne disfunkcije dokazani su: povišena koncentracija GDF-15 u plazmi kod ispitanika sa očuvanom i redukovanom ejeckionom frakcijom, muški pol kod ispitanika sa EF<40 i povišena koncentracija kreatinina kod ispitanika sa graničnom EF.
- Dokazani faktori rizika za pojavu miokardne ishemije bili su: prisustvo koronarne bolesti kod ispitanika sa očuvanom ejeckionom frakcijom i povišene koncentracije svih ispitivanih biomarkera miokardnog remodelovanja kod pacijenata sa redukovanom ejeckionom frakcijom.

- Dokazani faktori rizika za pojavu atrijalne fibrilacije bili su: godine ispitanika, visok BMI, prisustvo koronarne bolesti i patološki parametri bubrežne funkcije, visoka koncentracija kreatinina i snižena jačina glomerulske filtracije u podgrupi ispitanika sa EF<40%.
- Kao dokazani faktori rizika za pojavu pauza u srčanom radu bile su koncentracije svih ispitivanih biomarkera miokardnog remodelovanja kod pacijenata sa redukovanom ejakcionom frakcijom.
- Korelaciona analiza između određenih ehokardiografskih parametara i koncentracija ispitivanih biomarkera u grupi pacijenata sa očuvanom ejakcionom frakcijom dokazala je pozitivne korelacije između dimenzija septuma i zadnjeg zida leve komore i svih biomarkera miokardnog remodelovanja (ST2, galektin-3, GDF-15 i sindekan-1).
- Korelaciona analiza ehokardiografskih parametara kod pacijenata sa redukovanom ejakcionom frakcijom dokazala je postojanje značajne i negativne korelacije između jačine EF i koncentracije BNP i parametra dijastolne disfunkcije (E/A) i koncentracije GDF-15. Značajne i pozitivne korelacije dokazane su između vrednosti EDD i ESD i koncentracija BNP u plazmi.
- Na osnovu koncentracija biomarkera miokardnog remodelovanja pacijenti sa očuvanom ejakcionom frakcijom mogu se podeliti na dva osnovna biohemijska fenotipa.
- Pacijenti sa višim koncentracijama biomarkera miokardnog remodelovanja imali su značajno veću učestalost infarkta miokarda i to sa ST-elevacijom. Poređenjem laboratorijskih vrednosti dokazano je da imaju niže vrednosti hematoloških parametara: hematokrita i broja eritrocita.
- Značajne razlike pronađene su i u ehokardiografskim parametrima: IMLK, MLK i debljine interventrikularnog septuma i zadnjeg zida leve komore. Pacijenti koji su pripadali fenotipu sa višim koncentracijama biomarkera miokardnog remodelovanja imali su veću učestalost ukupnih pauza u srčanom radu (trajanje od 2-2,5 sekundi i >2,5 sekundi).

8.0. Literatura

1. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JG, Coats AJ, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail* 2016; 18(8):891-975.
2. van der Meer P, Gaggin HK, Dec GW. ACC/AHA versus ESC guidelines on heart failure: JACC guideline comparison. *J Am Coll Cardiol* 2019; 73(21):2756-2768.
3. Bianucci R, Loynes RD, Sutherland ML, Lallo R, Kay GL, Froesch P, et al. Forensic analysis reveals acute decompensation of chronic heart failure in a 3500 - year - old Egyptian dignitary. *J Forensic Sci* 2016; 61(5):1378-1381.
4. Ferrari R, Balla C, Fucili A. Heart failure: an historical perspective. *European Heart Journal Supplements* 2016; 18(suppl_G):G3-G10.
5. Bui AL, Horwich TB, Fonarow GC. Epidemiology and risk profile of heart failure. *Nature Reviews Cardiology* 2011; 8(1):30.
6. Ziaeeian B, Fonarow GC. Epidemiology and aetiology of heart failure. *Nature Reviews Cardiology* 2016; 13(6):368-378.
7. Marwick TH, Raman SV, Carrió I, Bax JJ. Recent developments in heart failure imaging. *JACC Cardiovasc Imaging* 2010; 3(4):429-439.
8. Roth GA, Forouzanfar MH, Moran AE, Barber R, Nguyen G, Feigin VL, et al. Demographic and epidemiologic drivers of global cardiovascular mortality. *N Engl J Med* 2015; 372(14):1333-1341.
9. Zhao D, Liu J, Xie W, Qi Y. Cardiovascular risk assessment: a global perspective. *Nature Reviews Cardiology* 2015; 12(5):301.
10. Roger VL. Epidemiology of heart failure. *Circ Res* 2013; 113(6):646-659.
11. Gerber Y, Weston SA, Redfield MM, Chamberlain AM, Manemann SM, Jiang R, et al. A contemporary appraisal of the heart failure epidemic in Olmsted County, Minnesota, 2000 to 2010. *JAMA internal medicine* 2015; 175(6):996-1004.
12. Brouwers FP, de Boer RA, van der Harst P, Voors AA, Gansevoort RT, Bakker SJ, et al. Incidence and epidemiology of new onset heart failure with preserved vs. reduced ejection fraction in a community-based cohort: 11-year follow-up of PREVEND. *Eur Heart J* 2013; 34(19):1424-1431.
13. Yusuf S, Rangarajan S, Teo K, Islam S, Li W, Liu L, et al. Cardiovascular risk and events in 17 low-, middle-, and high-income countries. *N Engl J Med* 2014; 371(9):818-827.
14. Seferović PM, Vasiljević Z, Ilić MD. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje srčane insuficijencije.
15. Steinberg B, Zhao X, Heidenreich P, Peterson E, Bhatt D, Cannon C, et al. Get With the Guidelines Scientific Advisory Committee and Investigators. Trends in patients hospitalized with heart failure and preserved left ventricular ejection fraction: prevalence, therapies, and outcomes. *Circulation* 2012; 126(1):65-75.
16. Sharma K, Kass DA. Heart failure with preserved ejection fraction: mechanisms, clinical features, and therapies. *Circ Res* 2014; 115(1):79-96.

17. Kao DP, Lewsey JD, Anand IS, Massie BM, Zile MR, Carson PE, et al. Characterization of subgroups of heart failure patients with preserved ejection fraction with possible implications for prognosis and treatment response. *Eur J Heart Fail* 2015; 17(9):925-935.
18. Van Linthout S, Tschöpe C. Inflammation—cause or consequence of heart failure or both? *Curr Heart Fail Rep* 2017; 14(4):251-265.
19. Paulus WJ, Tschöpe C. A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62(4):263-271.
20. Linke WA, Hamdani N. Gigantic business: titin properties and function through thick and thin. *Circ Res* 2014; 114(6):1052-1068.
21. Hamdani N, Krysiak J, Kreusser MM, Neef S, dos Remedios CG, Maier LS, et al. Crucial role for Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase-II in regulating diastolic stress of normal and failing hearts via titin phosphorylation. *Circ Res* 2013; 112(4):664-674.
22. Westermann D, Lindner D, Kasner M, Zietsch C, Savvatis K, Escher F, et al. Cardiac inflammation contributes to changes in the extracellular matrix in patients with heart failure and normal ejection fraction. *Circ Heart Fail* 2011; 4(1):44-52.
23. Borlaug BA. The pathophysiology of heart failure with preserved ejection fraction. *Nature Reviews Cardiology* 2014; 11(9):507.
24. Munagala VK, Hart CY, Burnett Jr JC, Meyer DM, Redfield MM. Ventricular structure and function in aged dogs with renal hypertension: a model of experimental diastolic heart failure. *Circulation* 2005; 111(9):1128-1135.
25. Miura M, Shiba N, Nochioka K, Takada T, Takahashi J, Kohno H, et al. Urinary albumin excretion in heart failure with preserved ejection fraction: an interim analysis of the CHART 2 study. *Eur J Heart Fail* 2012; 14(4):367-376.
26. Lam CS, Roger VL, Rodeheffer RJ, Borlaug BA, Enders FT, Redfield MM. Pulmonary hypertension in heart failure with preserved ejection fraction: a community-based study. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53(13):1119-1126.
27. Verbrugge FH, Dupont M, Steels P, Grieten L, Malbrain M, Tang WW, et al. Abdominal contributions to cardiorenal dysfunction in congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62(6):485-495.
28. Lakhani IR, Leung KSK, Tse G, Lee AP-W. Novel Mechanisms in Heart Failure With Preserved, Midrange and Reduced Ejection Fraction. *Front Physiol* 2019; 10:874.
29. Morris DA, Perez AV, Blaschke F, Eichstädt H, Özcelik C, Haverkamp W. Myocardial systolic and diastolic consequences of left ventricular mechanical dyssynchrony in heart failure with normal left ventricular ejection fraction. *European Heart Journal—Cardiovascular Imaging* 2012; 13(7):556-567.
30. Cheng A, Helm RH, Abraham TP. Pathophysiological mechanisms underlying ventricular dyssynchrony. *Europace* 2009; 11(suppl_5):v10-v14.
31. Bonow RO, Vitale DF, Bacharach SL, Maron BJ, Green MV. Effects of aging on asynchronous left ventricular regional function and global ventricular filling in normal human subjects. *J Am Coll Cardiol* 1988; 11(1):50-58.
32. Sag CM, Wagner S, Maier LS. Role of oxidants on calcium and sodium movement in healthy and diseased cardiac myocytes. *Free Radic Biol Med* 2013; 63:338-349.
33. Rogers FJ, Gundala T, Ramos JE, Serajian A. Heart failure with preserved ejection fraction. *J Am Osteopath Assoc* 2015; 115(7):432-42.
34. D'Elia E, Vaduganathan M, Gori M, Gavazzi A, Butler J, Senni M. Role of biomarkers in cardiac structure phenotyping in heart failure with preserved ejection fraction: critical appraisal and practical use. *Eur J Heart Fail* 2015; 17(12):1231-1239.
35. Nadar SK, Tariq O. What is heart failure with mid-range ejection fraction? A new subgroup of patients with heart failure. *Cardiac failure review* 2018; 4(1):6.
36. Rickenbacher P, Kaufmann BA, Maeder MT, Bernheim A, Goetschalckx K, Pfister O, et al. Heart failure with mid - range ejection fraction: a distinct clinical entity? Insights from the Trial of Intensified versus standard Medical therapy in Elderly patients with Congestive Heart Failure (TIME - CHF). *Eur J Heart Fail* 2017; 19(12):1586-1596.

37. Lund LH, Claggett B, Liu J, Lam CS, Jhund PS, Rosano GM, et al. Heart failure with mid - range ejection fraction in CHARM: characteristics, outcomes and effect of candesartan across the entire ejection fraction spectrum. *Eur J Heart Fail* 2018; 20(8):1230-1239.
38. Chioncel O, Lainscak M, Seferovic PM, Anker SD, Crespo - Leiro MG, Harjola VP, et al. Epidemiology and one - year outcomes in patients with chronic heart failure and preserved, mid - range and reduced ejection fraction: an analysis of the ESC Heart Failure Long - Term Registry. *Eur J Heart Fail* 2017; 19(12):1574-1585.
39. Mesquita ET, Barbeta LMdS, Correia ETdO. Heart Failure with Mid-Range Ejection Fraction-State of the Art. *Arq Bras Cardiol* 2019; 112(6):784-790.
40. Lam CS, Solomon SD. The middle child in heart failure: heart failure with mid - range ejection fraction (40–50%). *European journal of heart failure* 2014; 16(10):1049-1055.
41. Rastogi A, Novak E, Platts AE, Mann DL. Epidemiology, pathophysiology and clinical outcomes for heart failure patients with a mid - range ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2017; 19(12):1597-1605.
42. Tsuji K, Sakata Y, Nochioka K, Miura M, Yamauchi T, Onose T, et al. Characterization of heart failure patients with mid - range left ventricular ejection fraction—a report from the CHART - 2 Study. *Eur J Heart Fail* 2017; 19(10):1258-1269.
43. Guisado-Espartero ME, Salamanca-Bautista P, Aramburu-Bodas Ó, Conde-Martel A, Arias-Jiménez JL, Llàcer-Iborra P, et al. Heart failure with mid-range ejection fraction in patients admitted to internal medicine departments: Findings from the RICA Registry. *Int J Cardiol* 2018; 255:124-128.
44. Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. *Heart* 2007; 93(9):1137-1146.
45. Abubakar I, Tillmann T, Banerjee A. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2015; 385(9963):117-171.
46. Failure M-aGGiCH. The survival of patients with heart failure with preserved or reduced left ventricular ejection fraction: an individual patient data meta-analysis. *Eur Heart J* 2012; 33(14):1750-1757.
47. Mant J, Doust J, Roalfe A, Barton P, Cowie M, Glasziou P, et al., Systematic review and individual patient data meta-analysis of diagnosis of heart failure, with modelling of implications of different diagnostic strategies in primary care, in *NIHR Health Technology Assessment programme: Executive Summaries*. 2009, NIHR Journals Library.
48. Shah AM, Mann DL. In search of new therapeutic targets and strategies for heart failure: recent advances in basic science. *The Lancet* 2011; 378(9792):704-712.
49. Askoxylakis V, Thieke C, Pleger ST, Most P, Tanner J, Lindel K, et al. Long-term survival of cancer patients compared to heart failure and stroke: a systematic review. *BMC Cancer* 2010; 10(1):105.
50. Hartupee J, Mann DL. Neurohormonal activation in heart failure with reduced ejection fraction. *Nature Reviews Cardiology* 2017; 14(1):30-38.
51. Mann DL. Innate immunity and the failing heart: the cytokine hypothesis revisited. *Circ Res* 2015; 116(7):1254-1268.
52. Packer M. The neurohormonal hypothesis: a theory to explain the mechanism of disease progression in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20(1):248-254.
53. Weinberger MH, Aoi W, Henry DP. Direct effect of beta-adrenergic stimulation on renin release by the rat kidney slice in vitro. *Circ Res* 1975; 37(3):318-324.
54. Bekheirnia MR, Schrier RW. Pathophysiology of water and sodium retention: edematous states with normal kidney function. *Curr Opin Pharmacol* 2006; 6(2):202-207.
55. Braunwald E. The path to an angiotensin receptor antagonist-neprilysin inhibitor in the treatment of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2015; 65(10):1029-1041.
56. McCollum LT, Gallagher PE, Ann Tallant E. Angiotensin-(1–7) attenuates angiotensin II-induced cardiac remodeling associated with upregulation of dual-specificity phosphatase 1. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2012; 302(3):H801-H810.

57. Giannoni A, Emdin M, Bramanti F, Iudice G, Francis DP, Barsotti A, et al. Combined increased chemosensitivity to hypoxia and hypercapnia as a prognosticator in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53(21):1975-1980.
58. Ponikowski PP, Chua TP, Francis DP, Capucci A, Coats AJ, Piepoli MF. Muscle ergoreceptor overactivity reflects deterioration in clinical status and cardiorespiratory reflex control in chronic heart failure. *Circulation* 2001; 104(19):2324-2330.
59. Toischer K, Rokita AG, Unsöld B, Zhu W, Kararigas G, Sossalla S, et al. Differential cardiac remodeling in preload versus afterload. *Circulation* 2010; 122(10):993.
60. Rajabi M, Kassiotis C, Razeghi P, Taegtmeier H. Return to the fetal gene program protects the stressed heart: a strong hypothesis. *Heart Fail Rev* 2007; 12(3-4):331-343.
61. Mann DL, Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald's heart disease e-book: a textbook of cardiovascular medicine. 2014: Elsevier Health Sciences.
62. Mann DL, Bristow MR. Mechanisms and models in heart failure: the biomechanical model and beyond. *Circulation* 2005; 111(21):2837-2849.
63. Lymperopoulos A, Rengo G, Koch WJ. Adrenergic nervous system in heart failure: pathophysiology and therapy. *Circ Res* 2013; 113(6):739-753.
64. Iaccarino G, Tomhave ED, Lefkowitz RJ, Koch WJ. Reciprocal in vivo regulation of myocardial G protein-coupled receptor kinase expression by β -adrenergic receptor stimulation and blockade. *Circulation* 1998; 98(17):1783-1789.
65. Zhang W, Lavine KJ, Epelman S, Evans SA, Weinheimer CJ, Barger PM, et al. Necrotic myocardial cells release damage - associated molecular patterns that provoke fibroblast activation in vitro and trigger myocardial inflammation and fibrosis in vivo. *Journal of the American Heart Association* 2015; 4(6):e001993.
66. Kong P, Christia P, Frangogiannis NG. The pathogenesis of cardiac fibrosis. *Cell Mol Life Sci* 2014; 71(4):549-574.
67. Sadoshima J-i, Izumo S. Molecular characterization of angiotensin II--induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts. Critical role of the AT1 receptor subtype. *Circ Res* 1993; 73(3):413-423.
68. Creemers EE, Davis JN, Parkhurst AM, Leenders P, Dowdy KB, Hapke E, et al. Deficiency of TIMP-1 exacerbates LV remodeling after myocardial infarction in mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2003.
69. Ge Z, Li A, McNamara J, Dos Remedios C, Lal S. Pathogenesis and pathophysiology of heart failure with reduced ejection fraction: translation to human studies. *Heart Fail Rev* 2019; 24(5):743-758.
70. Group BDW, Atkinson Jr AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, et al. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69(3):89-95.
71. Morrow DA, de Lemos JA. Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers. 2007, Am Heart Assoc.
72. Ibrahim NE, Januzzi Jr JL. Beyond natriuretic peptides for diagnosis and management of heart failure. *Clin Chem* 2017; 63(1):211-222.
73. Chow SL, Maisel AS, Anand I, Bozkurt B, De Boer RA, Felker GM, et al. Role of biomarkers for the prevention, assessment, and management of heart failure: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2017; 135(22):e1054-e1091.
74. Magnussen C, Blankenberg S. Biomarkers for heart failure: small molecules with high clinical relevance. *J Intern Med* 2018; 283(6):530-543.
75. Joffy S, Rosner MH. Natriuretic peptides in ESRD. *Am J Kidney Dis* 2005; 46(1):1-10.
76. Roman TN. Značaj moždanog natriuretskog peptida u akutnim koronarnim sindromima.
77. Hosoda K, Nakao K, Mukoyama M, Saito Y, Jougasaki M, Shirakami G, et al. Expression of brain natriuretic peptide gene in human heart. Production in the ventricle. *Hypertension* 1991; 17(6_pt_2):1152-1155.
78. Dajak M, Ignjatović S, Majkić-Singh N. Značaj određivanja srčanih natriuretičkih peptida u srčanoj insuficijenciji. *Jugoslovenska medicinska biohemija* 2003; 22(4):311-317.
79. Díez J. Chronic heart failure as a state of reduced effectiveness of the natriuretic peptide system: implications for therapy. *Eur J Heart Fail* 2017; 19(2):167-176.

80. Obana K, Naruse M, Inagami T, Brown AB, Naruse K, Kurimoto F, et al. Atrial natriuretic factor inhibits vasopressin secretion from rat posterior pituitary. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 132(3):1088-1094.
81. Cao L, Gardner DG. Natriuretic peptides inhibit DNA synthesis in cardiac fibroblasts. *Hypertension* 1995; 25(2):227-234.
82. Suga S-i, Nakao K, Itoh H, Komatsu Y, Ogawa Y, Hama N, et al. Endothelial production of C-type natriuretic peptide and its marked augmentation by transforming growth factor-beta. Possible existence of. *The Journal of clinical investigation* 1992; 90(3):1145-1149.
83. de Lemos JA, McGuire DK, Drazner MH. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *The Lancet* 2003; 362(9380):316-322.
84. Members ATF, McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail* 2012; 14(8):803-869.
85. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Leip EP, Benjamin EJ, Wilson PW, et al. Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *The American journal of cardiology* 2002; 90(3):254-258.
86. Maisel AS, Koon J, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, Gardetto N, et al. Utility of B-natriuretic peptide as a rapid, point-of-care test for screening patients undergoing echocardiography to determine left ventricular dysfunction. *Am Heart J* 2001; 141(3):367-374.
87. Lubien E, DeMaria A, Krishnaswamy P, Clopton P, Koon J, Kazanegra R, et al. Utility of B-natriuretic peptide in detecting diastolic dysfunction: comparison with Doppler velocity recordings. *Circulation* 2002; 105(5):595-601.
88. McCullough PA, Omland T, Maisel AS. B-type natriuretic peptides: a diagnostic breakthrough for clinicians. *Rev Cardiovasc Med* 2019; 4(2):72-80.
89. Berger R, Huelsman M, Strecker K, Bojic A, Moser P, Stanek B, et al. B-type natriuretic peptide predicts sudden death in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2002; 105(20):2392-2397.
90. Groenning B, Raymond I, Hildebrandt P, Nilsson J, Baumann M, Pedersen F. Diagnostic and prognostic evaluation of left ventricular systolic heart failure by plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide concentrations in a large sample of the general population. *Heart* 2004; 90(3):297-303.
91. Weinberg EO, Shimp M, De Keulenaer GW, MacGillivray C, Tominaga S-i, Solomon SD, et al. Expression and regulation of ST2, an interleukin-1 receptor family member, in cardiomyocytes and myocardial infarction. *Circulation* 2002; 106(23):2961-2966.
92. Konukoglu D. Invited Review Is soluble ST2 a new marker in heart failure? *Int J Med Biochem* 2018; 1(1):44-51.
93. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 2005; 23(5):479-490.
94. Pascual-Figal DA, Januzzi JL. The biology of ST2: the international ST2 consensus panel. *The American journal of cardiology* 2015; 115(7):3B-7B.
95. Mueller T, Dieplinger B. The Presage® ST2 Assay: analytical considerations and clinical applications for a high-sensitivity assay for measurement of soluble ST2. *Expert review of molecular diagnostics* 2013; 13(1):13-30.
96. Villacorta H, Maisel AS. Soluble ST2 testing: a promising biomarker in the management of heart failure. *Arq Bras Cardiol* 2016; 106(2):145-152.
97. Sanada S, Hakuno D, Higgins LJ, Schreiter ER, McKenzie AN, Lee RT. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. *The Journal of clinical investigation* 2007; 117(6):1538-1549.
98. Kakkar R, Lee RT. The IL-33/ST2 pathway: therapeutic target and novel biomarker. *Nature reviews Drug discovery* 2008; 7(10):827-840.

99. Seki K, Sanada S, Kudinova AY, Steinhauser ML, Handa V, Gannon J, et al. Interleukin-33 prevents apoptosis and improves survival after experimental myocardial infarction through ST2 signaling. *Circ Heart Fail* 2009; 2(6):684-691.
100. Yndestad A, Marshall AK, Hodgkinson JD, Sugden PH, Clerk A. Modulation of interleukin signalling and gene expression in cardiac myocytes by endothelin-1. *The international journal of biochemistry & cell biology* 2010; 42(2):263-272.
101. Lax A, Sanchez-Mas J, Asensio-Lopez MC, Fernandez-Del Palacio MJ, Caballero L, Garrido IP, et al. Mineralocorticoid receptor antagonists modulate galectin-3 and interleukin-33/ST2 signaling in left ventricular systolic dysfunction after acute myocardial infarction. *JACC: Heart Failure* 2015; 3(1):50-58.
102. Demyanets S, Kaun C, Pentz R, Krychtiuk KA, Rauscher S, Pfaffenberger S, et al. Components of the interleukin-33/ST2 system are differentially expressed and regulated in human cardiac cells and in cells of the cardiac vasculature. *J Mol Cell Cardiol* 2013; 60:16-26.
103. Bayes-Genis A, Nunez J, Lupon J, Soluble ST2 for prognosis and monitoring in heart failure: the new gold standard? 2017, *Journal of the American College of Cardiology*.
104. Defilippi CR, Herzog CA. Interpreting cardiac biomarkers in the setting of chronic kidney disease. *Clin Chem* 2017; 63(1):59-65.
105. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Drazner MH, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62(16):e147-e239.
106. Bayes-Genis A, Zhang Y, Ky B. ST2 and patient prognosis in chronic heart failure. *The American journal of cardiology* 2015; 115(7):64B-69B.
107. Bayes-Genis A, de Antonio M, Vila J, Peñafiel J, Galán A, Barallat J, et al. Head-to-head comparison of 2 myocardial fibrosis biomarkers for long-term heart failure risk stratification: ST2 versus galectin-3. *J Am Coll Cardiol* 2014; 63(2):158-166.
108. Gruson D, Lepoutre T, Ahn SA, Rousseau MF. Increased soluble ST2 is a stronger predictor of long-term cardiovascular death than natriuretic peptides in heart failure patients with reduced ejection fraction. *Int J Cardiol* 2014; 172(1):e250-e252.
109. Weinberg EO, Shimpo M, Hurwitz S, Tominaga S-i, Rouleau J-L, Lee RT. Identification of serum soluble ST2 receptor as a novel heart failure biomarker. *Circulation* 2003; 107(5):721-726.
110. Dattagupta A, Immaneni S. ST2: Current status. *Indian Heart J* 2018; 70:S96-S101.
111. Januzzi JL, Pascual-Figal D, Daniels LB. ST2 testing for chronic heart failure therapy monitoring: the International ST2 Consensus Panel. *The American journal of cardiology* 2015; 115(7):70B-75B.
112. Pascual-Figal DA, Garrido IP, Blanco R, Minguela A, Lax A, Ordoñez-Llanos J, et al. Soluble ST2 is a marker for acute cardiac allograft rejection. *The Annals of thoracic surgery* 2011; 92(6):2118-2124.
113. Shimpo M, Morrow DA, Weinberg EO, Sabatine MS, Murphy SA, Antman EM, et al. Serum levels of the interleukin-1 receptor family member ST2 predict mortality and clinical outcome in acute myocardial infarction. *Circulation* 2004; 109(18):2186-2190.
114. Wu AH, Wians F, Jaffe A. Biological variation of galectin-3 and soluble ST2 for chronic heart failure: implication on interpretation of test results. *Am Heart J* 2013; 165(6):995-999.
115. Barondes SH, Cooper D, Gitt MA, Leffler H. Galectins. Structure and function of a large family of animal lectins. *J Biol Chem* 1994; 269(33):20807-20810.
116. Bošnjak I, Selthofer-Relatić K, Včev A. Prognostic value of galectin-3 in patients with heart failure. *Dis Markers* 2015; 2015.
117. Filipe MD, Meijers WC, van der Velde AR, de Boer RA. Galectin-3 and heart failure: prognosis, prediction & clinical utility. *Clin Chim Acta* 2015; 443:48-56.
118. De Boer RA, Van Der Velde AR, Mueller C, Van Veldhuisen DJ, Anker SD, Peacock WF, et al. Galectin-3: a modifiable risk factor in heart failure. *Cardiovasc Drugs Ther* 2014; 28(3):237-246.

119. Kang HG, Kim D-H, Kim S-J, Cho Y, Jung J, Jang W, et al. Galectin-3 supports stemness in ovarian cancer stem cells by activation of the Notch1 intracellular domain. *Oncotarget* 2016; 7(42):68229.
120. Liu F-T, Hsu DK, Zuberi RI, Kuwabara I, Chi EY, Henderson Jr WR. Expression and function of galectin-3, a beta-galactoside-binding lectin, in human monocytes and macrophages. *The American journal of pathology* 1995; 147(4):1016.
121. Meijers WC, van der Velde AR, Pascual-Figal DA, de Boer RA. Galectin-3 and post-myocardial infarction cardiac remodeling. *Eur J Pharmacol* 2015; 763:115-121.
122. Liu Y-H, D'Ambrosio M, Liao T-d, Peng H, Rhaleb N-E, Sharma U, et al. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline prevents cardiac remodeling and dysfunction induced by galectin-3, a mammalian adhesion/growth-regulatory lectin. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2009; 296(2):H404-H412.
123. Sharma UC, Pokharel S, Van Brakel TJ, Van Berlo JH, Cleutjens JP, Schroen B, et al. Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction. *Circulation* 2004; 110(19):3121-3128.
124. de Boer RA, Lok DJ, Jaarsma T, van der Meer P, Voors AA, Hillege HL, et al. Predictive value of plasma galectin-3 levels in heart failure with reduced and preserved ejection fraction. *Ann Med* 2011; 43(1):60-68.
125. Henderson NC, Mackinnon AC, Farnworth SL, Kipari T, Haslett C, Iredale JP, et al. Galectin-3 expression and secretion links macrophages to the promotion of renal fibrosis. *The American journal of pathology* 2008; 172(2):288-298.
126. Henderson NC, Mackinnon AC, Farnworth SL, Poirier F, Russo FP, Iredale JP, et al. Galectin-3 regulates myofibroblast activation and hepatic fibrosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2006; 103(13):5060-5065.
127. Calvier L, Miana M, Reboul P, Cachofeiro V, Martinez-Martinez E, de Boer RA, et al. Galectin-3 mediates aldosterone-induced vascular fibrosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33(1):67-75.
128. Farnworth SL, Henderson NC, MacKinnon AC, Atkinson KM, Wilkinson T, Dhaliwal K, et al. Galectin-3 reduces the severity of pneumococcal pneumonia by augmenting neutrophil function. *The American journal of pathology* 2008; 172(2):395-405.
129. Bootcov MR, Bauskin AR, Valenzuela SM, Moore AG, Bansal M, He XY, et al. MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF- β superfamily. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1997; 94(21):11514-11519.
130. Adela R, Banerjee SK. GDF-15 as a target and biomarker for diabetes and cardiovascular diseases: a translational prospective. *Journal of diabetes research* 2015; 2015.
131. Rohatgi A, de Lemos JA. The report card on growth differentiation factor 15: consistent marks but not yet ready for promotion. *Circ Cardiovasc Genet* 2009; 2(3):209-211.
132. Wollert KC, Kempf T, Wallentin L. Growth differentiation factor 15 as a biomarker in cardiovascular disease. *Clin Chem* 2017; 63(1):140-151.
133. Berezin A. Promising Utilities of Growth Differentiation Factor 15 in Cardiovascular Diseases. 2018.
134. Kempf T, Horn-Wichmann R, Brabant G, Peter T, Allhoff T, Klein G, et al. Circulating concentrations of growth-differentiation factor 15 in apparently healthy elderly individuals and patients with chronic heart failure as assessed by a new immunoradiometric sandwich assay. *Clin Chem* 2007; 53(2):284-291.
135. Brown DA, Breit SN, Buring J, Fairlie WD, Bauskin AR, Liu T, et al. Concentration in plasma of macrophage inhibitory cytokine-1 and risk of cardiovascular events in women: a nested case-control study. *The Lancet* 2002; 359(9324):2159-2163.
136. Xu X-y, Nie Y, Wang F-f, Bai Y, Lv Z-z, Zhang Y-y, et al. Growth differentiation factor (GDF)-15 blocks norepinephrine-induced myocardial hypertrophy via a novel pathway involving inhibition of epidermal growth factor receptor transactivation. *J Biol Chem* 2014; 289(14):10084-10094.
137. Xu J, Kimball TR, Lorenz JN, Brown DA, Bauskin AR, Klevitsky R, et al. GDF15/MIC-1 functions as a protective and antihypertrophic factor released from the myocardium in association with SMAD protein activation. *Circ Res* 2006; 98(3):342-350.

138. Xian X, Gopal S, Couchman JR. Syndecans as receptors and organizers of the extracellular matrix. *Cell Tissue Res* 2010; 339(1):31.
139. Fears CY, Woods A. The role of syndecans in disease and wound healing. *Matrix Biol* 2006; 25(7):443-456.
140. Alexopoulou AN, Mulhaupt HA, Couchman JR. Syndecans in wound healing, inflammation and vascular biology. *The international journal of biochemistry & cell biology* 2007; 39(3):505-528.
141. Couchman JR. Syndecans: proteoglycan regulators of cell-surface microdomains? *Nature reviews Molecular cell biology* 2003; 4(12):926-938.
142. Kwon M-J, Jang B, Yi JY, Han I-O, Oh ES. Syndecans play dual roles as cell adhesion receptors and docking receptors. *FEBS Lett* 2012; 586(16):2207-2211.
143. Kim Y-H, Nijst P, Kiefer K, Tang WW. Endothelial glycocalyx as biomarker for cardiovascular diseases: mechanistic and clinical implications. *Curr Heart Fail Rep* 2017; 14(2):117-126.
144. Schellings MW, Vanhoutte D, van Almen GC, Swinnen M, Leenders JJ, Kubben N, et al. Syndecan-1 amplifies angiotensin II-induced cardiac fibrosis. *Hypertension* 2010; 55(2):249-256.
145. Porter KE, Turner NA. Cardiac fibroblasts: at the heart of myocardial remodeling. *Pharmacol Ther* 2009; 123(2):255-278.
146. De Luca M. The role of the cell-matrix interface in aging and its interaction with the renin-angiotensin system in the aged vasculature. *Mech Ageing Dev* 2019; 177:66-73.
147. Lunde IG, Herum KM, Carlson CC, Christensen G. Syndecans in heart fibrosis. *Cell Tissue Res* 2016; 365(3):539-552.
148. Lei J, Xue SN, Wu W, Zhou SX, Zhang YL, Yuan GY, et al. Increased level of soluble syndecan-1 in serum correlates with myocardial expression in a rat model of myocardial infarction. *Mol Cell Biochem* 2012; 359(1-2):177-182.
149. Vanhoutte D, Schellings M, Stepp M, Carmeliet P, Van de Werf F, Heymans S. 522 Increased expression of syndecan - 1 protects against cardiac dilatation and dysfunction after myocardial infarction. *European Journal of Heart Failure Supplements* 2006; 5:111-111.
150. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al., ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension *European Heart Journal*, Volume 39, Issue 33, 1 September 2018. 2018.
151. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr* 2006; 7(2):79-108.
152. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *European Heart Journal-Cardiovascular Imaging* 2015; 16(3):233-271.
153. Foppa M, Duncan BB, Rohde LE. Echocardiography-based left ventricular mass estimation. How should we define hypertrophy? *Cardiovasc Ultrasound* 2005; 3(1):17.
154. Gimelli A, Lancellotti P, Badano LP, Lombardi M, Gerber B, Plein S, et al. Non-invasive cardiac imaging evaluation of patients with chronic systolic heart failure: a report from the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI). *Eur Heart J* 2014; 35(48):3417-3425.
155. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K, et al. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography: endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2010; 23(7):685-713.
156. Bruce RA, Lovejoy FW, Pearson R, Paul N, Brothers GB, Velasquez T. Normal respiratory and circulatory pathways of adaptation in exercise. *The Journal of clinical investigation* 1949; 28(6):1423-1430.
157. Sicari R, Nihoyannopoulos P, Evangelista A, Kasprzak J, Lancellotti P, Poldermans D, et al. Stress echocardiography expert consensus statement-executive summary: european

- association of echocardiography (a registered branch of the ESC). *Eur Heart J* 2009; 30(3):278-89.
158. Bigger Jr JT, Fleiss JL, Rolnitzky LM, Groupab TMP-IR. Prevalence, characteristics and significance of ventricular tachycardia detected by 24-hour continuous electrocardiographic recordings in the late hospital phase of acute myocardial infarction. *The American journal of cardiology* 1986; 58(13):1151-1160.
159. Calkins H, Kuck KH, Cappato R, Brugada J, Camm AJ, Chen S-A, et al. 2012 HRS/EHRA/ECAS expert consensus statement on catheter and surgical ablation of atrial fibrillation: recommendations for patient selection, procedural techniques, patient management and follow-up, definitions, endpoints, and research trial design: a report of the Heart Rhythm Society (HRS) Task Force on Catheter and Surgical Ablation of Atrial Fibrillation. Developed in partnership with the European Heart Rhythm Association (EHRA), a registered branch of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Cardiac Arrhythmia Society (ECAS); and in collaboration with the American College of Cardiology (ACC), American Heart Association (AHA), the Asia Pacific Heart Rhythm Society (APHRS), and the Society of Thoracic Surgeons (STS). Endorsed by the governing bodies of the American College of Cardiology Foundation, the American Heart Association, the European Cardiac Arrhythmia Society, the European Heart Rhythm Association, the Society of Thoracic Surgeons, the Asia Pacific Heart Rhythm Society, and the Heart Rhythm Society. *Europace* 2012; 14(4):528-606.
160. Ilić SN, Praktična elektrokardiografija. 1996: Prosveta.
161. Shaw D, Southall D. Sinus node arrest and sino-atrial block. *European heart journal* 1984; 5(suppl_A):83-87.
162. Bexton RS, Camm AJ. Second degree atrioventricular block. *European heart journal* 1984; 5(suppl_A):111-114.
163. Furlan R, Guzzetti S, Crivellaro W, Dassi S, Tinelli M, Baselli G, et al. Continuous 24-hour assessment of the neural regulation of systemic arterial pressure and RR variabilities in ambulant subjects. *Circulation* 1990; 81(2):537-547.
164. Delanaye P, Krzesinski J-M, Cavalier E. Drawbacks and prognostic value of formulas estimating renal function in patients with chronic heart failure and systolic dysfunction. *Circulation* 2007; 115(11):E333.
165. Levey A. Chronic kidney disease epidemiology collaboration. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2006; 145:247-254.
166. Fonarow GC, Abraham WT, Albert NM, Gattis WA, Gheorghiade M, Greenberg B, et al. Organized program to initiate lifesaving treatment in hospitalized patients with heart failure (OPTIMIZE-HF): rationale and design. *Am Heart J* 2004; 148(1):43-51.
167. Adams K, Fonarow G, Emerman C. ADHERE Scientific Advisory Committee and Investigators. Characteristics and outcomes of patients hospitalized for heart failure in the United States: rationale, design, and preliminary observations from the first 100,000 cases in the Acute Decompensated Heart Failure National Registry (ADHERE). 2005.
168. Hsu JJ, Ziaieian B, Fonarow GC. Heart failure with mid-range (borderline) ejection fraction: clinical implications and future directions. *JACC: Heart Failure* 2017; 5(11):763-771.
169. Cheng RK, Cox M, Neely ML, Heidenreich PA, Bhatt DL, Eapen ZJ, et al. Outcomes in patients with heart failure with preserved, borderline, and reduced ejection fraction in the Medicare population. *Am Heart J* 2014; 168(5):721-730. e3.
170. Koh AS, Tay WT, Teng THK, Vedin O, Benson L, Dahlstrom U, et al. A comprehensive population - based characterization of heart failure with mid - range ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2017; 19(12):1624-1634.
171. Löfman I, Szummer K, Dahlström U, Jernberg T, Lund LH. Associations with and prognostic impact of chronic kidney disease in heart failure with preserved, mid - range, and reduced ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2017; 19(12):1606-1614.

172. Solomon SD, Anavekar N, Skali H, McMurray JJ, Swedberg K, Yusuf S, et al. Influence of ejection fraction on cardiovascular outcomes in a broad spectrum of heart failure patients. *Circulation* 2005; 112(24):3738-3744.
173. Gottdiener JS, McClelland RL, Marshall R, Shemanski L, Furberg CD, Kitzman DW, et al. Outcome of congestive heart failure in elderly persons: influence of left ventricular systolic function: the Cardiovascular Health Study. *Ann Intern Med* 2002; 137(8):631-639.
174. He K-L, Burkhoff D, Leng W-X, Liang Z-R, Fan L, Wang J, et al. Comparison of ventricular structure and function in Chinese patients with heart failure and ejection fractions > 55% versus 40% to 55% versus < 40%. *The American journal of cardiology* 2009; 103(6):845-851.
175. Kapoor JR, Kapoor R, Ju C, Heidenreich PA, Eapen ZJ, Hernandez AF, et al. Precipitating clinical factors, heart failure characterization, and outcomes in patients hospitalized with heart failure with reduced, borderline, and preserved ejection fraction. *JACC: Heart Failure* 2016; 4(6):464-472.
176. De Keulenaer GW, Brutsaert DL. Systolic and diastolic heart failure are overlapping phenotypes within the heart failure spectrum. *Circulation* 2011; 123(18):1996-2005.
177. Borlaug BA, *Defining HFpEF: where do we draw the line?* 2016, Oxford University Press.
178. Tromp J, Khan MA, Mentz RJ, O'Connor CM, Metra M, Dittrich HC, et al. Biomarker profiles of acute heart failure patients with a mid-range ejection fraction. *JACC: Heart Failure* 2017; 5(7):507-517.
179. Bhambhani V, Kizer JR, Lima JA, Van Der Harst P, Bahrami H, Naylor M, et al. Predictors and outcomes of heart failure with mid - range ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2018; 20(4):651-659.
180. Lopatin Y. Heart failure with mid-range ejection fraction and how to treat it. *Cardiac failure review* 2018; 4(1):9.
181. Sartipy U, Dahlström U, Fu M, Lund LH. Atrial fibrillation in heart failure with preserved, mid-range, and reduced ejection fraction. *JACC: Heart Failure* 2017; 5(8):565-574.
182. Shah KS, Xu H, Matsouaka RA, Bhatt DL, Heidenreich PA, Hernandez AF, et al. Heart failure with preserved, borderline, and reduced ejection fraction: 5-year outcomes. *J Am Coll Cardiol* 2017; 70(20):2476-2486.
183. Coles AH, Fisher K, Darling C, Yarzebski J, McManus DD, Gore JM, et al. Long-term survival for patients with acute decompensated heart failure according to ejection fraction findings. *The American journal of cardiology* 2014; 114(6):862-868.
184. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Colvin MM, et al. 2017 ACC/AHA/HFSA focused update of the 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Failure Society of America. *J Am Coll Cardiol* 2017; 70(6):776-803.
185. Zile MR, Jhund PS, Baicu CF, Claggett BL, Pieske B, Voors AA, et al. Plasma biomarkers reflecting profibrotic processes in heart failure with a preserved ejection fraction: data from the prospective comparison of ARNI with ARB on management of heart failure with preserved ejection fraction study. *Circ Heart Fail* 2016; 9(1):e002551.
186. Wang Y-C, Yu C-C, Chiu F-C, Tsai C-T, Lai L-P, Hwang J-J, et al. Soluble ST2 as a biomarker for detecting stable heart failure with a normal ejection fraction in hypertensive patients. *J Card Fail* 2013; 19(3):163-168.
187. Daniels LB, Clopton P, Iqbal N, Tran K, Maisel AS. Association of ST2 levels with cardiac structure and function and mortality in outpatients. *Am Heart J* 2010; 160(4):721-728.
188. Broch K, Ueland T, Nymo SH, Kjekshus J, Hulthe J, Muntendam P, et al. Soluble ST2 is associated with adverse outcome in patients with heart failure of ischaemic aetiology. *Eur J Heart Fail* 2012; 14(3):268-277.
189. Gaggin HK, Szymonifka J, Bhardwaj A, Belcher A, De Berardinis B, Motiwala S, et al. Head-to-head comparison of serial soluble ST2, growth differentiation factor-15, and highly-sensitive troponin T measurements in patients with chronic heart failure. *JACC: Heart Failure* 2014; 2(1):65-72.
190. Anand IS, Rector TS, Kuskowski M, Snider J, Cohn JN. Prognostic value of soluble ST2 in the Valsartan Heart Failure Trial. *Circ Heart Fail* 2014; 7(3):418-426.

191. Dong R, Zhang M, Hu Q, Zheng S, Soh A, Zheng Y, et al. Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy. *Int J Mol Med* 2018; 41(2):599-614.
192. Chen S-C, Kuo P-L. The role of galectin-3 in the kidneys. *International journal of molecular sciences* 2016; 17(4):565.
193. Nishi Y, Sano H, Kawashima T, Okada T, Kuroda T, Kikkawa K, et al. Role of galectin-3 in human pulmonary fibrosis. *Allergology international* 2007; 56(1):57-65.
194. McCullough PA, Olobatoke A, Vanhecke TE. Galectin-3: a novel blood test for the evaluation and management of patients with heart failure. *Rev Cardiovasc Med* 2011; 12(4):200-210.
195. Edelmann F, Holzendorf V, Wachter R, Nolte K, Schmidt AG, Kraigher - Krainer E, et al. Galectin - 3 in patients with heart failure with preserved ejection fraction: results from the Aldo - DHF trial. *Eur J Heart Fail* 2015; 17(2):214-223.
196. Srivatsan V, George M, Shanmugam E. Utility of galectin-3 as a prognostic biomarker in heart failure: where do we stand? *European journal of preventive cardiology* 2015; 22(9):1096-1110.
197. van der Velde AR, Gullestad L, Ueland T, Aukrust P, Guo Y, Adourian A, et al. Prognostic value of changes in galectin-3 levels over time in patients with heart failure: data from CORONA and COACH. *Circ Heart Fail* 2013; 6(2):219-226.
198. AbouEzzeddine OF, Haines P, Stevens S, Nativi-Nicolau J, Felker GM, Borlaug BA, et al. Galectin-3 in heart failure with preserved ejection fraction: a RELAX trial substudy (Phosphodiesterase-5 Inhibition to Improve Clinical Status and Exercise Capacity in Diastolic Heart Failure). *JACC: Heart Failure* 2015; 3(3):245-252.
199. Meijers WC, Januzzi JL, Defilippi C, Adourian AS, Shah SJ, Van Veldhuisen DJ, et al. Elevated plasma galectin-3 is associated with near-term rehospitalization in heart failure: a pooled analysis of 3 clinical trials. *Am Heart J* 2014; 167(6):853-860. e4.
200. Medvedeva EA, Berezin II, Surkova EA, Yaranov DM, Shchukin YV. Galectin-3 in patients with chronic heart failure: association with oxidative stress, inflammation, renal dysfunction and prognosis. *Minerva Cardioangiol* 2016; 64(6):595-602.
201. Yu X, Sun Y, Zhao Y, Zhang W, Yang Z, Gao Y, et al. Prognostic value of plasma galectin-3 levels in patients with coronary heart disease and chronic heart failure. *Int Heart J* 2015:14-304.
202. Kortekaas KA, Hoogslag GE, de Boer RA, Dokter MM, Versteegh MI, Braun J, et al. Galectin - 3 and left ventricular reverse remodelling after surgical mitral valve repair. *Eur J Heart Fail* 2013; 15(9):1011-1018.
203. Teixeira A, Arrigo M, Vergaro G, Cohen-Solal A, Mebazaa A. Clinical benefits of natriuretic peptides and galectin-3 are maintained in old dyspnoeic patients. *Arch Gerontol Geriatr* 2017; 68:33-38.
204. McEvoy JW, Chen Y, Halushka MK, Christenson E, Ballantyne CM, Blumenthal RS, et al. Galectin - 3 and risk of heart failure and death in blacks and whites. *Journal of the American Heart Association* 2016; 5(5):e003079.
205. Motiwala SR, Szymonifka J, Belcher A, Weiner RB, Baggish AL, Sluss P, et al. Serial measurement of galectin - 3 in patients with chronic heart failure: results from the ProBNP Outpatient Tailored Chronic Heart Failure Therapy (PROTECT) study. *Eur J Heart Fail* 2013; 15(10):1157-1163.
206. Piper SE, de Courcey J, Sherwood RA, Amin-Youssef GF, McDonagh TA. Serial galectin-3 for the monitoring of optimally treated stable chronic heart failure: A pilot study. *Int J Cardiol* 2016; 207:279-281.
207. Miller WL, Saenger AK, Grill DE, Slusser JP, Bayes-Genis A, Jaffe AS. Prognostic value of serial measurements of soluble suppression of tumorigenicity 2 and galectin-3 in ambulatory patients with chronic heart failure. *J Card Fail* 2016; 22(4):249-255.
208. Atabakhshian R, Kazerouni F, Raygan F, Amirrasouli H, Rahimipour A, Shakeri N. Assessment of the relationship between galectin-3 and ejection fraction and functional capacity in the patients with compensated systolic heart failure. *International cardiovascular research journal* 2014; 8(4):143.

209. Carrasco-Sánchez FJ, Aramburu-Bodas O, Salamanca-Bautista P, Morales-Rull JL, Galisteo-Almeda L, Páez-Rubio MI, et al. Predictive value of serum galectin-3 levels in patients with acute heart failure with preserved ejection fraction. *Int J Cardiol* 2013; 169(3):177-182.
210. Gaborit FS, Bosselmann H, Kistorp C, Iversen K, Kumler T, Gustafsson F, et al. Galectin 3: association to neurohumoral activity, echocardiographic parameters and renal function in outpatients with heart failure. *BMC Cardiovasc Disord* 2016; 16(1):117.
211. Iacoviello M, Aspromonte N, Leone M, Paradies V, Antoncicchi V, Valle R, et al. Galectin-3 serum levels are independently associated with microalbuminuria in chronic heart failure outpatients. *Research in Cardiovascular Medicine* 2016; 5(1).
212. Zamora E, Lupón J, de Antonio M, Galán A, Domingo M, Urrutia A, et al. Renal function largely influences Galectin-3 prognostic value in heart failure. *Int J Cardiol* 2014; 177(1):171-177.
213. French B, Wang L, Ky B, Brandimarto J, Basuray A, Fang JC, et al. Prognostic value of galectin-3 for adverse outcomes in chronic heart failure. *J Card Fail* 2016; 22(4):256-262.
214. Yin Q-S, Shi B, Dong L, Bi L. Comparative study of galectin-3 and B-type natriuretic peptide as biomarkers for the diagnosis of heart failure. *Journal of Geriatric Cardiology: JGC* 2014; 11(1):79.
215. Gruson D, Ferracin B, Ahn SA, Rousseau MF. Comparison of fibroblast growth factor 23, soluble ST2 and Galectin-3 for prognostication of cardiovascular death in heart failure patients. *Int J Cardiol* 2015; 189:185.
216. Chang Y-Y, Chen A, Wu X-M, Hsu T-P, Liu L-YD, Chen Y-H, et al. Comparison the prognostic value of galectin-3 and serum markers of cardiac extracellular matrix turnover in patients with chronic systolic heart failure. *Int J Med Sci* 2014; 11(11):1098.
217. Yang H, Filipovic Z, Brown D, Breit SN, Vassilev LT. Macrophage inhibitory cytokine-1: a novel biomarker for p53 pathway activation. *Mol Cancer Ther* 2003; 2(10):1023-1029.
218. Wallentin L, Hijazi Z, Andersson U, Alexander JH, De Caterina R, Hanna M, et al. Growth differentiation factor 15, a marker of oxidative stress and inflammation, for risk assessment in patients with atrial fibrillation: insights from the Apixaban for Reduction in Stroke and Other Thromboembolic Events in Atrial Fibrillation (ARISTOTLE) trial. *Circulation* 2014; 130(21):1847-1858.
219. Ding Q, Mracek T, Gonzalez-Muniesa P, Kos K, Wilding J, Trayhurn P, et al. Identification of macrophage inhibitory cytokine-1 in adipose tissue and its secretion as an adipokine by human adipocytes. *Endocrinology* 2009; 150(4):1688-1696.
220. De Jager SC, Bermúdez B, Bot I, Koenen RR, Bot M, Kavelaars A, et al. Growth differentiation factor 15 deficiency protects against atherosclerosis by attenuating CCR2-mediated macrophage chemotaxis. *J Exp Med* 2011; 208(2):217-225.
221. Kempf T, Eden M, Strelau J, Naguib M, Willenbockel C, Tongers Jr, et al. The transforming growth factor- β superfamily member growth-differentiation factor-15 protects the heart from ischemia/reperfusion injury. *Circ Res* 2006; 98(3):351-360.
222. Lok SI, Winkens B, Goldschmeding R, van Geffen AJ, Nous FM, van Kuik J, et al. Circulating growth differentiation factor - 15 correlates with myocardial fibrosis in patients with non - ischaemic dilated cardiomyopathy and decreases rapidly after left ventricular assist device support. *Eur J Heart Fail* 2012; 14(11):1249-1256.
223. Tsai V, Lin S, Brown D, Salis A, Breit S. Anorexia-cachexia and obesity treatment may be two sides of the same coin: role of the TGF- β superfamily cytokine MIC-1/GDF15. *Int J Obes* 2016; 40(2):193-197.
224. Anand IS, Kempf T, Rector TS, Tapken H, Allhoff T, Jantzen F, et al. Serial measurement of growth-differentiation factor-15 in heart failure: relation to disease severity and prognosis in the Valsartan Heart Failure Trial. *Circulation* 2010; 122(14):1387-1395.
225. Kempf T, Zarbock A, Widera C, Butz S, Stadtmann A, Rossaint J, et al. GDF-15 is an inhibitor of leukocyte integrin activation required for survival after myocardial infarction in mice. *Nat Med* 2011; 17(5):581-588.

-
226. Chan MM, Santhanakrishnan R, Chong JP, Chen Z, Tai BC, Liew OW, et al. Growth differentiation factor 15 in heart failure with preserved vs. reduced ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2016; 18(1):81-88.
 227. Stahrenberg R, Edelmann F, Mende M, Kockskämper A, Dungen HD, Lüers C, et al. The novel biomarker growth differentiation factor 15 in heart failure with normal ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2010; 12(12):1309-1316.
 228. Santhanakrishnan R, Chong JP, Ng TP, Ling LH, Sim D, Toh G, Leong K, et al. Growth differentiation factor 15, ST2, high - sensitivity troponin T, and N - terminal pro brain natriuretic peptide in heart failure with preserved vs. reduced ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2012; 14(12):1338-1347.
 229. Foley PW, Stegemann B, Ng K, Ramachandran S, Proudler A, Frenneaux MP, et al. Growth differentiation factor-15 predicts mortality and morbidity after cardiac resynchronization therapy. *Eur Heart J* 2009; 30(22):2749-2757.
 230. Frankenstein L, Remppis A, Frankenstein J, Hess G, Zdunek D, Slottje K, et al. Variability of N-terminal probrain natriuretic peptide in stable chronic heart failure and its relation to changes in clinical variables. *Clin Chem* 2009; 55(5):923-929.
 231. Kato TS, Chokshi A, Singh P, Khawaja T, Cheema F, Akashi H, et al. Effects of continuous-flow versus pulsatile-flow left ventricular assist devices on myocardial unloading and remodeling. *Circ Heart Fail* 2011; 4(5):546-553.
 232. Izumiya Y, Hanatani S, Kimura Y, Takashio S, Yamamoto E, Kusaka H, et al. Growth differentiation factor-15 is a useful prognostic marker in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Can J Cardiol* 2014; 30(3):338-344.
 233. Xu X-y, Nie Y, Wang F-f, Bai Y, Lu Z-z, Zhang Y-y, et al. GDF-15 blocks norepinephrine-induced myocardial hypertrophy via a novel pathway involving inhibition of EGFR transactivation. *J Biol Chem* 2014; jbc. M113. 516278.
 234. Sharma A, Stevens SR, Lucas J, Fiuzat M, Adams KF, Whellan DJ, et al. Utility of growth differentiation factor-15, a marker of oxidative stress and inflammation, in chronic heart failure: insights from the HF-ACTION study. *JACC: Heart Failure* 2017; 5(10):724-734.
 235. Cotter G, Voors AA, Prescott MF, Felker GM, Filippatos G, Greenberg BH, et al. Growth differentiation factor 15 (GDF - 15) in patients admitted for acute heart failure: results from the RELAX - AHF study. *Eur J Heart Fail* 2015; 17(11):1133-1143.
 236. Hage C, Michaëlsson E, Linde C, Donal E, Daubert J-C, Gan L-M, et al. Inflammatory biomarkers predict heart failure severity and prognosis in patients with heart failure with preserved ejection fraction: a holistic proteomic approach. *Circ Cardiovasc Genet* 2017; 10(1):e001633.
 237. Tromp J, van der Pol A, Klip IT, de Boer RA, Jaarsma T, van Gilst WH, et al. Fibrosis marker syndecan-1 and outcome in patients with heart failure with reduced and preserved ejection fraction. *Circ Heart Fail* 2014; 7(3):457-462.
 238. Gopal S, Søggaard P, Mulhaupt HA, Pataki C, Okina E, Xian X, et al. Transmembrane proteoglycans control stretch-activated channels to set cytosolic calcium levels. *J Cell Biol* 2015; 210(7):1199-1211.
 239. Bujak M, Frangogiannis NG. The role of TGF- β signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling. *Cardiovasc Res* 2007; 74(2):184-195.
 240. Postmus D, van Veldhuisen DJ, Jaarsma T, Luttik ML, Lassus J, Mebazaa A, et al. The COACH risk engine: a multistate model for predicting survival and hospitalization in patients with heart failure. *Eur J Heart Fail* 2012; 14(2):168-175.
 241. Borlaug BA, Paulus WJ. Heart failure with preserved ejection fraction: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Eur Heart J* 2011; 32(6):670-679.
 242. Meyer S, van der Meer P, van Deursen VM, Jaarsma T, van Veldhuisen DJ, van der Wal MH, et al. Neurohormonal and clinical sex differences in heart failure. *Eur Heart J* 2013; 34(32):2538-2547.
 243. Egido A, Iglesias-Garriz I, Rodriguez-Garcia M, Fernandez-Vazquez F, Gonzalo-Orden J. Syndecan-1 and Outcome of Ambulatory Patients with Stable Heart Failure. *J Mol Biomark Diagn* 2018; 9(401):2.

-
244. Wiig H, Swartz MA. Interstitial fluid and lymph formation and transport: physiological regulation and roles in inflammation and cancer. *Physiol Rev* 2012; 92(3):1005-1060.
 245. Garcia-Dorado D, Andres-Villarreal M, Ruiz-Meana M, Inerte J, Barba I. Myocardial edema: a translational view. *J Mol Cell Cardiol* 2012; 52(5):931-939.
 246. Nijst P, Verbrugge FH, Grieten L, Dupont M, Steels P, Tang WW, et al. The pathophysiological role of interstitial sodium in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2015; 65(4):378-388.
 247. de Oliveira Neves FM, Meneses GC, Sousa NEA, Parahyba MC, Martins AMC, Libório AB. Syndecan-1 in Acute Decompensated Heart Failure—Association With Renal Function and Mortality—. *Circ J* 2015:CJ-14-1195.
 248. Finsen AV, Woldbaek PR, Li J, Wu J, Lyberg T, Tønnessen T, et al. Increased syndecan expression following myocardial infarction indicates a role in cardiac remodeling. *Physiological genomics* 2004; 16(3):301-308.
 249. Soto Y, Mesa N, Alfonso Y, Pérez A, Batlle F, Griñán T, et al. Targeting arterial wall sulfated glycosaminoglycans in rabbit atherosclerosis with a mouse/human chimeric antibody. in *MAbs*. 2014. Taylor & Francis.
 250. Miranda CH, de Carvalho Borges M, Schmidt A, Marin-Neto JA, Pazin-Filho A. Evaluation of the endothelial glycocalyx damage in patients with acute coronary syndrome. *Atherosclerosis* 2016; 247:184-188.
 251. Sueta D, Hokimoto S. Could Circulatory Syndecan-1 Be a Predictable Biomarker for Acute Kidney Injury in Patients With Acute Decompensated Heart Failure? *Circ J* 2015; 79(7):1444-1445.
 252. Kliment CR, Englert JM, Gochuico BR, Yu G, Kaminski N, Rosas I, et al. Oxidative stress alters syndecan-1 distribution in lungs with pulmonary fibrosis. *J Biol Chem* 2009; 284(6):3537-3545.
 253. Wang J-B, Zhang Y-J, Guan J, Zhou L, Sheng Y, Zhang Y, et al. Enhanced syndecan-1 expression on neutrophils in patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 2012; 49(1):41-46.
 254. Chelazzi C, Villa G, Mancinelli P, De Gaudio AR, Adembri C. Glycocalyx and sepsis-induced alterations in vascular permeability. *Critical care* 2015; 19(1):1-7.
 255. Johansson PI, Bro-Jeppesen J, Kjaergaard J, Wanscher M, Hassager C, Ostrowski SR. Sympathoadrenal activation and endothelial damage are inter correlated and predict increased mortality in patients resuscitated after out-of-hospital cardiac arrest. a post Hoc sub-study of patients from the TTM-trial. *PLoS One* 2015; 10(3):e0120914.
 256. Heusch G, Libby P, Gersh B, Yellon D, Böhm M, Lopaschuk G, et al. Cardiovascular remodelling in coronary artery disease and heart failure. *The Lancet* 2014; 383(9932):1933-1943.
 257. Drazner MH, Rame JE, Marino EK, Gottdiener JS, Kitzman DW, Gardin JM, et al. Increased left ventricular mass is a risk factor for the development of a depressed left ventricular ejection fraction within five years: the Cardiovascular Health Study. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43(12):2207-2215.
 258. Heinzl FR, Hohendanner F, Jin G, Sedej S, Edelmann F. Myocardial hypertrophy and its role in heart failure with preserved ejection fraction. *J Appl Physiol* 2015; 119(10):1233-1242.
 259. Bayes-Genis A, Richards AM, Maisel AS, Mueller C, Ky B. Multimarker testing with ST2 in chronic heart failure. *The American journal of cardiology* 2015; 115(7):76B-80B.
 260. Pitt B, Pfeffer MA, Assmann SF, Boineau R, Anand IS, Claggett B, et al. Spironolactone for heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med* 2014; 370:1383-1392.
 261. Manzano-Fernández S, Mueller T, Pascual-Figal D, Truong QA, Januzzi JL. Usefulness of soluble concentrations of interleukin family member ST2 as predictor of mortality in patients with acutely decompensated heart failure relative to left ventricular ejection fraction. *The American journal of cardiology* 2011; 107(2):259-267.
 262. Meluzín J, Tomandl J. Can biomarkers help to diagnose early heart failure with preserved ejection fraction? *Dis Markers* 2015; 2015.
 263. Wang F, Guo Y, Yu H, Zheng L, Mi L, Gao W. Growth differentiation factor 15 in different stages of heart failure: potential screening implications. *Biomarkers* 2010; 15(8):671-676.

-
264. Jung C, Fuernau G, Muench P, Desch S, Eitel I, Schuler G, et al. Impairment of the endothelial glycocalyx in cardiogenic shock and its prognostic relevance. *Shock* 2015; 43(5):450-455.
265. Reitsma S, Slaaf DW, Vink H, Van Zandvoort MA, oude Egbrink MG. The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology* 2007; 454(3):345-359.
266. Tschöpe C, Kašner M, Westermann D, Gaub R, Poller WC, Schultheiss H-P. The role of NT-proBNP in the diagnostics of isolated diastolic dysfunction: correlation with echocardiographic and invasive measurements. *Eur Heart J* 2005; 26(21):2277-2284.
267. Shah AM, Claggett B, Sweitzer NK, Shah SJ, Anand IS, O'Meara E, et al. Cardiac structure and function and prognosis in heart failure with preserved ejection fraction: findings from the echocardiographic study of the Treatment of Preserved Cardiac Function Heart Failure with an Aldosterone Antagonist (TOPCAT) Trial. *Circ Heart Fail* 2014; 7(5):740-751.
268. Butler J, Fonarow GC, Zile MR, Lam CS, Roessig L, Schelbert EB, et al. Developing therapies for heart failure with preserved ejection fraction: current state and future directions. *JACC: Heart Failure* 2014; 2(2):97-112.
269. Senni M, Paulus WJ, Gavazzi A, Fraser AG, Díez J, Solomon SD, et al. New strategies for heart failure with preserved ejection fraction: the importance of targeted therapies for heart failure phenotypes. *Eur Heart J* 2014; 35(40):2797-2815.
270. Andersson C, Vasan RS. Epidemiology of heart failure with preserved ejection fraction. *Heart Fail Clin* 2014; 10(3):377-388.
271. Tromp J, Westenbrink BD, Ouwerkerk W, van Veldhuisen DJ, Samani NJ, Ponikowski P, et al. Identifying pathophysiological mechanisms in heart failure with reduced versus preserved ejection fraction. *J Am Coll Cardiol* 2018; 72(10):1081-1090.
272. Ahmad T, Pencina MJ, Schulte PJ, O'Brien E, Whellan DJ, Piña IL, et al. Clinical implications of chronic heart failure phenotypes defined by cluster analysis. *J Am Coll Cardiol* 2014; 64(17):1765-1774.
273. Shah SJ, Katz DH, Selvaraj S, Burke MA, Yancy CW, Gheorghiade M, et al. Phenomapping for novel classification of heart failure with preserved ejection fraction. *Circulation* 2015; 131(3):269-279.
274. Hwang S-J, Melenovsky V, Borlaug BA. Implications of coronary artery disease in heart failure with preserved ejection fraction. *J Am Coll Cardiol* 2014; 63(25 Part A):2817-2827.
275. Edelmann F, Gelbrich G, Dungen H-D, Fröhling S, Wachter R, Stahrenberg R, et al. Exercise training improves exercise capacity and diastolic function in patients with heart failure with preserved ejection fraction: results of the Ex-DHF (Exercise training in Diastolic Heart Failure) pilot study. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58(17):1780-1791.
276. Ohara T, Little WC. Evolving focus on diastolic dysfunction in patients with coronary artery disease. *Curr Opin Cardiol* 2010; 25(6):613-621.
277. Sanchis L, Andrea R, Falces C, Llopis J, Morales - Ruiz M, López - Sobrino T, et al. Prognosis of new - onset heart failure outpatients and collagen biomarkers. *Eur J Clin Invest* 2015; 45(8):842-849.
278. Samson R, Jaiswal A, Ennezat PV, Cassidy M, Le Jemtel TH. Clinical phenotypes in heart failure with preserved ejection fraction. *Journal of the American Heart Association* 2016; 5(1):e002477.
279. Liu CM, Lin CY, Chang SL, Lin YJ, Lo LW, Hu YF, et al. Intermediate Pause at Daytime Is Associated With Increased Cardiovascular Risk and Mortality: An 8 - Year Cohort Study. *Journal of the American Heart Association* 2018; 7(12):e009034.

Lista slika

Slika 1. Šematski prikaz miokardne abnormalnosti u srčanoj insuficijenciji sa očuvanom ejeccionom frakcijom.....	9
Slika 2. Šematski prikaz multiorganske hipoteze nastanka srčane insuficijencije sa očuvanom ejeccionom frakcijom.....	10
Slika 3. Aktivacija neurohumoralnog sistema u patogenezi srčane insuficijencije sa redukovanom ejeccionom.....	18
Slika 4. Efekti aktivacije simpatičkog nervnog sistema na srce, bubrege i perifernu vaskulaturu.....	20
Slika 5. Miokardno i ćelijsko remodelovanje kao odgovor na hemodinamsko preopterećenje.....	23
Slika 6. Patofiziološki mehanizmi u nastanku srčane slabosti i biomarkeri koji ih reflektuju.....	29
Slika 7. Patogenetski mehanizmi koji učestvuju u procesu oštećenja miokarda i potencijalni biomarkeri u srčanoj insuficijenciji.....	30
Slika 8. Patofiziološki efekti solubilne i transmembranske forme ST2.....	35
Slika 9. Signalizacija IL-33/ST2 u neoštećenom srcu i u patogenezi srčane insuficijencije.....	36
Slika 10. Struktura galektina-3.....	39
Slika 11. Interakcija delovanja aldosterona i galektina-3.....	40
Slika 12. Kardioprotektivni efekti GDF-15.....	44
Slika 13. Patofiziologija sindekana.....	48
Slika 14. Interakcija sindekana-1 i sistema renin angiotenzin aldosteron u patogenezi miokardne fibroze.....	50

Lista tabela

Tabela 1. Promene miokarda tokom remodelovanja leve komore.....	22
Tabela 2. Povećanje opterećenja u METs-ima sa povećanjem brzine trake u km/h i nagiba (MPH).....	58
Tabela 3. Klasifikacija ventrikularnih ekstrasistola po Lown-u.....	60
Tabela 4. Osnovni demografski, klinički i biohemijski parametri ispitanika uključenih u studiju.....	64
Tabela 5. Koncentracije biomarkera u plazmi kod ispitanika kliničke i kontrolne grupe.....	65
Tabela 6. Osnovni ehokardiografski parametri pacijenata kliničke i kontrolne grupe.....	66
Tabela 7. Osnovni parametri 24h-EKG monitoringa ispitanika kliničke i kontrolne grupe.....	67
Tabela 8. Osnovni parametri testa opterećenja ispitanika kliničke i kontrolne grupe.....	68
Tabela 9. Korelaciona analiza između EF i koncentracija ispitivanih biomarkera kod pacijenata kliničke grupe.....	68
Tabela 10. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za smanjenje jačine ejeckione frakcije <40% kod ispitanika kliničke grupe.....	69
Tabela 11. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za povećanje indeksa mase leve komore za muškarce (>115) i žene (>95) kod ispitanika kliničke grupe.....	70
Tabela 12. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za povećanje dijametra leve pretkomore (>40) kod ispitanika kliničke grupe.....	71
Tabela 13. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za pojavu za razvoj dijasolne disfunkcije (E/A<1) kod ispitanika kliničke grupe.....	71
Tabela 14. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za pojavu miokardne ishemijske kod ispitanika u kliničkoj grupi.....	72
Tabela 15. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za pojavu atrijalne fibrilacije kod ispitanika u kliničkoj grupi.....	72
Tabela 16. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za pojavu pauza u srčanom radu (>2 sek) kod ispitanika kliničke grupe.....	73
Tabela 17. Univarijantni odds ratio (OR) i 95% interval poverenja (CI) za pojavu bradikardije (>35/min) kod ispitanika kliničke grupe.....	73
Tabela 18. Osnovni demografski i klinički parametri pacijenata u kliničkim podgrupama klasifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije.....	75
Tabela 19. Osnovni biohemijski parametri pacijenata u kliničkim podgrupama klasifikovani prema kategoriji ejeckione frakcije.....	76
Tabela 20. Primenjena terapija prema kategoriji ejeckione frakcije.....	77
Tabela 21. Koncentracije biomarkera u plazmi kod ispitanika kliničkih podgrupa i kontrolne grupe.....	78
Tabela 22. Osnovni ehokardiografski parametri pacijenata u kliničkim podgrupama klasifikovanih prema kategoriji ejeckione frakcije.....	80
Tabela 23. Osnovni parametri 24h-EKG monitoringa pacijenata u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema kategoriji ejeckione frakcije.....	81
Tabela 24. Osnovni parametri dobijenih na testu fizičkim opterećenjem u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema kategoriji ejeckione frakcije.....	82
Tabela 25. Koeficijent regresije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera	

u plazmi i IMLK u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema vrednostima ejeckione frakcije.....	83
Tabela 26. Koeficijent regresije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i dijametra leve pretkomore u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejeckionoj frakciji.....	84
Tabela 27. Koeficijent regresije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i razvoja dijastolne disfunkcije u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejeckionoj frakciji.....	85
Tabela 28. Koeficijent regresije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i pojave miokardne ishemije u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejeckionoj frakciji.....	86
Tabela 29. Koeficijent korelacije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i pojave atrijalne fibrilacije u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejeckionoj frakciji.....	87
Tabela 30. Koeficijent korelacije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i pojava pauza u srčanom radu u kliničkim podgrupama klasifikovanih prema ejeckionoj frakciji.....	87
Tabela 31. Koeficijent korelacije između kliničkih, laboratorijskih parametara, biomarkera u plazmi i pojave bradikardije u kliničkim podgrupama klasifikovanim prema ejeckionoj frakciji.....	88
Tabela 32. Koeficijent korelacije između ehokardiografskih parametara i koncentracija biomarkera u plazmi prema kategoriji ejeckione frakcije.....	89
Tabela 33. Koncentracije biomarkera miokardnog remodelovanja kod pacijenata sa očuvanom EF klasifikovanih metodom aglomerativne hijerarhijske klasifikacije.....	91
Tabela 34. Osnovne demografske i kliničke karakteristike pacijenata sa očuvanom ejeckionom frakcijom klasifikovanih prema primenjenoj klaster analizi.....	92
žTabela 35. Osnovni hematološko-biohemijski parametri pacijenata sa očuvanom ejeckionom frakcijom prema klaster klasifikaciji.....	93
Tabela 36. Osnovni ehokardiografski parametri pacijenata sa očuvanom ejeckionom frakcijom prema klaster klasifikaciji.....	94
Tabela 37. Osnovni parametri 24h-EKG monitoringa pacijenata sa očuvanom ejeckionom frakcijom prema klaster klasifikaciji.....	94

Lista grafikona

Grafik 1. Struktura kliničke grupe u odnosu na kategoriju ejeckione frakcije.....	74
Grafik 2. Primenjena terapija prema kategoriji ejeckione frakcije.....	78
Grafik 3. Biomarkeri miokardnog remodelovanja klasifikovani prema ejeckionoj frakciji.....	79
Grafik 4. Dendrogram klaster analize prema koncentracijama biomarkera miokardnog remodelovanja kod pacijenata sa očuvanom ejeckionom frakcijom.....	90

Lista skraćenica

AHA	Američko udruženje kardiologa
ATP	adenozin trifosfat
AT1	angiotenzin-1
AVP	arginin vazopresin
ANP	atrijalni (pretkomorski) natriuretski peptid
ADM	adrenomedulin
AKT (PKB)	protein kinaza B
ALK	anaplastična limfomska kinaza
AIK	akutni infarkt miokarda
ACEI	inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima
ARB/AT1	blokatori angiotenzinskih receptora
AHK	aglomerativna hijerarhijska klasifikacija
AST	aspartat aminotransferaza
ALT	alanin aminotransferaza
BMI	indeks telesne mase
BNP	moždani natriuretski peptid
β-AR	beta adrenergički receptor
BAD	vezani promoter smrti
cGMP	ciklični guanozin monofosfat
cAMP	ciklični adenozin monofosfat
CNP	C tip natriuretskog peptida
CRP	C reaktivni protein
CKMB	kreatin kinaza-MB
CNS	centralni nervni sistem
CVI	cerebrovaskularni inzult
CRD	ugljenohidrantna komponenta galektina-3
CTGF	faktor rasta za vezivno tkivo
GABG	aorto-koronarni bajpas
CI	interval poverenja
Ca ²⁺	joni kalcijuma
DNP	dendroaspin natriuretski peptid
DP	dijastolni pritisak
DK	desna komora
DPK	desna pretkomora
DZZ	debljina zadnjeg zida
DZLK	debljina zida leve komore
ESC	Evropsko udruženje kardiologa
ESH	Evropsko udruženje za hipertenziju
EF	ejekciona frakcija
ECM	ekstraćelijski matriks
ERK	ekstraćelijska signal-regulatorna kinaza

EGFR	epidermalni faktor rasta
eNOS	endotelna azot monoksid sintaza
ESD	end-sistolni dijametar
EDD	end-dijastolni dijametar
E/A	dijastolna disfunkcija
EKG	elektrokardiogram
eGFR	procenjena jačina glomerulske filtracije
ELISA	imunohromatografski test
FGF	faktor rasta za fibroblaste
GDF-15	faktor rasta i diferencijacije-15
HF	srčana insuficijencija (slabost)
HFpEF	srčana slabost sa očuvanom e젝cionom frakcijom
HFmrEF	srčana slabost sa graničnom e젝cionom frakcijom
HFrfEF	srčana slabost sa redukovanom e젝cionom frakcijom
HGF	faktor rasta hepatocita
HRV	varijabilnost srčane frekvencije
hsTn	visokosenzitivni troponin
HOBP	hronična opstruktivna bolest pluća
HbA _{1c}	glikolizirani hemoglobin
HDL	lipoprotein visoke gustine
IL-6	interleukin-6
IL-1 β	interleukin-1 beta
IMLK	indeks mase leve komore
IVS	debljina interventrikularnog septuma
JNK	C-jun N-terminalna kinaza
K ⁺	joni kalijuma
KIM-1	molekul bubrežnog oštećenja 1
LK	leva komora
LPK	leva pretkomora
LDL	lipoprotein male gustine
MMP	matriks metaloproteinaza
MPO	mijeloperoksidaza
MAP	mitogenom aktivirana protein kinaza
M-CFS	faktor stimulacije kolonije maktofaga
MIC-1	makrofagni inhibitor citokina 1
MLK	masa leve komore
MF	metformin
NYHA	Njujorško kardiološko društvo
NF	nuklearni faktor
NP	natriuretski peptid
NO	azot oksid
Na ⁺	joni natrijuma
NT-pro BNP	N-terminalni neaktivni pro BNP
NPR a,b, c	natriuretski peptidi receptori a, b, c
NSTEMI	akutni infarkt miokarda bez elevacije ST segmenta
NGAL	neutrofilna gelatinaza udružena sa lipokaliksiom
OR	unakrsni odnos
OHG	oralni hipoglikemici
PKA	protein kinaza A
PKG	protein kinaza G

PTX 3	pentraksin 3
PI3K	PI3-kinaza
PSR	poremećaj srčanog ritma
PCI	perkutana koronarna intervencija
PMI	perkutana implantacija pacemakera
PP	pulsni pritisak
RAAS	renin angiotenzin aldosteron sistem
SNS	simpatički nervni sistem
sST2	solubilni supresor tumorigeneze 2
ST2L	transmembranska izoforma solubilnog supresora tumorigeneze 2
SP	sistolni pritisak
SAP	srednji arterijski pritisak
SPDK	sistolni pritisak u desnoj komori
SVES	supraventrikularne ekstrasistole
SFM	submaksimalna srčana frekvencija
SET	strešehokardiografski test
SU	sulfonilureja
SD	standardna devijacija
TNF- α	tumorski faktor nekroze alfa
TGF-15	transformišući faktor rasta 15
TGF- β	transformišući faktor rasta beta
TIR	tol interleukin 1 receptor
TnT	troponin T
TnI	troponin I
TFO	test fizičkim opterećenjem
TIMP	tkivni inhibitor metaloproteinaza
TAPSE	sistolna ekskurzija trikuspidne prstenaste ravni
TH	totalni holesterol
Tg	trigliceridi
VEGF	vaskularni endotelni faktor rasta
VO ₂	zapremina potrošnje kiseonika
VES	ventrikularne ekstrasistole
VF	ventrikularna fibrilacija
VT	ventrikularna tahikardija
ZZLK	zadnji zid leve komore

Biografija autora

Valentina (Tomislav) Mitić, rođena je 05.10.1977. godine u Skoplju. Osnovnu školu „Ivan Goran Kovačić“ u Niškoj Banji završila je sa odličnim uspehom. Srednju medicinsku školu „dr Milenko Hadžić u Nišu, je završila sa odličnim uspehom i bila je učesnik brojnih takmičenja.

Medicinski fakultet u Nišu je upisala 1996/1997. godine, a diplomirala februara 2004. godine, sa prosečnom ocenom 8,92. Stručni ispit za doktora medicine položila je 2005. godine, a avgusta 2006. primljena je u Institut za lečenje i rehabilitaciju „Niška Banja“ po tipu stručnog usavršavanja. Od juna 2009. godine nalazi se u stalnom radnom odnosu.

Tokom svog rada, učestvovala je u brojnim naučno-istraživačkim projektima koji su sprovedeni u Institutu. Specijalizaciju iz oblasti Interne medicine upisala je aprila 2011. godine na Medicinskom fakultetu u Nišu i zvanje specijaliste interne medicine stekla 17. novembra 2016. godine. Doktorske akademske studije upisala je 2015. godine na Medicinskom fakultetu u Nišu.

Član je većeg broja stručnih i naučnih asocijacija: Evropskog udruženja kardiologa, Udruženja kardiologa Srbije, Evropskog udruženja za atrijsku fibrilaciju, Evropskog udruženja za srčanu insuficijenciju i rehabilitaciju, Evropskog udruženja nefrologa, Srpskog lekarskog društva i Lekarske komore Srbije.

Učestvovala je na mnogobrojnim nacionalnim i evropskim kardiološkim i internističkim kongresima, u cilju daljeg stručnog usavršavanja.