



УНИВЕРЗИТЕТ У НИШУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ



Драгана М. Станојевић

**ЗНАЧАЈ МАРКЕРА ЕНДОТЕЛНЕ ДИСФУНКЦИЈЕ, ОКСИДАТИВНОГ
СТРЕСА И ИНФЛАМАЦИЈЕ У ДВОГОДИШЊОЈ ПРОГНОЗИ КОД
БОЛЕСНИКА СА АКУТНИМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА**

- ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА -

Ниш, 2016.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



Dragana M. Stanojević

**THE SIGNIFICANCE OF MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION,
OXSIDATIVE STRESS AND INFLAMMATION IN TWO-YEAR PROGNOSIS IN
PATIENTS WITH ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION**

- DOCTORAL DISSERTATION -

Niš, 2016.

Велику захвалност на помоћи при изради докторске тезе дугујем свом ментору, проф. др Светлани Апостоловић, која је корисним саветима била уз мене, још од тренутка када је докторска теза била само прегрип идеја. Захвална сам јој што остаје узор у доследности научној мисли и истрајности у истраживању, као и несебична подршка на коју увек могу рачунати. Њој дугујем инспирацију за научну мисао, ослонац да истрајем и да уживам у научном раду. Драга професорка, знам сам да ће прва реченица након завршеног рада на докторској тези бити Ваша чувена: „Идемо даље, имамо идеје које нас чекају.“

Проф. др Соњи Раденковић сам захвална на бескрајном стрпљењу и драгоценом времену при помоћи у обликовању научне мисли, а тај део научно-стваралачког процеса учим од ње још од семинарских студентских радова. Проф. др Видосави Ђорђевић сам захвална на подршци коју ми пружа, као и на драгоценим смерницама у научном раду. Проф. др Ивани Стојановић, проф. др Владану Ћосићу и др Татјани Ристић захваљујем на сатима проведеним на преданом раду у лабораторији и корисним саветима.

Драги учитељи, колеге, сарадници, и драги ментору, пре свих, хвала Вам на несебичној подршци, част је сарађивати са вама !

Драгана Станојевић, мај 2016.

Подаци о докторској дисертацији

Ментор: Проф. др Светлана Апостоловић, Универзитет у Нишу, Медицински факултет

Наслов: Значај маркера ендотелне дисфункције, оксидативног стреса и инфламације у двогодишњој прогнози код болесника са акутним инфарктом миокарда

У етиопатогенези акутног инфаркта миокарда, поред исхемије и некрозе, значајну улогу играју инфламација, ендотелна дисфункција и оксидативни стрес. До данас није нађен јединствени маркер који би одражавао све процесе укључене у настанак дестабилизације атеросклеротског плака, односно, појаву акутног коронарног догађаја, као и последичне дисфункције миокарда. Из тих разлога, неопходно је спровести мулти-маркер испитивање, које би нам дало, не само увид у активацију појединих механизма укључених у настанак овог стања, већ би се одредила и прогноза болести.

Циљ истраживања је био одређивање вредности појединих маркера ендотелне дисфункције (ендотелина-1, уринарног албимин-креатинин односа, деградационих продуката азот-моноксида), маркера оксидативног стреса (супероксид-дизмутазе, каталазе, глутатион-пероксидазе, тиолних група, малондиалдехида и узапредовалих продуката оксидације протеина) и инфламације, трећег дана од настанка акутног коронарног догађаја, и процена значаја ових маркера, као предиктора двогодишње прогнозе болесника са акутним коронарним синдромом.

Добијени резултати указују на то да су маркери ендотелне дисфункције, оксидативног стреса и инфламације повишени трећег дана након акутног инфаркта миокарда, као и да њихово одређивање може значајно допринети интрахоспиталној и двогодишњој прогнози. Концентрације ендотелина-1 изнад 75. перцентила су биле удружене са лошом интрахоспиталном и двогодишњом прогнозом, док је повишена вредност уринарног албумин-креатинин односа била удружена са ризиком од двогодишњег морталитета и реинфаркта услед ин-стент тромбозе. Снижен ниво деградационих продуката азот-моноксида је указивао на већу вероватноћу рехоспитализације, током две године праћења, док је повишена активност супероксид-дизмутазе, са истовремено сниженом концентрацијом тиолних група, малондиалдехида и узапредовалих продуката оксидације протеина, била удружена са лошом интрахоспиталном и двогодишњом прогнозом. Снижена концентрација серумског калијума је била фактор ризика за настанак интрахоспиталног морталитета.

Интегративни мултимаркер приступ даје бољи увид у прогнозу болесника у акутном инфаркту миокарда, као и могућност благовремене примене адекватних терапијских поступака.

Научна област: Медицина

Научна дисциплина:	Кардиологија
Кључне речи:	акутни инфаркт миокарда, ендотелна дисфункција, оксидативни стрес, инфламација, прогноза
УДК:	577.2:616.1]:616.127-005.8(043.3)
CERIF класификација:	B 530
Тип лиценце Креативне заједнице:	CC BY-NC-ND

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral
Supervisor:

Professor Svetlana Apostolović, University of Niš, Medical Faculty

Title:

The significance of markers of endothelial dysfunction, oxidative stress and inflammation in two-year prognosis in patients with acute myocardial infarction

Abstract:

In the etiopathogenesis of acute myocardial infarction, in addition to ischemia and necrosis, an important role play inflammation, endothelial dysfunction, and oxidative stress. A single marker that would reflect all the processes involved in the formation of atherosclerotic plaque, its destabilization and the occurrence of acute coronary events resulting in myocardial dysfunction is not found. For these reasons, it is necessary to implement multimarker testing, which would give us, not only an insight into the activation of specific mechanisms involved in this situation but to determine the prognosis of the disease.

The aim of the research was to determine the value of certain markers of endothelial dysfunction (endothelin-1, a urinary albumin-creatinine ratio, nitric oxide degradation products), oxidative stress markers (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, thiol groups, malondialdehyde and advanced oxidation protein products) and markers of inflammation on the third day after an acute coronary event, and to evaluate the importance of these markers as predictors of two-year prognosis in patients with acute coronary syndrome.

The results show that markers of endothelial dysfunction, oxidative stress, and inflammation are raised on the third day after acute myocardial infarction and that their determination can significantly contribute to intrahospital and two-year prognosis. The concentrations of endothelin-1 above the 75th percentile were associated with poor intrahospital and two-year prognosis while the increased urinary albumin-creatinine ratio was associated with the risk of a two-year mortality and reinfarction due to in-stent thrombosis. Reduced levels of nitric oxide degradation products were associated with a higher probability of rehospitalization during the two-year follow-up, while the increased activity of superoxide dismutase, together with reduced concentrations of thiol groups, malondialdehyde, and advanced oxidation protein products, have been associated with a poor intrahospital and two-year prognosis. Reduced serum potassium was a risk factor for in-hospital mortality.

Multimarker integrative approach gives better insight into the prognosis in patients with acute myocardial infarction, as well as the possibility of timely application of the adequate therapeutic procedures.

Scientific
Field:

Medicine

Scientific
Discipline:

Cardiology

Key Words:

acute myocardial infarction, endothelial dysfunction, oxidative stress,
inflammation, prognosis

UDC:

CERIF
Classification:

B 530

Creative
Commons
License Type:

CC BY-NC-ND

1. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ	1
1.1. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА КАРДИОВАСКУЛАРНИХ ОБОЉЕЊА	1
1.2. АТЕРОСКЛЕРОЗА КАО НАЈЗНАЧАЈНИЈИ ЕТИОПАТОГЕНЕТСКИ МЕХАНИЗАМ У ОСНОВИ КАРДИОВАСКУЛАРНИХ БОЛЕСТИ	1
1.3. ЕНДОТЕЛ	5
1.4. ОКСИДАТИВНИ СТРЕС И АТЕРОСКЛЕРОЗА - ПОЧЕТАК И КРАЈ ЗАЈЕДНИЧКОГ ПУТА	14
1.5. ОКСИДАТИВНИ СТРЕС - РЕАКТИВНИ КИСЕОНИЧКИ РАДИКАЛИ И АНТИОКСИДАТИВНА ЗАШТИТА	16
1.6. БИОМАРКЕРИ ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА И ЕНДОТЕЛНЕ ДИСФУНКЦИЈЕ У АКУТНОМ ИНФАРКТУ МИОКАРДА	25
1.7. КОАГУЛАЦИОНО-ФИБРИНОЛИТИЧКИ СИСТЕМ У АТЕРОСКЛЕРОЗИ	30
1.8. АЛБУМИНУРИЈА	33
2. НАУЧНА ХИПОТЕЗА	39
3. ЦИЉ РАДА	40
4. ИСПИТАНИЦИ И МЕТОДЕ	41
4.1. ИСПИТАНИЦИ	41
4.2. МЕТОДЕ	44
4.3. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА	49
5. РЕЗУЛТАТИ	51
5.1. ПОЛНА И СТАРОСНА СТРУКТУРА ИСПИТИВАНИХ ГРУПА	51
5.2. ФАКТОРИ РИЗИКА ЗА КВБ У КЛИНИЧКОЈ И КОНТРОЛНОЈ ГРУПИ	51
5.3. КАРДИОВАСКУЛАРНА ОБОЉЕЊА КОД ИСПИТАНИКА КЛИНИЧКЕ ГРУПЕ	54
5.4. КЛИНИЧКО-ФУНКЦИОНАЛНИ И ЛАБОРАТОРИЈСКИ ПАРАМЕТРИ КОД КЛИНИЧКЕ И КОНТРОЛНЕ ГРУПЕ	56
5.5. МАРКЕРИ ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА И ЕНДОТЕЛНЕ ДИСФУНКЦИЈЕ У ИСПИТИВАНИМ ГРУПАМА	57
5.6. АКУТНИ КОРОНАРНИ ДОГАЂАЈ - ТИП И ТЕРАПИЈА	58
5.7. ЕЈЕКЦИОНА ФРАКЦИЈА ЛЕВЕ КОМОРЕ	60
5.8. КИЛИП КЛАСА НА ПРИЈЕМУ	61
5.9. БУБРЕЖНА ФУНКЦИЈА НА ПРИЈЕМУ У БОЛНИЦУ	62
5.10. ТИМ ПРОТОК НА КРАЈУ РЕПЕРФУЗИОНЕ ТЕРАПИЈЕ	62
5.11. ИСПИТИВАНИ БИОМАРКЕРИ КОД БОЛЕСНИКА СА STEMИ/NSTEMИ И РАЗЛИЧИТИМ ТИПОМ РЕПЕРФУЗИОНЕ ТЕРАПИЈЕ	64
5.12. УТИЦАЈ ПРЕТХОДНО КОРИШЋЕНЕ ТЕРАПИЈЕ (АСЕ ИНХИБИТОРА/АРВ, БЕТА-БЛОКАТОРА И СТАТИНА) НА ВРЕДНОСТ ИСПИТИВАНИХ ПАРАМЕТАРА	65
5.13. ИНТРАХОСПИТАЛНЕ КОМПЛИКАЦИЈЕ	66
5.14. УКУПНИ МОРТАЛИТЕТ У КЛИНИЧКОЈ ГРУПИ	70
5.15. РЕХОСПИТАЛИЗАЦИЈЕ	75
5.16. КОРЕЛАЦИЈА ИСПИТИВАНИХ БИОМАРКЕРА	77
5.17. МЕДИКАМЕНТНА ТЕРАПИЈА НА ОТПУСТУ	79

6. ДИСКУСИЈА	81
6.1. РАЗЛИКА У УЧЕСТАЛОСТИ АИМ КОД МУШКАРАЦА И ЖЕНА	81
6.2. УТИЦАЈ ТРАДИЦИОНАЛНИХ ФАКТОРА РИЗИКА И ПОСТОЈЕЋИХ КВБ НА ПРОМЕНЕ ВРЕДНОСТИ ПОЈЕДИНИХ БИОМАРКЕРА	81
6.3. АКТИВНОСТ АНТИКОСИДАТИВНИХ ЕНЗИМА (САТ, SOD, GPX) И КОНЦЕНТРАЦИЈА ТИОЛНИХ ГРУПА У КЛИНИЧКОЈ И КОНТРОЛНОЈ ГРУПИ	86
6.4. КОНЦЕНТРАЦИЈА ОКСИДАЦИОНИХ ПРОДУКАТА ПРОТЕИНА И ЛИПИДА (АОРР, МДА) У КЛИНИЧКОЈ И КОНТРОЛНОЈ ГРУПИ	88
6.5. МАРКЕРИ ИНФЛАМАЦИЈЕ У АИМ	90
6.6. ЕНДОТЕЛИН-1, NOX I UACR (МАРКЕРИ ЕНДОТЕЛНЕ ДИСФУНКЦИЈЕ)	90
6.7. МАРКЕРИ КОАГУЛАЦИОНО-ФИБРИНОЛИТИЧКЕ АКТИВНОСТИ У АИМ	91
6.8. РАЗЛИКЕ У ВРЕДНОСТИ БИОМАРКЕРА КОД БОЛЕСНИКА СА АКУТНИМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА СА ИЛИ БЕЗ ST СЕГМЕНТ ЕЛЕВАЦИЈЕ	92
6.9. АКТУЕЛНИ ТЕРАПИЈСКИ ПОСТУПЦИ	93
6.10. БИОМАРКЕРИ И ТИМІ ПРОТОК НАКОН РЕПЕРФУЗИОНЕ ТЕРАПИЈЕ	96
6.11. ВРЕДНОСТИ ИСПИТИВАНИХ БИОМАРКЕРА И ЕЈЕКЦИОНА ФУНКЦИЈА ЛЕВЕ КОМОРЕ	98
6.12. ПРОМЕНЕ У ВРЕДНОСТИМА БИОМАРКЕРА И ИНТРАХОСПИТАЛНЕ КОМПЛИКАЦИЈЕ КОД БОЛЕСНИКА СА АИМ	98
6.13. БИОМАРКЕРИ И МОРТАЛИТЕТ У АИМ	101
6.14. БИОМАРКЕР И РЕХОСПИТАЛИЗАЦИЈЕ ТОКОМ ДВЕ ГОДИНЕ ПРАЋЕЊА	104
6.15. КОРЕЛАЦИЈА МАРКЕРА ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА, ИНФЛАМАЦИЈЕ, ЕНДОТЕЛНЕ ДИСФУНКЦИЈЕ, МИОКАРДНЕ НЕКРОЗЕ И ХЕМОДИНАМСКИХ ПОРЕМЕЋАЈА - МУЛТИМАРКЕР ПРИСТУП	104
7. ЗАКЉУЧЦИ	106
8. ЛИТЕРАТУРА	108

СКРАЋЕНИЦЕ

ACE - ангиотензин-конвертујући ензим	LDL - липопротеини ниске густине
АСx - циркумфлексна коронарна артерија	LM - главно стабло леве коронарне артерије
ADMA - асиметрични диметиларгинин	Lp(a) - липопротеин а
АИМ - акутни инфаркт миокарда	МА - микроалбуминурија
АКБП - аотокоронарни бајпас	MDA - малондиалдехид
АКС - акутни коронарни синдром	MDRD формула - The Modification of Diet in Renal Disease формула
ALT - аланин аминотрансфераза	MPO - мијелопероксидаза
ANP - атријални натриуретски пептид	mtNOS - митохондријална азот-моноксид синатаза
apo (a) - аполипопротеин А1	mtPHK - митохондријална рибонуклеинска киселина
AOPP - узнапредовали оксидисани протеински продукти	NADPH - никотинамид аденин динуклеотид фосфат
APC - активисани протеин С	NEP - неутрална ендопептидаза
ARB - блокатор ангиотензинских рецептора	nNOS - неуронална форма азот-моноксид синтазе
AST - аспартат аминотрансфераза	NO - азот-моноксид
BMI - индекс телесне масе (ИТМ)	NOS - азот-моноксид синтаза
BNP - мождани натриуретски пептид	NOx - разградни продукти азот-моноксида (нитрати и нитрити)
CAT - каталаза	NSTEMI - инфаркт миокарда без ST сегмент елевације
cGMP - циклични гуанозин-монофосфат	NT-proBNP - N-терминални крај можданог натриуретског пептида
СК-МВ - кратин-киназа изоформа МВ	NYHA класа - New York Heart Association класа
CRP - С реактивни протеин	ox-LDL - оксидисани липопротеин ниске молекуларне густине
CVI - цереброваскуларни инзулт	ПКИ - перкутана коронарна интервенција
DDAH - диметиларгинин диметиламино-аргиназа	PUFA - полинезасићене масне киселине
ДНК - дезоксирибонуклеинска киселина	RCA - десна коронарна артерија
ECE - ендотелин конвертујући ензим	PHK - рибонуклеинска киселина
EC-SOD - екстрацелијска супероксид-дизмутаза	ROS - реактивни кисеонички радикали
EFLK - ејекциона фракција леве коморе	СИ - срчана инсуфицијенција
eNOS - ендотелна азот-моноксид-синтаза	SOD - супероксид-дизмутаза
EPCR - ендотелни рецептор за протеин С	STEMI - инфаркт миокарда са ST елевацијом
ET-1 - ендотелин-1	TAS - укупан антиоксидативни статус плазме
GFR - брзина гломеруларне филтрације	TBA - тиобарбитурна киселина
GLUT 4 - глукоза транспортер тип 4	TBARS - једињења која реагују са тиобарбитурном киселином
GPx - глутатион пероксидаза	ТХБ - тетрахидробиоптерин
GRACE скор - Global Registry of Acute Coronary Events скор	TIMI -Thrombolysis in Myocardial Infarction
GSH - глутатион	Tn - тропонин, TnI - тропонин I
hsCRP - високо сензитивни С-реактивни протеин	T-SH - сулфхидрилне или тиолне групе
IFG - поремећај гликемије наше	UACR -уринарни албумин креатинин однос
IL - интерлеукин	vWF - фон Вилебрандов фактор
iNOS - индуцибилна азот-моноксид синтаза	VLDL - липопротеини врло ниске густине
КВБ - кардиоваскуларне болести	XO - ксантин-оксидаза
LAD - предња десцендентна артерија	
LDH - лактат дехидрогеназа	

1. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

1.1. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА КАРДИОВАСКУЛАРНИХ ОБОЉЕЊА

Кардиоваскуларне болести (КВБ) данас представљају најчешћи узрок у укупном морталитету. Резултати велике студије „Global Burden of Disease“ из 2010. године указали су на то да су КВБ учествовале са 29,6% у целокупном морталитету (15,6 милиона свих смртних случајева). Четири милиона Европљана умире од КВБ годишње. Кардиоваскуларна обољења су узрок смрти код 49% жена и код 40% мушкараца у Европи. Ово је чак два пута више него морталитет узрокован онколошким болестима и више од свих заразних, преносивих болести, неонаталних, болести трудница/породиља и нутритивних поремећаја заједно. Упркос лаганом паду њихове инциденце, оне остају најчешћи узрок морталитета у Европи.

Коронарна болест је најчешћи узрок смрти и она је одговорна за 19% смртности код мушкараца и 20% смртности код жена.¹

1.2. АТЕРОСКЛЕРОЗА КАО НАЈЗНАЧАЈНИЈИ ЕТИОПАТОГЕНЕТСКИ МЕХАНИЗАМ У ОСНОВИ КОРОНАРНЕ БОЛЕСТИ

У основи коронарне болести најчешће се налази атеросклероза, патолошки процес који захвата коронарне, церебралне и периферне артерије.

Она је генерално асимптоматска док стеноза плаком не пређе 70 или 80% дијаметра лумена што доводи до редукције у протоку крви. Када је у питању срце, стенозне лезије на коронарним крвним судовима могу довести до појаве типичних симптома ангине пекторис, али и акутног коронарног синдрома (и то најчешће при руптури плака са мање од 50% стенозе лумена).²⁻⁴ Понављане неме руптуре и тромбозе праћене репарацијом могу довести до прогресије процеса атеросклерозе, са порастом тзв. оптерећења плаком, порастом процента стенозе лумена суда и негативним артеријским ремоделовањем.⁵

Процес атеросклерозе почиње још у детињству са развојем масних пруга. Узнапредовале атеросклеротске лезије се јављају прогресивно са годинама старења.⁶⁻⁸ Прва фаза атеросклерозе хистолошки се презентује као фокално задебљање тунике интима са

акумулацијом липидима богатих макрофага (тзв. пешавих ћелија) и екстраћелијског матрикса. Глаткомишићне ћелије, такође, могу да населе тунику интиму од којих неке потичу од хематопоеетских стем ћелија, мигрирају и пролиферишу.^{9, 10} Липиди се накупљају рано у атеросклеротским лезијама, формирајући интраћелијске и екстраћелијске депозите који су и одговорни за настанак масних пруга. Дигликан, мали дерматансулфат, је протеогликан уочен у туници интими оболелих сегмената коронарних артерија, који може везивати и „заробити“ липопротеине, укључујући липопротеине врло ниске густине (VLDL) и липопротеине ниске густине (LDL).¹¹ Масне пруге, такође, садрже и Т лимфоците. Пешаве ћелије јесу главно обележје раног атерома. Како се ове лезије шире тако се више глаткомишићних ћелија накупља у туници интими. Глаткомишићне ћелије унутар дубљег слоја масних пруга су подложне апоптози, која је удружена са даљом акумулацијом макрофага и микровезикула које могу калцификовати, и на тај начин доприносити преласку масних пруга у атеросклеротске плакове.¹²

Формирање атерома је удружено са ремоделовањем коронарних артерија. Позитивно ремоделовање се дефинише као експанзија плака и екстерне еластичне мембране услед компензаторног локалног увећања крвног суда, док негативно ремоделовање подразумева скраћење екстерне еластичне мембране на месту лезије, услед локалног смањења величине крвног суда. Позитивно ремоделовање је компензаторни механизам у раној коронарној болести који превенира губитак лумена упркос расту плака. Међутим, артеријско ремоделовање као последица експанзије плака је удружено са абнормалном артеријском физиологијом, као и са настанком клиничких симптома.¹³ Позитивно ремоделовање се види код комплексних, нестабилних плакова, код болесника са нестабилном ангином, за разлику од негативног ремоделовања које је удружено са опструктивним плаковима код болесника са стабилном ангином пекторис.¹⁴

Мултипли фактори доприносе развоју атеросклеротских промена. Ту спадају ендотелна дисфункција, дислипидемија, инфламација, имунолошки механизми, руптура плака и поједини традиционални фактори ризика (пушење, алкохол).

Ендотелна вазодилататорна дисфункција је иницијални корак у атеросклерози и сматра се да је њен главни узрок, с једне стране, губитак ендотелног азот-моноксида, а са друге стране, повећана продукција ендотелина-1 (ЕТ-1). Постоје мишљења да ЕТ-1 као снажан вазоконстриктор може допринети патогенези атеросклерозе у свим стадијумима, па чак и у клинички мирном стадијуму. Њему се приписују и митогена својства која за последицу имају стимулацију миграције и раста глаткомишићних ћелија.

Модификацијом LDL молекула настаје тзв. оксидисани LDL (oxLDL) који може стимулисати продукцију ET-1 и појачати његове вазоконстрикторне ефекте.¹⁵⁻¹⁷

Постојање инфламације у атеросклеротским лезијама је описано већ у раним фазама патохистолошких промена у овом процесу. У прилог овоме иде и налаз повишених маркера системске инфламације код атеросклерозе.¹⁸⁻²¹

Најчешће описиван маркер инфламације је серумски С-реактивни протеин (CRP), и сматра се да је он у непосредној вези са атеросклеротском коронарном болешћу, мада генетска испитивања не потврђују да је он од пресудне улоге. Свакако да присуство CRP у атеросклеротским лезијама директно доприноси активацији прооксидантних процеса, што даље по типу каскадне реакције, може да утиче на појаву тзв. протромботских догађаја.²²

1.2.1. Актуелни биомаркери у акутном коронарном синдрому везаном за атеросклеротске промене

Како је коронарна болест велики проблем у већини земаља, изузетно је важно идентификовати особе са повишеним ризиком, како би се превенирало обољевање и умирање од ове болести.

Имајући у виду да је лечење коронарне болести скупо и везано за дуг период потпуне или непотпуне рехабилитације ових пацијената, важно је познавати маркере, који се могу одредити једноставним и јефтиним тестовима и који би били не само значајни за превенцију, већ и за одлучивање о примени различитих терапијских модалитета у акутном коронарном синдрому (АКС). Добар биомаркер би био онај који би давао прецизан увид у постојање ризика, или чак дијагнозу обољења, што захтева да има високу специфичност и високу сензитивност.²³

Биомаркер је молекул, протеин или ензим, који може да пружа независне дијагностичке или прогностичке информације, одражавајући патолошко стање или болест. У случају коронарне болести, биомаркери би требало да буду показатељи биологије васкуларног зида, која је у основи обољења и/или његове последице. Клиничка употреба биомаркера зависи од њихове прецизности, поузданости, сензитивности, специфичности, предиктивне вредности и могућности шире употребе. Клиничка употреба захтева проспективну потврду у више кохортних студија да биомаркер није само предиктор обољевања, већ да индиректно говори и о утицају традиционалних фактора ризика на клиничку манифестацију болести.²⁴ Данас се сматра да комбинација одређивања високо

сензитивног С-реактивног протеина (hsCRP), тропонина (Tn) и можданог натриуретског пептида (BNP, *енг.* brain natriuretic peptide) је основна батерија тестова за процену ризика код болесника са АКС. У студији која се бавила улогом мулти-маркер тестирања, тропонин I (TnI), CRP и BNP су мерени код 450 болесника са АКС. Морталитет је био независно удружен са сваким маркером засебно, а стопа mortalитета је расла готово два пута са удруживањем сваког позитивног биомаркера.²⁵

Године 2000. тропонин је заменио MB изоформу креатин-киназе као маркер избора у дијагностици инфаркта миокарда. Испитивања других аутора су показала да ниво Tn у крви зависи директно од величине инфарктног подручја и говори о тридесетодневном исходу болести, што је свакако важно у дијагностици и прогнози, али треба водити рачуна о лажно позитивним резултатима. Тропонин достиже пик након дванаест сати, а остаје повишен десет или више дана. Недостатак овог маркера је чекање на пораст како би се поставила дијагноза. Нови сензитивнији тропонин есеји су развијени како би кориговали овај недостатак.

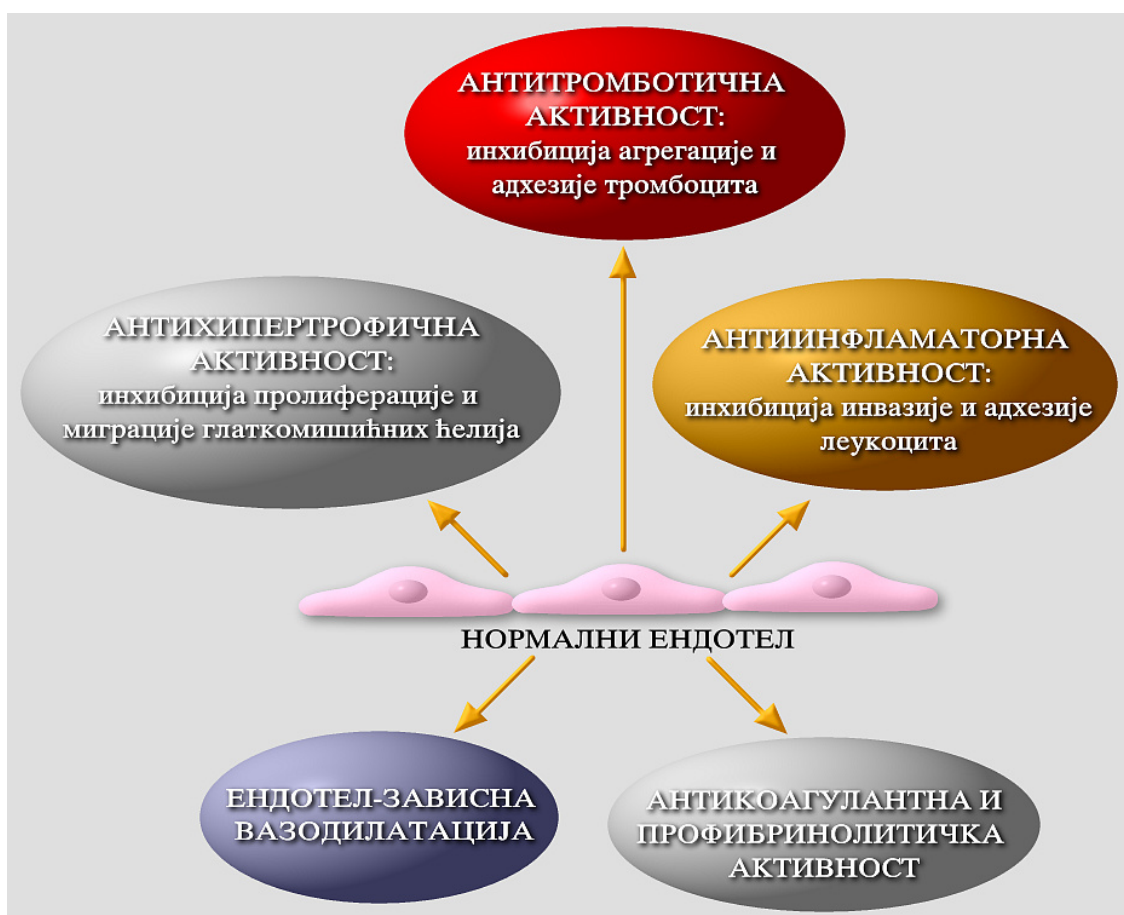
Мождани натриуретски пептид и N-терминални део pro-BNP молекула (NT-proBNP) пружају додатне информације о кардиоваскуларном mortalитету, и то за наредних годину дана од кардиоваскуларног догађаја, што је од посебног значаја у старијој популацији. У инфаркту миокарда без ST сегмент елевације (NSTEMI) поменути биомаркери су предиктори интрахоспиталног mortalитета и развоја срчане слабости у наредних шест месеци, након акутног догађаја.²³ Ретроспективна анализа код болесника са NSTEMI је указала на то да болесници са повишеним вредностима BNP или NT-proBNP имају три до пет пута виши mortalитет, независно од концентрација тропонина и hsCRP.²⁶ Други аутори, пак, дају предност CRP и сматрају да су његове вредности, између 12 и 24 сати након АИМ, предиктори развоја срчане слабости и mortalитета. Високи пик CRP у раној постинфарктној фази може бити удружен са механичким компликацијама, укључујући руптуру слободног зида миокарда, вентрикуларну анеуризму и формирање тромба. Ниво CRP након пика у инфаркту миокарда који се јавља другог до четвртог дана, постепено опада током следећих осам до дванаест недеља на базалне вредности. Међутим, ако и након дванаест недеља од АИМ он има повишене вредности онда је он предиктивни маркер настанка нових коронарних догађаја. Свакако да су лимитирајуће околности то што CRP није високо специфичан и може бити повишен и у другим стањима инфламације.²³ У Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease (FRISC) студији је потврђено да повишене вредности hsCRP јесу удружене са повећаним mortalитетом у време иницијалног догађаја, али и током

четири године праћења.²⁷ Данас се сматра да ће одређивање хуманог пентраксина-3, као изоформе CRP, која се искључиво секретује из васкуларног ендотела, бити много сензитивније и значајније.²³

1.3. ЕНДОТЕЛ

Ендотелне ћелије облажу све крвне и лимфне судове у васкуларном кориту. Тело одраслог човека садржи најмање трилион ендотелних ћелија које прекривају површину већу од 1000 m².^{28, 29}

Ендотел регулише вазомоторни тонус, ћелијски транспорт хранљивих материја, одржава флуидност крви и доприноси локалном балансу про- и анти-инфламаторних медијатора, као и прокоагулантне и антикоагулантне активности (Слика 1).³⁰



Слика 1. Улоге здравог ендотела (Модификовано према: Siekmeier R и сар.⁴⁰)

Он има значајну улогу у ангиогенези, у сталној је интеракцији са циркулишућим ћелијама крви, и ендотелне ћелије подлежу програмираној ћелијској смрти. Свака од ових активности је динамички регулисана како у простору, тако и у времену. Како

ендотелне ћелије добијају сигнале из великог броја ткива и органа, оне поседују различите карактеристике, које зависе од специфичности локалног окружења. Ова „хетерогеност“ је централна одлика ендотела и подразумева различитости у морфологији, биосинтетском репертоару и понашању.³¹ Термин ендотелна активација настао је на основу запажања да према ендотелним ћелијама из културе, леукоцити показују повећану адхезивност, након излагања запаљенским медијаторима. Касније је термин обухватио шири спектар фенотипских промена, укључујући смањену тромборезистенцију, измењен вазомоторни тонус и губитак баријерне функције. Према овој хипотези, мирујуће ендотелне ћелије показују тромборезистентни, антиадхезивни и вазодилататорни фенотип, док активисане ендотелне ћелије имају прокоагулантна, проадхезивна и вазоконстрикторна својства.³²

Под ендотелном дисфункцијом подразумева се структурна промена у ендотелним ћелијама, губитак интегритета или хиперадхезивност васкуларног омотача према тромбоцитима, што се може видети у атеросклерози.³³⁻³⁵

Од недавно се термин ендотелна дисфункција користи за стања у којима фенотип ендотелних ћелија, било да поседује или не, својства активације, представља опасност по организам. Примери су тешка сепса, плућна хипертензија, патолошка ангиогенеза, тромботична тромбоцитопенијска пурпура, хепатична венооклузивна болест и болест српастих ћелија.³⁶

1.3.1. Ендотелна дисфункција - први корак ка атеросклерози

1.3.1.1. Азот-моноксид

Контрола локалног васкуларног тонуса је регулисана, првенствено, ослобађањем азот-моноксида (NO) из ендотела.³⁷

Азот-моноксид настаје из аминокиселине L-аргинина од стране три изоформе азот-моноксид синтазе (NOS): неуроналне (n NOS, NOS1), цитокин индуцибилне или макрофагеалне NOS (i NOS, NOS2) и ендотелне (e NOS, NOS3).³⁷⁻³⁹ Помиње се и четврта форма тзв. митохондријална NOS (mt NOS), мада још увек није јасно да ли се ради само о подваријанти ендотелне NOS.⁴⁰ Сва три ензима су цитохрому P-450 слични протеини, олакшавају додаток гуанидин азота из аминокиселине аргинина молекуларном кисеонику, продукујући NO и воду. Поред ендотелних ћелија и многе друге ћелије експримирају eNOS, чиме продукују релативно мале количине NO. Иако се iNOS нор-

мално не експримира, након индукције инфламаторним цитокинима, може продуковати далеко веће количине NO од eNOS.

Азот-моноксид је паракрини медијатор који лако пролази кроз мембране околних ћелија и модулира велики број сигналних каскада. Како има јако кратак полуживот, своје дејство испољава локално и пролазно. Најзначајнији молекул на кога делује NO је солубилна гуанилат циклаза која садржи хем. Стимулација овог ензима појачава синтезу цикличног гуанозин монофосфата (сGMP) из гуанозин трифосфата, повећавајући нивое сGMP у цитозолу (процес је катализован једињењима из породице фосфодиестераза).

Други молекули са којима реагује азотмоноксид су тиолне групе на протеинима и малим молекулима, формирајући S-нитрозотиоле, такође, NO може да се веже за Fe/S групе каталитичких центара протеина, укључујући и хемоглобин.⁴¹ Када велике количине NO бивају продуковане, типично од стране iNOS, настају пероксинитрити и супероксидни радикали који су токсични за ћелију, односно, условљавају настанак нитрозативног стреса.⁴²

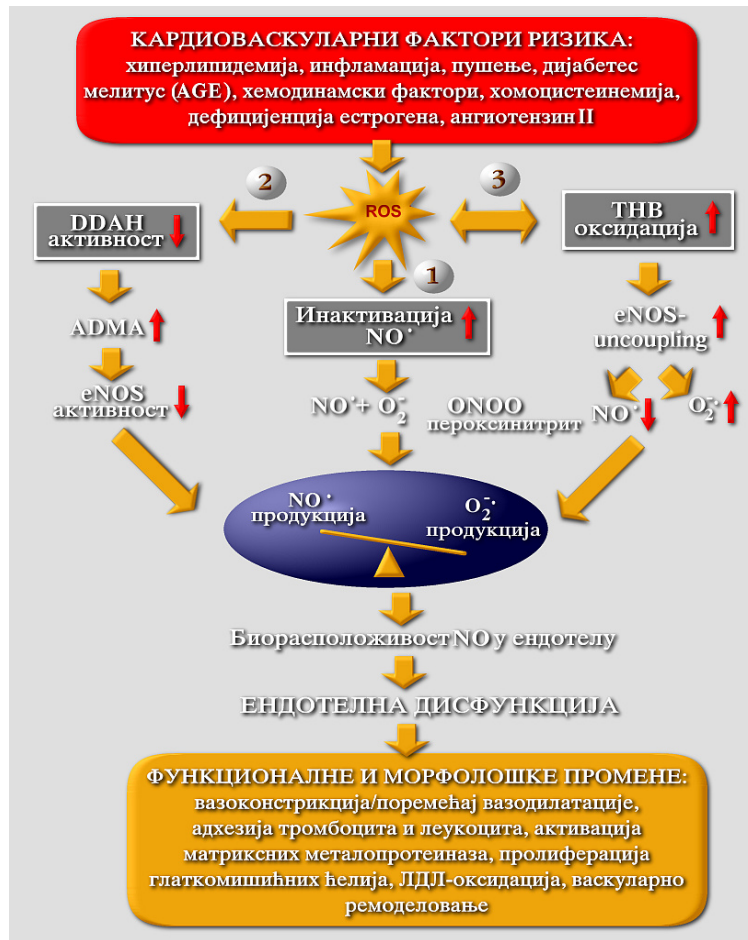
Главни узрок ендотелне дисфункције је дисбаланс у NO продукцији и потрошњи, где је фаворизована његова потрошња, а то за последицу има неспособност крвног суда да се адекватно дилатира. Клиничка манифестација ендотелне дисфункције у коронарној циркулацији је миокардна исхемија. Додатно, ендотелна дисфункција ствара повољне услове за активацију тромбоцита и леукоцита, као и за активацију цитокина, који повећавају пермеабилност крвног суда за оксидисане липопротеине и медијаторе запаљења, што резултује структурним оштећењем артеријског зида са пролиферацијом глаткомишићних ћелија и формирањем атеросклеротског плака.

Биохемијски узроци абнормалног NO метаболизма, који доприносе ендотелној дисфункцији преко смањене продукције и/или појачане потрошње азот-моноксида, укључују:

1. Појачан оксидативни стрес и инфламацију. Појачан оксидативни стрес се карактерише мерљивим повећањем реактивних кисеоничких радикала (ROS, *енг.* reactive oxygen species) који оштећују NOS, доводе до смањеног преузимања L-аргинина и појачане продукције оксидисаних липопротеина мале густине (ox-LDL) (Слика 2),^{43, 44}
2. Смањење тетрахидробиоптерина (ТХБ) који је кофактор за eNOS.^{45, 46} Попуњавање ТХБ депоа изгледа поправља ендотелну дисфункцију;

3. Недостатак L-аргинина који је супстрат за eNOS.⁴⁷ У недостатку било L-аргинина или ТХБ, eNOS може да продукује супероксидни анјон ($O_2^{\bullet-}$) и H_2O_2 . Овај феномен се назива NOS uncoupling. Појава eNOS uncoupling-a у ендотелу може довести до оксидативног стреса и ендотелне дисфункције преко најмање три механизма. Прво настају промене у ензимској продукцији NO, која је смањена, што омогућује радикалима да реагују са компонентама ћелије. Затим, ензим почиње да продукује $O_2^{\bullet-}$ што доприноси оксидативном стресу. И на крају могуће је, да настане парцијални eNOS uncoupling, тако да се $O_2^{\bullet-}$ и азот-моноксид радикал (NO^{\bullet}) продукују симултано. У таквим околностима, eNOS може постати пероксинитрит генератор што води драматичном повећању степена оксидативног стреса;⁴⁸
4. Абнормалности у интраћелијском сигнализирању путем G-протеина што резултује смањеном активацијом eNOS у одговору на стимулацију рецептора ендотелних ћелија;
5. Ензим аргиназа може имати појачану активност након исхемије-реперфузије, када се смањује доступност L-аргинина;⁴⁷
6. Повећање концентрације асиметричног диметиларгинина (ADMA) који је ендогени компетитивни инхибитор NO.^{49,50} Асиметрични диметиларгинин се везује за поремећај ендотелних функција код пацијената који су на умереном ризику за кардиоваскуларна обољења.⁴⁸ Даље, ox-LDL може повећати ADMA код пацијената са факторима ризика за коронарну болест, чак може довести до повећаног броја акутних догађаја код оних који имају повишене вредности ADMA.⁵⁰

Фактори кардиоваскуларног ризика доводе до појачане продукције ROS у зиду крвног суда, чиме се смањује биорасположивост NO приликом формирања пероксинитрит анјона (супероксидни радикал у реакцији са NO), инхибиције диметиларгинин диметиламиноаргиназе (DDAH) због чега долази до појачане продукције ADMA, као и оксидативне деградације ТХБ (Слика 2).⁴⁸⁻⁵⁰



Слика 2. Фактори КВ ризика повећавају синтезу ROS у зиду крвног суда и смањују биорасположивост азот-моноксида преко три различита механизма (Модификовано према: Siekmeier R. и сар.⁴⁰).

1.3.1.2. Ендотелин

Ендотелин-1 је вазоконстрикторни пептид сачињен од 21 аминокиселине, први пут изолован 1988. из културе ендотелних ћелија аорте.⁵¹ Поред директних вазоконстрикторних ефеката које узрокује, ET-1 може да има и дугорочне ефекте на пролиферацију и диференцијацију глаткомишићних ћелија.⁵²

До сада су клониране и секвенционирани три изоформе: ET-1, ET-2 и ET-3:

- ET-1 је преобладајућа изоформа синтетисана у хуманој васкулатури и најснажнији је вазоконстриктор;
- ET-2 није нађен у хуманој плазми, али је присутан у бубрезима, оваријуму и цревима где има вазоконстрикторна својства слична онима које поседује ET-1;
- ET-3 има минимална вазоконстрикторна својства, његов главни извор није познат, иако су високе концентрације нађене у централном нервном систему у развоју.

Ендотелин се брзо укљања из циркулације од стране плућа, јетре и бубрега.⁵³

Ген за ЕТ-1 је лоциран на хромозому 6. Његова транскрипција је регулисана од стране различитих фактора као што су ангиотензин II, цитокини, хипоксија, тромбин и механички стрес зида крвног суда. Ендотелин-1 се иницијално синтетише као прекурсор, препроЕТ-1 који има 212 аминокиселина. Одстрањивањем сигналног дела молекула настаје проЕТ-1 (195 аминикиселина) од кога касније дејством металопроотеиназа, ендотелин конвертујућег ензима-1 (ЕСЕ-1), настаје биоактивни ЕТ-1 пептид са 21 аминокиселином и С-терминални део пропептида са 139 аминокиселина. Концентрације ЕТ-1 у плазми код здравих одраслих особа су веома ниске, 0,28-2,01 pmol/L. Кратак полуживот ЕТ-1 од само два минута је вероватно последица његовог везивања за рецепторе и катаболизма од стране неутралних ендопептидаза (NEP).⁵⁴

Полиморфизам гена који кодирају ЕТ рецепторе може повећати ризик од развоја кардиомиопатије.⁵⁵

Постоје два типа ендотелинских рецептора: ЕТ-А и ЕТ-Б. Оба рецептора су експримирана на неколико врста ћелија у кардиоваскуларном систему укључујући ендотелне ћелије, глаткомишићне ћелије, кардиомиоците и фибробласте.⁵⁶ Трећи тип рецептора ЕТ-Ц још увек није изолован код сисара.⁵⁷

Активација ЕТ-А и ЕТ-Б рецептора даје различите хемодинамске ефекте. У васкулатури ЕТ-А рецептори су лоцирани на глаткомишићним ћелијама где учествују у вазоконстрикцији и пролиферацији тих ћелија.⁵⁸ Ендотелински-Б рецептори се првенствено налазе на васкуларним ендотелним ћелијама и посредују у вазодилатацији преко ослобађања ендотелног NO.⁵⁹ Ендотелински-Б рецептори се такође налазе на глаткомишићним ћелијама где посредују у вазоконстрикцији. Код људи, вазоконстрикторно дејство ЕТ-1 предоминира, што резултује у концентрација-зависној контракцији, системских и плућних артерија. Повећан вазомоторни тонус у атеросклеротичним коронарним артеријама је делом узрокован ендотелном дисфункцијом, међутим, и ЕТ-1 доприноси претераном вазоконстрикторном одговору. Давање антагониста ендотелинских рецептора изазива значајну дилатацију атеросклеротичних артерија, посебно на месту стенозе, што указује на то да ендотелин значајно доприноси тонусу у мировању у атеросклеротски измењеним артеријама.⁶⁰

Ендотелин-1 вероватно има улогу и у инфламацији преко повећања васкуларне пермеабилности, индукције ослобађања цитокина и стимулације продукције васкуларних адхезивних молекула.⁶¹

Ендотелин се експримира у миокарду где има снажно инотропно дејство. Инотропни ефекат је делом посредован повећаном сензитивношћу миофиламената на калцијум.⁶² Са друге стране, постоје докази да ендотелин може да има негативно инотропно дејство у инсуфицијентном миокарду.⁶³ Даље, ЕТ-1 може имати проаритмијско дејство у срчаној слабости.⁶⁴ Доказано је на експерименталном моделу зеца да стимулација ЕТ-А, односно ЕТ-Б рецептора, нема директно аритмогено дејство у физиолошким условима, као ни у исхемији. Ендотелином-1 индукован аритмогени ефекат у примарно не-исхемијским условима је вероватно резултат удружене коронарне вазоконстрикције настале услед стимулације ЕТ-А рецептора што води развоју исхемије.⁶⁵

У инсуфицијентном миокарду, хронична стимулација ЕТ-А рецептора од стране повишеног ендотелина плазме и миокарда, доводи до хипертрофије кардиомиоцита и пролиферације фибробласта. Густина рецептора је непромењена или безначајно повишена, али су ефекти ЕТ-1 смањени.⁶²

Као што је напоменуто, синтеза ЕТ-1 у миокарду, *in vitro*, може бити стимулирана хипоксијом, исхемијом, неурохормонима (пр. норепинефрин, ангиотензин II, аргинин вазопресин) и инфламаторним цитокинима (IL-1b).⁶⁶ Многи од ових стимуланаса су повишени у инсуфицијентном миокарду и могу допринети вентрикуларном ремоделовању. На експерименталном моделу миша, претерана експресија ЕТ-1 у срцу је била повезана са повећаном експресијом запаљенских цитокина и развојем дилатантне кардиомиопатије.⁶⁷

Поред дејстава на васкулатуру и миокард, циркулишући ЕТ-1 утиче и на реналну функцију и на активност ренин-ангиотензин и симпатичког нервног система. Код здравих људи ЕТ-1 учествује у одржавању циркулишућег волумена, док у срчаној слабости повишени нивои ЕТ-1, могу довести до реналне вазоконстрикције и задржавања натријума.⁶⁸ ЕТ-1 стимулише секрецију норепинефрина, ангиотензина II и вазопресина.⁶⁹ У нормалном бубрегу, међутим, ендотелин фаворизује вазодилатацију. Ендотелин се продукује у сабирним каналићима бубрега као одговор на повишен перфузиони притисак или оптерећење натријумом. Везивање ендотелина за ЕТ-Б рецепторе индукује натриурезу у сабирним каналићима, инхибицијом Na^+ - K^+ АТР-азне пумпе, што има за последицу екскрецију натријума. Везивање ендотелина за ЕТ-Б рецепторе стимулише NOS да ослобађа NO и узрокује вазодилатацију.⁷⁰ Ендотелин појачава кардиоваскуларне и реналне ефекте ангиотензина II.⁷¹ Ангиотензин II, са друге стране, повећава концентрацију ткивног ендотелина и индукује васкуларну хипертрофију. Ендотелин и ангиотензин активишу Na^+/H^+ измену и повезују стрес коморског миокарда са његовом

хипертрофијом. Инхибитор ангиотензин-конвертујућег ензима (АСЕ) је превенирао хроничну хипертензију, индуковану инфузијом ET-1 на експерименту код пацова. Прецизније корелације сигналних ендотелинских и ангиотензин II путева још увек нису расветљене.⁷²

Регулација ослобађања ендотелина је блиско повезана са ендогеним вазодилататором, азот-моноксидом, где NO вероватно има инхибиторно дејство на ендогену ендотелинску продукцију и/или дејство. Инхибиција ендогене продукције NO појачава ендотелин-посредовану вазоконстрикцију у системској, плућној, коронарној и реналној артеријској циркулацији.⁷²

У плућима, ендотелински систем регулише тонус бронхија и пролиферацију крвних судова дисајних путева, и на тај начин учествује у настанку плућне хипертензије. Систем ендотелина поред физиолошких утиче и на бројне патолошке догађаје (у имуном систему, јетри, мишићима, костима, кожи, простати, масном ткиву и репродуктивном тракту), а важна је његова улога у гликорегулацији.⁷³ Гојазност је често удружена са инсулинском резистенцијом која доводи до активације ренин-ангиотензин система. Новије студије указују на то да је протеинурија директно повезана са активацијом ендотелина.⁷⁴ Протеинурија је предиктор кардиоваскуларних догађаја код особа са или без бубрежног обољења.

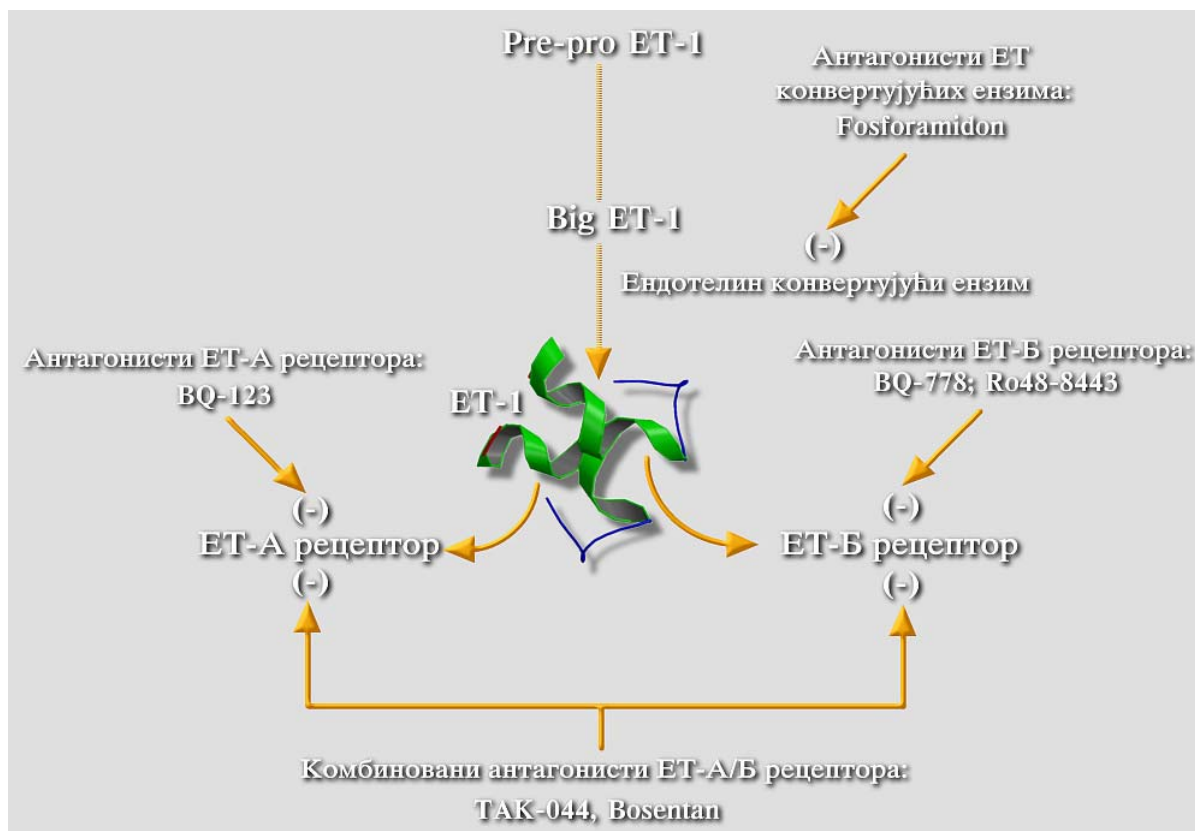
Измене у васкуларном тонузу и метаболичким функцијама код гојазности и шећерне болести несумњиво су у вези са секрецијом ендотелина. Ендотелин такође има улогу у адипогенези и липолизи, што може указати на значај блокаде ендотелинских рецептора у лечењу ових стања, односно, у превенцији настанка кардиоваскуларних и бубрежних болести.⁷³

Концентрације ET-1 у плазми су повишене у срчаној инсуфицијенцији (СИ), што је делом посредовано ангиотензином II.⁷⁵ Претпоставља се да је део повољног дејства АСЕ инхибитора у СИ последица смањења ослобађања ET. Пораст препро (big) ET-1 и ET-1 у плазми у СИ је последица појачане продукције у плућима и кардиомиоцитима, пре него смањеног клиренса.^{76, 77} Концентрација плазматског ET-1 зависи од тежине СИ, и у позитивној је корелацији са New York Heart Association (NYHA) класом, а у негативној корелацији са ејекционом фракцијом леве коморе (EFLK) и толеранцијом физичког оптерећења.⁷⁸ Пацијенти са СИ и са повишеним нивоима ET-1 имају значајно већи једногодишњи морталитет од оних са нормалним вредностима.⁷⁹

Већи број неконтролисаних и мањих студија фазе II показало је акутне повољне хемодинамске ефекте са двојно-рецепторским и ET-A селективним анатагонистима у

срчаној слабости, међутим, три велике рандомизоване, контролисане студије (ENABLE студија са босентаном - Endothelin Antagonist Bosentan for Lowering Cardiac Events in Heart Failure; ENCOR студија са енрасентаном - Enrasentan Cooperative Randomized Evaluation; EARTH студија са дарусентаном - Endothelin A Receptor Antagonist Trial in Heart Failure) нису показале корист од хроничне блокаде ЕТ рецептора код ових болесника.⁸⁰ Потенцијални бенефит ограничен је на пацијенте са терминалном СИ и плућном хипертензијом, који чекају на трансплантацију срца.⁸¹

Две различите терапијске стратегије су развијане како би се блокирало нежељено дејство ЕТ-1 у патофизиолошким условима, укључујући рецептор антагонисте и инхибиторе ендотелин конвертујућег ензима (ЕСЕ-1, ЕСЕ-2) (Слика 3).⁸²



Слика 3. Принцип деловања различитих типова “антиендотелинских” лекова (инхибитори ендотелин-ковертујућег ензима и блокатори ЕТ рецептора) (Модификовано према: Kelly JJ. и сар.⁸²).

Алтернативна стратегија за анти-ендотелин терапију је блокада конверзије про-ЕТ-1 (big ET-1) у ЕТ-1 помоћу специфичних инхибитора ЕСЕ.⁸² Ендотелин конвертујући ензими се налазе у ендотелним ћелијама. Међутим, део big-ЕТ-1 успева да избегне интраћелијску конверзију и циркулише у плазми. Big-ЕТ-1 се не везује за васкуларне

ЕТ рецепторе док се не трансформише у ЕТ-1 од стране конвертујућих ензима присутних на глаткомишићним ћелијама. Активност ЕСЕ је повећана у огољеном ендотелу крвних судова, захваћених атеросклерозом, тако да конверзија big-ЕТ-1 у ЕТ-1 од стране глаткомишићног ЕСЕ може допринети повећаном плазма/ткивном ЕТ нивоу у овој болести.⁸³ Терапија инхибиторима ЕСЕ, сама или у комбинацији са инхибитором NER, изгледа да побољшава хемодинамику у СИ, али морталитет и морбидитет нису процењивани. Неутралне ендопептидазе разграђују натриуретске пептиде и њихова инхибиција повећава плазматске концентрације атријалног натриуретског пептида (ANP) и BNP који имају хемодинамске и неурохуморалне ефекте и делују као фактори раста, а могу бити корисни у срчаној слабости, артеријској хипертензији и атеросклерози. Међутим, NER такође метаболишу ангиотензин II и ЕТ-1 чиме могу поништити повољне ефекте добијене повећањем нивоа натриуретских пептида.⁸²

Преклиничка испитивања указују на повољне ефекте комбинације ACE инхибитора са ЕСЕ-NER инхибитором у СИ. Комбиновани тројни инхибитори ACE, ЕСЕ и NER су, такође, у фази развоја.⁸³

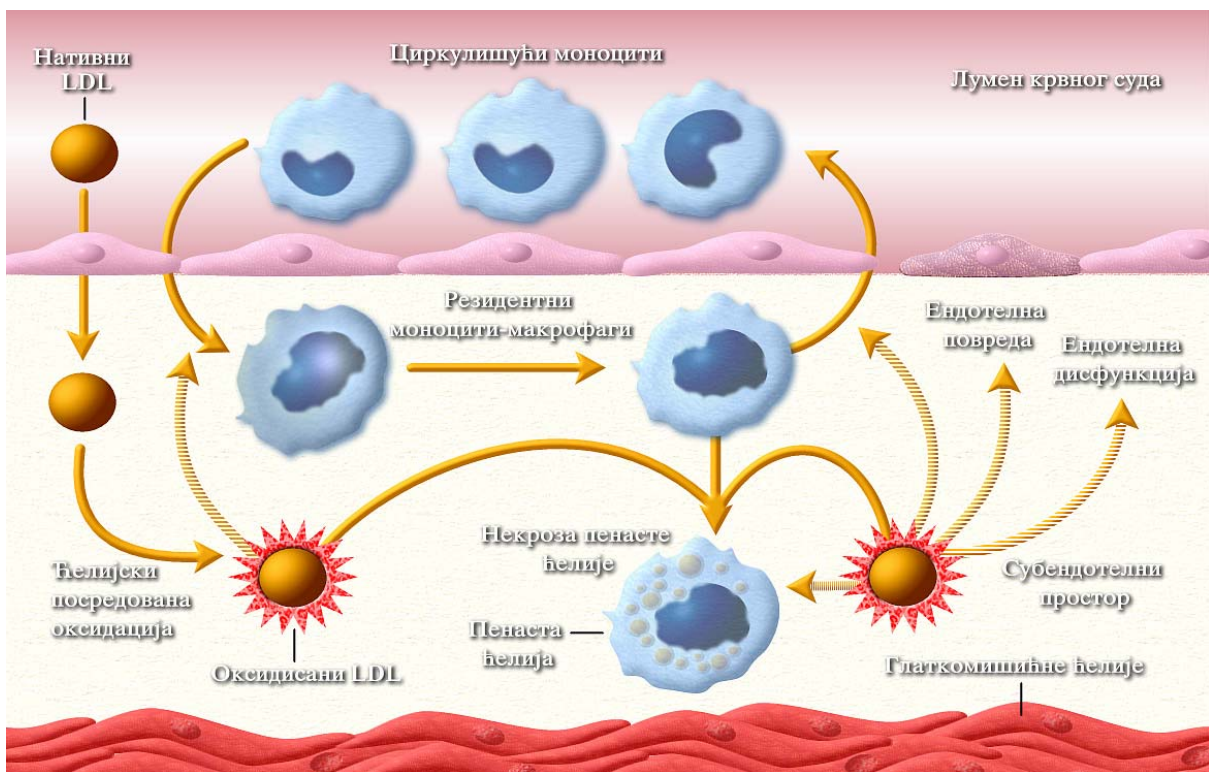
1.4. ОКСИДАТИВНИ СТРЕС И АТЕРОСКЛЕРОЗА - ПОЧЕТАК И КРАЈ ЗАЈЕДНИЧКОГ ПУТА

На експерименталним моделима са атеросклерозом, хиперхолестеролемијом, хипертензијом и дијабетес мелитусом, показана је удруженост оксидативног стреса и поремећаја ендотелне функције. Поред многобројних биолошких промена које се дешавају у зиду крвног суда у наведеним околностима, смањена биорасположивост NO у условима повећане концентрације супероксидног ањона се чини заједничком абнормалношћу. Недавно спроведене студије на болесницима са коронарном болешћу показале су повећану продукцију супероксидног ањона у зиду крвног суда. Ендотелна дисфункција код болесника са коронарном болешћу или са факторима ризика за исту, може бити умањена давањем агенаса који су чистачи тј. „скевенцери“ супероксидног ањона, као што је витамин C.⁸⁴

Постоји консензус по коме атеросклероза представља стање интензивiranог оксидативног стреса што се односи, пре свега, на оксидацију липида и протеина у зиду крвног суда. Реактивни кисеонички радикали су кључни медијатори сигналних путева који леже у основи васкуларне инфламације у атерогенези, почев од настанка масних пруга, преко прогресије лезија, до финалне руптуре плака. Руптура плака и тромбоза

резултују акутним клиничким компликацијама: инфарктом миокарда и цереброваскуларним инzulтом. Многе студије указују на то да слободни кисеонички радикали ослобођени дејством никотин амид аденин динуклеотид (NADPH) оксидазе, мијелопероксидазе (MPO), ксантин оксидазе (ХО), липооксигеназе, NOS и појачана продукција кисеоничких радикала из дисфункционалног митохондријалног респираторног ланца, заиста има узрочну улогу у развоју атеросклерозе и других обољења васкуларног система.

Реактивни кисеонички радикали имају негативан утицај на васкуларну функцију преко више механизма. Најпре, реактивни кисеонички радикали, пре свега хидроксилни радикали, директно оштећују ћелијске мембране и једро. Даље, реагујући са ендогеним вазоактивним медијаторима из ендотелних ћелија, ROS мењају вазомоцију и процес атерогенезе. Треће, ROS врше пероксидацију липидних компоненти, што води формирању oxLDL који су кључни медијатори атеросклерозе (Слика 4).⁴⁸



Слика 4. Хипотеза о оксидативној модификацији LDL у основи атеросклеротског процеса. LDL бива заробљен у субендотелном простору где подлеже оксидативној модификацији и даље А) стимулише хемотаксу моноцита, Б) превенира излазак моноцита, Ц) омогућује стварање пенушавих ћелија, Д) oxLDL и сам доводи до ендотелне дисфункције и повреде, Е) пенушаве ћелије некротизују услед акумулације oxLDL (Модификовано према: Diaz M. и сар.²⁹).

У акутном инфаркту миокарда настају два различита типа оштећења: исхемијско и реперфузионо. Први тип оштећења настаје након губитка дотока крви, док други тип оштећења настаје секунду након поновног успостављања дотока кисеоника. Ово укључује метаболичке промене типа преласка на анаеробну гликолизу и искоришћавање масних киселина, чиме се повећава преузимање глукозе, а смањује контрактилност. Уколико исхемија перзистира, у миокарду може настати озбиљан АТР дефицит што води ирреверзибилном оштећењу ћелије и њеној смрти. Реперфузија исхемичног миокарда је предуслов ћелијског преживљавања. Након реперфузије настају ROS, брза продукција АТР молекула, повећање концентрације Ca^{2+} јона, повећање пермеабилности митохондријалне мембране, што може довести до апоптозе и тзв. онкотске ћелијске смрти.⁸⁵

Реактивни кисеонички радикали настају и у циркулишућим фагоцитима, али и у самим кардиомиоцитима. Хидроксилни радикали реагују са липидима, протеинима, дезоксирибонуклеинском киселином (ДНК) и рибонуклеинском киселином (РНК) што води губитку интегритета мембране, структурних и функционалних промена протеина и генетским мутацијама. Оксидисани липопротеини мале густине су, такође, директно токсични за васкуларне и глаткомишићне ћелије, условљавајући ослобађање оксидативних лизозомалних ензима у простор тунике интима. Овај процес доводи до прогресије атеросклеротских лезија.^{86, 87}

1.5. ОКСИДАТИВНИ СТРЕС - РЕАКТИВНИ КИСЕОНИЧКИ РАДИКАЛИ И АНТИОКСИДАТИВНА ЗАШТИТА

1.5.1. Реактивни кисеонички радикали

Срце сисара је облигаторно аеробни орган. У мировању, срце троши око 8–15 ml O_2 /min/100 g ткива. Ово је много више но што троши мозак (око 3 ml O_2 /min/100 g ткива) и може порасти на више од 70 ml O_2 /min/100 g миокардног ткива током интензивног вежбања. Срчани мишић сисара не може продуковати довољно енергије у анаеробним условима како би обезбедио одвијање есенцијалних ћелијских процеса, стога, константно снабдевање кисеоником је неопходно за одржање срчане функције и вијабилности. Кисеоник нема само улогу у метаболизму енергије, он је главна детерминанта експресије миокардних гена, и како се миокардни ниво кисеоника смањује током хипоксије, пр. исхемијом изазване хипоксије, шеме генске експресије се значајно мењају. Кисеоник је такође од кључног значаја и у производњи ROS који могу учествовати у

сигналним процесима, или пак, могу довести до иререверзибилних ћелијских промена и смрти. То значи да је кисеоник истовремено неопходан за преживљавање, али има и штетне ефекте.

Реактивни кисеонички радикали могу настати у срцу путем неколико механизма укључујући производњу током оксидативне фосфорилације у митохондријама, као нуспродукт нормалног ћелијског аеробног метаболизма. Стога, главни процес из кога срце добија довољно енергије резултује и у настанку ROS.⁸⁸

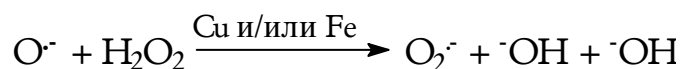
Аеробни организми имају антиоксидативне одбрамбене системе којима се бране од ROS, продукованих као последица аеробне респирације и оксидације различитих супстанци. Мале количине ROS укључујући хидроксилне радикале ($\cdot\text{OH}$), супероксидни анјон ($\text{O}_2^{\cdot-}$) и водоник пероксид (H_2O_2), се константно стварају у аеробним организмима као одговор на екстерне и унутрашње стимулусе. Ниски нивои ROS су важни за многе биохемијске процесе, укључујући месенџерску улогу у ћелијској диференцијацији и ћелијској прогресији ка мировању или расту, имају значајну улогу у апоптози, имунитету и у одбрани против микроорганизама. Ћелијска “кисеоник-радикал хомеостаза” је повезана са три различите класе месенџер молекула: факторима раста, простагландинима и азот-моноксидом. Међутим, веће количине ROS или неадекватно уклањање истих, доводи до настанка оксидативног стреса, који може узроковати метаболичке поремећаје и оштећења биолошких макромолекула.⁸⁹

Сматра се да супероксидни анјон има важну улогу у патогенези атеросклерозе и коронарне болести. Овај радикал има више штетних кардиоваскуларних дејстава, као што су индукција експресије проинфламаторних гена, оксидација LDL молекула, стимулација пролиферације глаткомишићних ћелија или оштећење ендотелних ћелија и кардиомиоцита. Супероксидни анјон реагује са азот-моноксидом, што доводи до губитка NO биоактивности и последичне продукције оксидишућег пероксинитрита ($\text{ONOO}^{\cdot-}$). Супероксидни анјон се ствара у бројним васкуларним ћелијама (ендотелне и глаткомишићне ћелије, адвентицијални фибробласти, макрофаги), у ћелијама крви (неутрофили) и у кардиомиоцитима. Главни ензимски извори су ксантин оксидаза, NAD(P)H оксидаза и NOS. Појачана продукција супероксидних анјона је присутна у процесу атеросклерозе, инфламацији и током реперфузије након миокардне исхемије. То води прогресији атеросклеротских промена, миоцелуларној исхемијско-реперфузионој повреди, што се клинички често манифестује функционалним поремећајима.⁹⁰

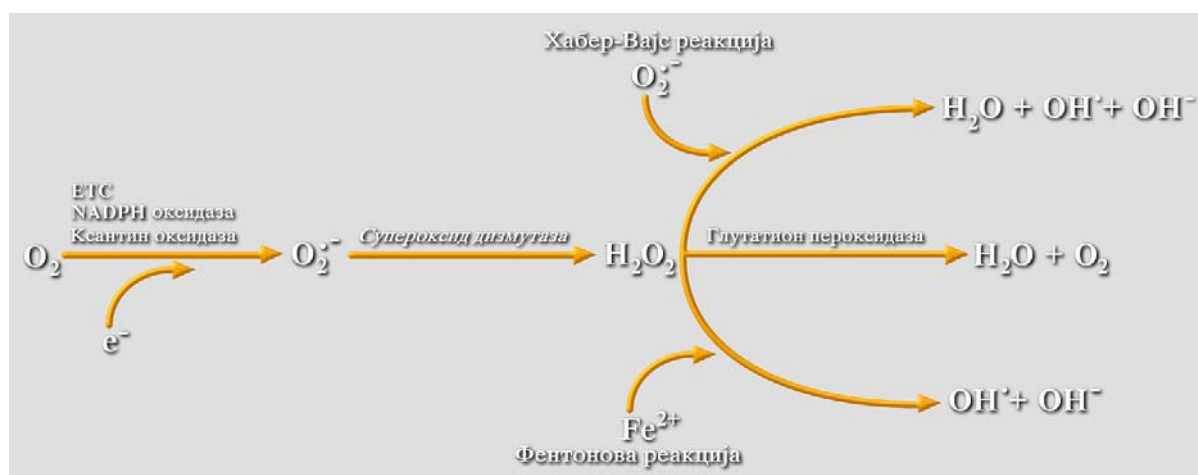
Водоник-пероксид, као оксидишући агенс, је мање реактиван од кисеоника и може дифундовати кроз ћелијске мембране до субцелуларних структура, које су уда-

љене од места његовог настанка. Посебан значај H_2O_2 има као извор хидроксилних радикала. У одсуству металних катализатора, супероксид анјон и водоник-пероксид се лако одстрањују и практично су нешкодљиви.

Водоник-пероксид може, такође, реаговати са Fe^{2+} у Фентоновој реакцији при чему настају хидроксилни радикали.



Хидроксилни радикали су јако реактивни оксидишући радикали који реагују са већином биомолекула и представљају најштетнију форму ROS. Познато је да настају у Хабер-Вајс реакцији (Слика 5).^{89, 91}



Слика 5. Вишеструки извори ROS. Ензимски и не-ензимски антиоксиданси. Већа количина ROS се продукује током исхемије и реперфузије, доводећи до оштећења ћелија. (Модификовано према: Misra МК. и сар.⁸⁸.)

1.5.2. Продукти оксидативног стреса

Witko-Sarasat и сар.⁹² су 1996. године описали нову породицу оксидисаних протеинских продуката које су назвали “advanced oxidation protein products” (AOPP).

Узнапредвали оксидисани протеински продукти (AOPP) јесу високо оксидисани протеини, пре свих албумини, и могу настати током оксидативног стреса у реакцији плазма протеина са хлоринисаним оксидансима. Стога се AOPP могу сматрати новим маркерима оксидативног оштећења протеина. Недавно је запажено да AOPP могу да се понашају као проинфламаторни медијатори и да могу бити окидачи оксидативне “експлозије” у неутрофилима, моноцитима и Т-лимфоцитима. Повишени нивои AOPP су независни предиктори, и од фибриногена и од CRP, за атеросклеротске кардиоваскуларне догађаје, код болесника са повишеним ризиком. Дејством хлорамини-

саних оксиданаса (првенствено хипохлорне киселине и хлорамина продукованих од стране МРО у активисаним неутрофилима) долази до стварања дитиروزинских веза у протеинским молекулима и тако настају једињења позната као АОПР. Узнапредовали оксидисани протеински продукти настају првенствено оксидацијом албумина и зависе од хлоринишуће активности МРО. Концентрација АОПР у плазми блиско корелише са нивоом неоптерина, као маркера макрофагне активности, као и са дитиразином.⁹³

Liu и сар.⁹⁴ су показали да хронична акумулација АОПР доводи до настанка атеросклерозе код зечева и у условима ниских вредности охLDL, што даје за право да се АОПР сматрају не само важним маркерима оштећења протеина узрокованих оксидативним стресом, него и његовим потенцијалним покретачима.⁹⁵

Албумини молекуларне масе од око 66 кДа су најраспрострањенији протеини у плазми и чине 50-60% укупних протеина. Они су протеини негативне акутне фазе инфламаторног одговора. Албумин је важан антиоксиданс у плазми, у биолошком компартману, који је континуирано изложен оксидативном стресу. Метионин и цистеин су одговорни за 40 до 80% укупне антиоксидативне активности хуманих албумина, док се метионин понаша и као хелациони агенс за метале.

Поред албумина, важан супстрат за настанак АОПР је и фибриноген. Фибриноген се у плазми налази у слободној форми и везан за друге протеине и липопротеине. Поједина истраживања показала су да је фибриноген у плазми много осетљивији на оксидативну модификацију, у односу на друге протеине плазме (албумини, имуноглобулини и трансферин). У експерименталним условима показано је да фибриноген може бити снажнији антиоксиданс у заштити липопротеина, у односу на албумине. Има и мишљења да оксидисани фибриноген представља кључни молекул који је одговоран за антиоксидативну активност АОПР протеома.⁹⁶

Полинезасићене масне киселине у холестеролским естрима, фосфолипидима и триглицеридима подлежу слободним радикалима иницираној оксидацији, и могу учествовати у ланчаној реакцији, која доводи до оштећења биомолекула.

Малондиалдехид (MDA) је најраспорострањенији алдехид који настаје у процесу липидне пероксидације и његово одређивање помоћу 2-тиобарбитурне киселине јесте један од најчешће коришћених есеја у изучавању процеса липидне пероксидације. Малондиалдехид који се јавља у биолошким материјалима ступа у различите ковалентне везе и формира низ продуката са лизинским резидуама протеина, или са аминок групама из фосфолипида као што је фосфатидилсерин или фосфатидилетаноламин. Велики број доказа говори да су многи процеси ћелијске дисфункције током оксидатив-

тивног стреса посредоване продуктима не-ензимских реакција, као што је пероксида-тивна разградња полинезасићених масних киселина. Липидна пероксидација прати ланчану реакцију коју започињу слободни радикали и доводи до настанка липидних хидропероксида као главних иницијалних продуката. Даље, разградњом липидних хидропероксида настају многобројна једињења, која имају штетна дејства. Алдехиди који настају током липидне пероксидације се сматрају узрочницима цитотоксичних процеса, иницираних излагањем биолошких система оксидишућим агенсима. У поређењу са слободним радикалима, алдехиди су релативно стабилни, и могу дифундовати унутар или чак изван ћелије и реаговати са супстанцама далеко од места иницијалног догађаја. Ови алдехиди лако ступају у реакције са биомолекулима као што су протеини, ДНК, фосфолипиди, градећи са њима разне интра и интермолекуларне ковалентне везе. Сматра се да су они главни медијатори токсичности, узроковане оксидативним стресом, у биолошким материјалима. Ови алдехиди се понашају као биоактивни молекули у бројним физиолошким и/или патолошким стањима. Они могу да утичу и да мењају, у веома малим и нетоксичним концентрацијама, више ћелијских функција укључујући пренос сигнала, генску експресију, ћелијску пролиферацију и уопштено одговор циљних ћелија.⁹⁷

1.5.3. Антиоксидативна заштита

1.5.3.1. Ензимски и не-ензимски системи

Фини баланс између оксидативних и редуктивних услова је есенцијалан за нормално функционисање и преживљавање ћелија.

Сулфихидрилне - тиолне групе (Т-SH) имају највећу концентрацију међу антиоксидативним системима. Једна од најзначајних улога тиола је њихово функционисање као компоненте интра и екстраћелијског редокс пуфера. Понашају се као редуктивно средство у окружењу богатом оксидансима и пружају протективну улогу. Главни извори тиолних група су цистеин, хомоцистеин, метионин, аминокиселине и глутатион (GSH).⁹⁸

Ћелијски тиол редокс статус је кључни медијатор у многим метаболичким, сигналним и транскрипционим процесима у ћелији.⁹⁹ У израженом оксидативном стресу, смањење протеолитичке разградње и акумулација неструктурисаних протеина може бити узрок/последича бројних поремећаја. Стога, тиоли плазме представљају не само

метаболите и транспортере између ткива и органа, него и као функционално значајни део плазме.⁹⁵

Тиолне групе цистеинских бочних ланаца протеина су подложне бројним оксидативним модификацијама. Тако је познато формирање интер и интрамолекуларних дисулфида или сулфеничне (P-SOH), сулфиничне (P-SO₂H) и сулфоничне (P-SO₃H) киселине, као и S-нитрозотиола. Ове промене могу изменити функционисање бројних протеина који садрже цистеин унутар својих каталитичких центара или као део протеин-протеин интерактивних површина.⁹⁹

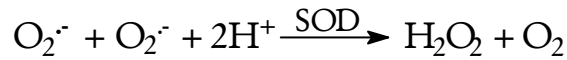
Одређивање укупних тиолних група у плазми је од користи за идентификацију клиничких стања са прекомерном продукцијом слободних радикала јер се у тим стањима конформација албумина мења. Ниво редукованих ћелијских тиола може бити дијагностички индикатор патолошког стања. Ниво и међусобни односи између различитих редокс форми тиола у плазми (насталих у редокс реакцијама укључујући и тиол дисулфидну размену) су од пресудног значаја за плазма редокс капацитет. Глутатион, цистеин и хомоцистеин су присутни у плазми углавном у форми симетричних и мешовитих дисулфида, и као фракција везана за протеине.

Неензимски антиоксидативни механизми укључују интраћелијске антиоксидансе као што су витамин Е, витамин С и β-каротен (прекурсор витамина А), убиквинон, липоичну киселину и урате. Такође, ту спада и глутатион који се понаша као редуктивни супстрат у ензимској активности глутатион пероксидазе (GPx).⁸⁸

Ензимски антиоксидативни системи укључују супероксид дизмутазу (SOD), каталазу (CAT) и GPx. Тиоредоксин и тиоредоксин-редуктаза заједно чине још један ензимски антиоксидативни и редокс регулациони систем, који је укључен у бројне ROS зависне процесе. Тиоредоксин и тиоредоксин-редуктаза могу катализовати регенерацију многих антиоксидативних молекула укључујући убиквинон Q10, липоичну киселину и аскорбинску киселину, и као такви чине значајан антиоксидативни систем против ROS. Недостатак тиоредоксин-редуктазе доводи до развоја урођених срчаних мана и срчане смрти услед тешке дилатантне кардиомиопатије.⁸⁸ Мале девијације у физиолошкој активности антиоксидативних ензима могу имати драматичне ефекте на отпорност ћелија према оксидативно индукованом оштећењу генома и ћелијском преживљавању.^{89, 91}

Супероксид-дизмутаза (SOD) - је главни ћелијски одбрамбени механизам против супероксида у свим васкуларним ћелијама. Ова група ензима садржи редокс метал у каталитичком центру и катализује реакцију при којој долази до разградње суперок-

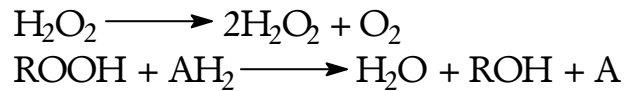
сидних радикала до водоник пероксида и кисеоника. До сада су изоловане три изоформе овог ензима: митохондријална која садржи манган (MnSOD, SOD2), цитозолна која садржи бакар и цинк (CuZnSOD, SOD1) и екстраћелијска SOD (EC-SOD, SOD3).



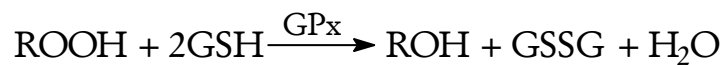
Екстраћелијска SOD је секреторни тетрамер, односно, гликопротеин који садржи бакар и цинк са високим афинитетом ка гликозаминогликанима као што су хепарин и хепаран сулфат. Она се налази у екстраћелијској течности и одговорна је за највећи део SOD активности плазме. Њу не индукују супстрати или други оксиданси у ткивима сисара, а активност у првом реду координишу цитокини, пре него индивидуални одговор ћелије на оксидансе.^{48, 89} Екстраћелијска SOD има кључну улогу у кардиоваскуларним антиоксидативним механизмима заштите. Показано је да повећана експресија EC-SOD поправља ендотелну дисфункцију и смањује величину инфарктног подручја код експерименталних анималних модела, као и да недостатак васкуларне EC-SOD оштећује вазорелаксацију и повећава величину инфарктне зоне. Ови резултати указују на то да нивои експресије EC-SOD у васкулатури имају критичну важност у регулацији вазомоторне функције и у развоју васкуларних поремећаја. Недавно је објављено да је „down“ регулација EC-SOD присутна код особа са стабилном ангином пекторис, што сугерише да EC-SOD има улогу у патогенези хроничне коронарне болести. Такође, експресија васкуларне EC-SOD је већа код нестабилне ангине, него код стабилне ангине пекторис, а нивои EC-SOD експресије су удружени са добро окарактерисаним стањима са повишеним оксидативним стресом као што су хиперхолестеролемија и старење. Експресија васкуларне EC-SOD је значајно повишена и код пацијената са АИМ у акутној фази (првог дана), али подаци о активности овог ензима у даљем току АКС се разликују. Постоје подаци да су високи нивои EC-SOD експресије првог дана након АИМ удружени са мањим инфарктним подручјем.⁹⁰

Каталаза (САТ) - је интрацелуларни антиоксидативни ензим који је углавном локализован у пероксизомима и мањим делом у цитозолу, а катализује реакцију разградње водоник пероксида до воде и молекуларног кисеоника у двостепеној реакцији. Каталаза је као ензим веома ефикасна у израженом оксидативном стресу и штити ћелије од водоник пероксида продукованог у њима. Поред водоник пероксида, САТ реагује и са донорима водоникових јона као што су метанол, етанол, мравља киселина и феноли.^{48, 89} Овај ензим највећу активност испољава у еритроцитима и ћелијама јетре, док ендотелне ћелије њу не садрже. У еритроцитима се 80-98% ћелијске каталазе нала-

зи у цитозолу, док је 2-20% везано за мембрану еритроцита.¹⁰⁰ Иако САТ није есенцијална за неке ћелијске типове, у нормалним околностима, овај ензим је посебно важан у случајевима смањеног садржаја глутатиона или смањене активности глутатион пероксидаза, и самим тим, игра значајну улогу у развоју толеранције у адаптивном одговору ћелија. У студији која је пратила преживљавање пацова изложених 100% кисеонику, показано је да је интравенозно убризгавање липозома са SOD и САТ, пре и током експозиције, имало повољне ефекте на преживљавање.



Глутатион-пероксидаза (GPx) - Редукован глутатион има најважнију улогу у регулацији интраћелијског редокс стања у васкуларним ћелијама, обезбеђујући редукујуће еквиваленте за многе биохемијске реакције. Глутатион-пероксидаза је ензим који садржи селен. Она ефикасно редукује водоник пероксид и липидне пероксиде до воде и липидних алкохола, и истовремено оксидише глутатион до глутатион дисулфида. GPx/глутатион систем се сматра најважнијим антиоксидансом у стањима оксидативног стреса мањег интензитета.^{48, 89}



Постоје најмање четири изоформе GPx и све садрже селеноцистеин у активним центрима. Глутатион пероксидаза-1 је убиквитарна интраћелијска форма и кључни је антиоксидативни ензим у већини ћелија, укључујући ендотел. У суштини, понаша се као пероксинитрит редуктаза. Код мишева недостатак GPx-1 активности доводи до функционалних и структурних поремећаја кардиоваскуларног система.

У појединим истраживањима, пушачки стаус и пол су имали најснажнији утицај на активност GPx-1. Значајно нижу активност су имали активни и бивши пушачи за разлику од оних који никада нису пушили дуван. Што се тиче пола, мушкарци имају нижу активност GPx-1 у односу на жене, али значајан фактор је и старост испитаника. Жене имају протективан фенотип одн. нижи садржај пероксида, вишу концентрацију глутатиона и већу активност GPx-1, чиме се делом може тумачити нижа инциденца срчаних обољења код жена пре менопаузе.^{101, 102}

Упоредна испитивања активности GPx-1 код болесника са стабилном и нестабилном ангином пекторис, показала су смањену активност овог ензима у обе групе. Слични резултати добијени су и при испитивању овог ензима код болесника са каротидним атеросклеротским плаковима. Сматра се да ниска активност GPx-1 може да

идентификује болеснике са коронарном болешћу који су на највећем ризику за будуће кардиоваскуларне догађаје.¹⁰¹ Како САТ није присутна у хуманим васкуларним ћелијама (ендотелним и глаткомишићним), а SOD је слабо ефикасна против ћелијског оксидативног оштећења, најзначајнија антиоксидативна одбрана је смањена у атеросклеротским плаковима.¹⁰³

1.5.3.2. Лекови у антиоксидативној заштити

Отворено је питање да ли се оштећења ендотела могу превенирати употребом лекова.

Последњу, односно, трећу генерацију, бета-блокатора од осталих издваја активност посредована азот-моноксидом. Док небиволол може активирати NOS преко одговарајућих рецептора, небиволол и карведилол утичу на активност NOS путем смањења нивоа ADMA који представља енодогени NOS инхибитор. Они такође могу превенирати настанак „NOS uncoupling“ феномена и појачати биорасположивост NO, те делују као антиоксиданси. Нова генерација бета-блокатора се показала ефикаснијом у лечењу хипертензије и срчане слабости са бољим утицајем на липидни профил и гликорегулацију. Није прецизно показано како су NO-зависни механизми (укључујући вазодилатацију, анти-пролиферативне ефекте, кардиопротективно дејство) повезани са повољнијим терапијским дејствима нове генерације бета-блокатора.¹⁰⁴

Појачана експресија ангиотензин-1 (АТ-1) рецептора је забележена код хиперлипидемије и дијабетеса тип 2, чиме се потенцира активација ангиотензином II -индуковане NADPH оксидазе. То је разлог због чега ACE инхибитори смањују NADPH оксидазну активност и интензитет васкуларног оксидативног стреса. Успорено напредовање атеросклеротских лезија код експерименталних животиња, настало употребом блокатора ангиотензинских рецептора (ARB), делом се приписује антиоксидативном дејству ових лекова, што укључује инхибицију експресије и активности NADPH оксидазе, редукцију продукције кисеоничних молекула у митохондријама, инхибицију активности ксантин-оксидазе и превенцију eNOS „uncoupling“ феномена. Неколико механизма има учешће у тзв. „eNOS-recoupling“ феномену које изазивају ARB, укључујући стимулацију *de novo* синтезе ТХБ. Додатно, ACE инхибитори и ARB смањују интензитет васкуларног оксидативног стреса, повећавајући активност SOD3.¹⁰⁵

Калцијумски антагонисти појачавају протективну активност ARB на цереброваскуларни систем и бубреге, путем супримирања активности NADPH оксидазе, посебно активне код дијабетеса тип 2.¹⁰⁶

Алфа-липоична киселина, било као дијететски суплемент или терапијски агенс, модулише редокс потенцијал уједначавањем редокс статуса између различитих субцелуларних компартмана као и екстраћелијског простора. Оксидисана (дисулфидна) и редукована (ди-тиол:дихидро-липоична киселина, DHLA) форма α -липоичне киселине имају антиоксидативна својства. Она испољава антиоксидативна дејства у биолошким системима путем одстрањивања ROS, али и дејством на металне хелаторе. Дијететска суплементација α -липоичном киселином се успешно примењује у бројним обољењима са дисбалансом редокс статуса, као што су дијабетес мелитус и КВБ.¹⁰⁷

Едаравоне (3-метил-1-фенил-2-пиразолин-5-он) је снажан скевенџер слободних радикала који превентивно делује против оштећења миокарда, након исхемије и реперфузије, код болесника са АИМ. Његова антиоксидативна дејства укључују инхибицију липооксигеназе и метаболизма арахидонске киселине заробљавањем хидроксилних радикала, инхибицију алоксаном индуковане липидне пероксидације и везивање активног кисеоника, што води заштити различитих ћелија, као што су ендотелне, од ROS. За сада се употребљава након исхемијског можданог удара.⁹¹

Недавно рађене студије о улози антиоксиданаса, углавном витамина Е, код болесника на ризику од КВБ (The Heart Outcomes Prevention Evaluation - HOPE студија, Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto - GISSI студија код 20 865 учесника) нису доказале постојање бенефита од употребе витамина Е у превенцији укупног mortalитета и кардиоваскуларних догађаја.¹⁰⁸

1.6. БИОМАРКЕРИ ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА И ЕНДОТЕЛНЕ ДИСФУНКЦИЈЕ У АКУТНОМ ИНФАРКТУ МИОКАРДА

Иако су улоге оксидативног стреса и ендотелне дисфункције у коронарној артеријској болести добро познате, истраживања о оксидативном стресу и ET-1 у АИМ су мање бројна, али и контрадикторна.

Неки аутори нису нашли разлику у степену липидне пероксидације код болесника са стабилном коронарном болешћу тј. стабилном ангином пекторис, у поређењу са контролном групом здравих, док су други аутори нашли значајно смањење концентрације једињења која реагују са тиобарбитурном киселином (TBARS, *енг.* thiobarbituric acid reactive substance) код болесника са стабилном коронарном болешћу, у поређењу са контролом.^{109, 110} Са друге стране, запажен је пораст продуката липидне пероксидације код болесника са стабилном коронарном болешћу и у АИМ, и то са прогресивним

повећањем седам дана након иницијалног догађаја. Овај пораст је био израженији код пацијената са кардиогеним шоком.¹¹¹ Код болесника са АИМ, на концентрацију TBARS у плазми, није имала утицај тромболитичка терапија. У Prospective Randomized Evaluation of the Vascular Effects of Norvasc Trial (PREVENT) студији ниво TBARS је био одличан предиктор кардиоваскуларних догађаја код болесника са стабилном коронарном болешћу.¹¹²

Укупан антиоксидативни статус (TAS, *енг.* total antioxidant status) је показатељ укупних антиоксидативних система (ензимских и неензимских) на које може утицати више фактора. Код здравих испитаника TAS је снижен код пушача у поређењу са непушачима. Он је такође снижен у стабилној коронарној болести. Нађено је прогресивно смањење TAS током прве недеље након АИМ, док у студијама других аутора исти параметар се није разликовао код болесника са АИМ у односу на здраву контролну групу. Ниво TAS је био значајније снижен код млађих особа које су преживеле инфаркт миокарда. На животињским експериментима у току АИМ нађено је смањење TAS, али уколико им је давана аскорбинска киселина пре акутног догађаја, TAS је била значајно повишена. Vassalle и сар.¹¹³ су показали пораст TBARS-а и снижење TAS код болесника са ангиографски доказаном коронарном болешћу, и оба параметра су била значајно повезана са тежином коронарних лезија.

Мало је података о оксидативним продуктима NO у акутном коронарном синдрому. За разлику од стабилне фазе коронарне болести где су нитрити и нитрати снижени услед ендотелне дисфункције, током акутне фазе инфаркта миокарда долази до пораста активности iNOS и NO оксидативних продуката, што је одговор на висок интензитет оксидативног стреса у овом патолошком стању. На анималним моделима, након лигатуре предње десцендентне коронарне артерије, запажен је пораст NOx који достиже пик након два до три дана. У истом истраживању је нађена блиска корелација између NOx и NOS активности и S-метилизотиоуреа (инхибитора iNOS). Концентрација NOx је, такође, одређивана у коронарној артеријској и венској крви на малој групи болесника са антериорним инфарктом миокарда и то 24, 48 и 72h након акутног догађаја. Пик NOS концентрације се јавио два до три дана од почетка симптома, што указује на то да је пораст NOx корелисао са iNOS активацијом индукованом цитокинима.¹¹⁴

Велики број доказа прикупљених током протеклих декада указују на то да биосинтеза NO од стране eNOS има значајну улогу у ублажавању тежине, како реверзибилног (миокардни stunning - “ошамућени миокард”) тако и иреверзибилног (миокард-

ни инфаркт) оштећења, стеченог током исхемија-реперфузије у не-прекондиционираном миокарду. Сличне повољне ефекте може дати и егзогени NO дат у виду NO-ослобађајућих агенаса или NO-прекурсора. Нађено је да NO има веома важну двојну функцију (као окидач и медијатор) у касном прекондиционарању, што представља парадигму која се назива „NO хипотеза касног прекондиционарања“. Појачана производња NO од стране eNOS је есенцијална за покретање касне фазе исхемијом или напором индукованог прекондиционарања, док појачана продукција NO од стране iNOS је неопходна у посредовању анти-„stunning“ и анти-инфаркт активности касног прекондиционарања. Хипотеза касног прекондиционарања је открила препознату цитопротективну улогу iNOS у кардиоваскуларном систему, као и то да је “up”-регулација овог ензима централни механизам којим се срце штити од исхемије. Ово указује на ваљаност доказа да је iNOS хипоксија-индуцибилни протеин. Срце реагује на исхемију користећи две различите изоформе NOS, регрутује већ постојећу eNOS за промптни одговор и истовремено доводи до up-регулације iNOS у дефанзивни фенотип, који се карактерише повећањем NO биосинтезе.¹¹⁵

In vitro, ET има позитивно инотропно и хронотропно дејство. Због снажног вазоконстрикторног ефекта када се даје системски, ET-1 посебно у високим дозама, доводи до смањења минутног волумена. Интракоронарна апликација ET-1 у високим дозама може бити летална због настанка критичне исхемије. Уколико се ET-1 даје заједно са вазодилаторима, срчани output расте, вероватно због демаскирања његовог инотропног дејства. Ендотелин-1 има снажан ефекат на стимулацију секреције ANP путем стимулације ET-A рецептора. Ендотелин-1 може имати антиаритмијски ефекат посебно у исхемичном миокарду, док резултати неких експерименталних студија указују на то да ET има проаритмијско дејство.^{116, 117} Имунохистохемијске студије су показале да је ET-1 високо експримиран у коронарној васкулатури, потом у периваскуларним подручјима и срчаним фибробластима и нешто мање у кардиомиоцитима, али с обзиром на њихову масу, највећа количина ET-1 у срцу се налази управо у њима. Упркос релативно малој експресији у коморама, ET-B рецептори изгледа доприносе инотропном ефекту и коронарној вазоконстрикцији, посебно у срчаној слабости. Ендотелински B рецептори такође могу бити укључени у настанак миокардне фиброзе удружене са хипертрофијом узрокованом хипертензијом.¹¹⁸

У студији Omlanda и сар.¹¹⁹ нађено је да концентрација циркулишућег ET-1 расте рано након развоја инфаркта миокарда и врло брзо се враћа у референтни опсег. Дуже одржавање високих нивоа ET-1 у циркулацији је нађено код болесника са

компликацијама као што је срчана слабост. Постојала је слаба, али статистички значајна, корелација ET-1 у плазми и пика СК-МВ, као и ET-1 и година старости у студији Omland и сар.¹¹⁹ Поређење између умрлих и преживелих пацијената, открило је значајно више нивое плазма ендотелина у првој групи, мерено трећег дана од инфаркта миокарда. Поменуто истраживање је прво у коме је описана веза између ендотелина одређеног у субакутној фази инфаркта миокарда и једногодишњег морталитета. Omland и сар.¹¹⁹ су сматрали да је најбоље изабрати субакутну фазу за узимање узорака крви за одређивање ET-1. То је период када се издвајају болесници са перзистентно повишеним концентрацијама ET-1, за разлику од оних са транзиторним, „акутним“ порастом.¹¹⁹

Могуће да акутна исхемија представља иницијатор ендотелинске продукције у срцу у раној фази инфаркта миокарда, док периферна хипоперфузија, настала секундарно услед смањења минутног волумена, може представљати стимулус за одржавање системске продукције ендотелина. Интеракција са другим неурохуморалним системима може, такође, имати значајну улогу у продукцији ендотелина након инфаркта миокарда. Експериментални радови показују да катехоламини, ангиотензин II и аргинин вазопресин могу стимулисати производњу ендотелина.¹²⁰ У раној фази АИМ, активација неурохуморалног система има улогу у одржавању минутног волумена и периферне перфузије, међутим, то може повећати оштећење миокарда.¹²¹

Како у клиренсу ендотелина учествују бубрези и плућа, а плућна конгестија и констрикција реналне артерије са секундарном хипоперфузијом су честе компликације у инфаркту миокарда, оне могу утицати на капацитете плућа и бубрега да уклоне ET-1 из циркулације, и на његов пораст.¹¹⁹

У студији Tomoda и сар.¹²² је нађена снажна корелација између плазматског ET-1, плућног капиларног „wedge“ притиска, средњег притиска у плућној артерији и плућне васкуларне резистенције, као и срчаног индекса 24 часа након АИМ.

Улога ET-1 у раном и касном постинфарктом периоду вероватно је везана за његов снажни инфламаторни, профибротички и промитогени ефекат, што има значаја у процесу оздрављења инфарктног подручја. Ендотелин-1 стимулише адхезију неутрофила и хемоатрактант је за макрофаге.¹¹⁸

Ендотелин-1 има значајну улогу у срчаном ремоделовању након АИМ.¹²³ Ремоделовање је процес који се арбитарно може поделити на рани период ремоделовања (<72h) и касно ремоделовање. Рани процес ремоделовања започиње унутар пар сати од акутног инфаркта миокарда, подразумева процесе растезања и истањивања оживљеног ткива, који се називају „експанзија инфаркта“, што може довести до значајне вентри-

куларне дилатације. Ова рана фаза је праћена касним ремоделовањем које се карактерише ексцентричном хипертрофијом, даљом дилатацијом коморе и дисторзијом леве коморе која поприма сферичан облик. Активирају се фибробласти, долази до великих промена у срчаном интерстицијуму као што су фиброза и активација металопротеаза матрикса. Ове абнормалности су прогресивне и могу као последицу имати развој срчане слабости.¹¹⁸

Ендотелин преодминантно испољава своје ефекте као аутокрин и/или паракрин супстанца, тако да физиолошка улога циркулишућег ЕТ-1 остаје неразјашњена. Давање моноклоналних антитела на ендотелин, животињским експерименталним моделима са АИМ, значајно смањује величину инфарктом захваћеног подручја. У концентрацијама већим од физиолошких, циркулишући ендотелин преко својих вазоконстрикторних дејстава, може допринети екстензији инфарцираног подручја. Повезаност између стално повишене продукције ЕТ-1 након АИМ и ризика од морталитета, може бити последица ових штетних ефеката циркулишућег ендотелина.¹¹⁹

Подаци о ЕТ-2 у АИМ се помињу само у једној студији, где је нађено да се експресија ЕТ-2 мења реципрочно са ЕТ-1 (драматично се смањује), али како физиолошка улога и значај ЕТ-2 нису објашњени, значај ове информације је непознат.¹²⁴

Поред улоге у ожиљавању, улога ЕТ-1 током акутне исхемије миокарда, остаје контроверзна. У коронарној оклузија/реперфузији, блокада ЕТ рецептора је показала да има повољне ефекте на величину инфарктног подручја, инциденцу аритмија и метаболизам кардиомиоцита и функцију миокарда у неким студијама, док у другим студијама није било уочљивих ефеката.

Давање ЕТ-1 током АИМ у субвазоконстрикторним дозама је показало повољне ефекте на величину инфарктног подручја и инциденцу аритмија.

Заједно узевши, резултати студија сугеришу да активација срчаног ЕТ система има двојну улогу рано након инфаркта миокарда, тј. са једне стране, он проширује исхемијско оштећење и доводи до настанка аритмија, а са друге стране, поспешује ожиљавање и експанзију инфаркта. Стога, блокада ЕТ може краткорочно имати повољне ефекте због утицаја на смањење инфарктне зоне и антиаритмијских дејстава, док дугорочно посматрано има штетно дејство, због експанзије инфарктне зоне и даље вен-трикуларне дилатације. Како ниједна студија није процењивала ефекте блокаде ЕТ рецептора пре, током и након АИМ, утицај блокатора ЕТ рецептора у инфаркту миокарда, и на ожиљавање миокардног ткива остаје нејасан. Вероватно да ови лекови могу бити укључени рано у постинфарктном периоду и на тај начин спречити поремећај

ткивног оживљавања, али ово је за сада само предмет спекулација. У једној студији на анималном моделу оваква примена лека је поправила хемодинамику у првим данима након АИМ, али и петомесечно преживљавање. Такође, је контроверзно питање треба ли употребити селективне ЕТ-А или комбиноване блокаторе ЕТ-А/ЕТ-Б рецептора. Додатак ЕТ-Б компоненте може смањити ЕТ-Б-посредовану NO продукцију и појачати вазоконстрикцију. Са друге стране, додатак ЕТ-Б блокатора може инхибирати секрецију алдостерона.¹¹⁸

1.7. КОАГУЛАЦИОНО-ФИБРИНОЛИТИЧКИ СИСТЕМ У АТЕРОСКЛЕРОЗИ

Фон Вилебрандов фактор (vWF) је велики мултимерни гликопротеин који има две кључне улоге у хемостази: делује као премостујући (“bridging”) молекул на местима васкуларне повреде како би дошло до нормалне тромбоцитне адхезије, и у условима високог “shear” стреса доводи до агрегације тромбоцита. Фон Вилебрандов фактор делује и као носач за фактор VIII у циркулацији, продужујући му полуживот пет пута.^{125, 126} Поремећај коагулације који се назива фон Вилебрандова болест јавља се у условима дефицијенције или квалитативних абнормалности фон Вилебрандовог молекула. То је најчешћа наследна болест коагулације са преваленцом око 1% у општој популацији.¹²⁷ Симптоматска фон Вилебрандова болест је мање учестала, око 0,01%.¹²⁸

Пре 160 година постављена је хипотеза да абнормалности у току крви, зиду крвног суда или у саставу крви, могу довести до тромбозе (Вирховљева/Virchow-а тријада). Како се ослобађање vWF повећава код оштећења ендотелних ћелија, ниво vWF је предложен као могући индикатор ендотелне дисфункције.

Фон Вилебрандов фактор је мултимерни гликопротеин који се синтетише искључиво у ендотелним ћелијама и мегакариоцитима. Мултимери vWF су различите молекуларне тежине, а они са највећом молекулском тежином се складиште у тромбоцитима и ендотелним ћелијама, и имају већи афинитет за везивање за субендотелни екстраћелијски матрикс (посебно колаген) него мање vWF мултимерне врсте. Ово сугерише да структура или тип циркулишућег vWF антигена, може евентуално, бити важнији маркер ендотелне ћелијске повреде, дисфункције или стимулације, од апсолутних вредности vWF антигена.

Повишене концентрације vWF су нађене код пацијената који су преживели АИМ. Постоји такође повезаност концентрације vWF са клиничком тежином ангине пекторис. Фон Вилебрандов фактор је показатељ повишеног ризика за реинфаркт и

морталитет код болесника са ангином пекторис и код оних који су преживели инфаркт миокарда. У великој проспективној, мултицентричној студији, European Concerted Action Against Thrombosis (ECAT) код 3043 болесника са ангином пекторис, нивои vWF, фибриногена и ткивног плазминоген активатора су били независни предиктори за АКС током две године праћења.¹²⁹ Прецизан механизам којим vWF повећава кардиоваскуларни ризик код болесника са ангином пекторис или након ИМ је непознат. Најпре, ендотелно оштећење у коронарној болести може довести до пораста настајања тромбина и пораста vWF. Алтернативно, како vWF има улогу у процесима адхезије и агрегације тромбоцита и у коагулацији, његови повишени нивои могу повећати ризик од тромбогенезе код болесника са већ постојећом болешћу зида крвног суда, доводећи до појаве реинфаркта. Даље, vWF може бити једноставно показатељ теже болести без директног патофизиолошког значаја.

Иницијални стимулус за ослобађање или синтезу vWF, код болесника са васкуларним обољењем, је нејасан и може укључивати различите факторе кардиоваскуларног ризика: пушење, хиперлипидемију, слободне кисеоничке радикале или хипоксију насталу услед исхемије. Блокада NO појачава стимулисано ослобађање vWF код људи.¹³⁰

Акутни коронарни синдром је прототип клиничког стања удруженог са дуготрајним порастом vWF, са пиком три до четири дана након инфаркта и са постепеним смањењем у постинфарктном периоду и у току реконвалесценције.¹³¹

У многим студијама је проспективно испитивана удруженост између vWF и развоја КВБ код здравих индивидуа. У великој Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) студији релативни ризик за коронарну болест је сигнификантно, али незнатно, био повишен код испитаника са vWF у највишем терцилу. Међутим, у регресионој анализи са конвенционалним факторима ризика за КВБ (као што је дијабетес мелитус), повишен vWF је губио предиктивни значај. Повезаност vWF нивоа и појаве коронарних догађаја код здравих особа је слаба, међутим, ова веза постаје много јача, код болесника са већ постојећом васкуларном болешћу, посебно код оних који су преживели ИМ.¹³² Међутим, неке ретке болести пружају убедљив индиректни доказ о патогеној улози vWF у АИМ. Прво, акутна тромботична тромбоцитопенијска пурпура у којој постоји изражен пораст нивоа циркулишућег веома великог мултимера vWF, који је и најактивнији мултимер у плазми, је врло често повезана са миокардним оштећењем.¹³³ То може довести до озбиљног ИМ, кардиогеног шока и срчаног застоја, што је и описано у неколико објављених приказа случаја.¹³⁴

Насупрот томе, артеријска тромбоза је, чини се, веома ретка код болесника са фон Вилебрандовом болешћу, која настаје услед квалитативног или квантитативног недостатка vWF. Давање дезмопресина који доводи до секреције велике количине vWF, али не и коронарне вазоконстрикције, може довести до инфаркта миокарда код појединих пацијената. Стога се чини да је vWF ипак укључен у настанак коронарне болести, и да није само прогностички фактор.¹³⁵

D-димер је деградациони продукт унакрсно повезаних фибринских нити. Повишен плазма D-димер је нађен код болесника са коронарном и периферном атеросклерозом и атријалном фибрилацијом, где су његови нивои указивали на тежину обољења. D-димер корелише са “мајор” кардиоваскуларним факторима ризика као што су старост, пушење, крвни притисак и фибриноген.¹³⁶ Резултати Caerphilly Prospective студије су показали да је повишен D-димер снажан предиктор настанка кардиоваскуларних догађаја и CVI. Ово је у складу са налазима Edinburgh Artery Study и студије код болесника из Глазгова са атријалном фибрилацијом, што указује на могућу улогу појачане раградње фибрина у предикцији и патогенези артеријске болести и тромбозе.¹³⁷ Многе студије показују да протеин C има више улога са циљем одржања регулисаног баланса између хемостазе и система одбране домаћина у одговору на васкуларну повреду. Плазма протеин C је зимоген серин протеазе. Након његове активације, активисани протеин C (APC) има више биолошких активности. Ово укључује антитромботску активност и различита антиинфламаторна и цитопротективна дејства чији је главни циљ одржавање здравог интегритета васкулатуре.

Мултипле активности укључују анти-апоптотичку активност, антиинфламаторну активност, регулацију генске експресије и стабилизацију ендотелне баријере и могу бити покренуте након везивања APC за кључне рецепторе, протеаза активисан рецептор-1 (PAR 1) и ендотелни рецептор за протеин C (EPCR). Ћелије код којих APC индукује цитопротективне сигнале нису ограничене само на ендотел, него укључују и епителне ћелије, различите лимфоците, дендритичне ћелије и неуроне.¹³⁸ Протеин C је значајан природни плазматски антикоагуланс. Након његове активације тромбомодулин везаним тромбином, у присуству протеина C, он разграђује фактор (F)Va и VIIIa, инхибирајући коагулацију. Наследна дефицијенција протеина C је фактор ризика за венски тромбоемболизам, и нижи ниво протеина C у плазми повећава ризик од венске тромбоемболије. Међутим, да ли је низак ниво протеина C фактор ризика и за артеријску тромбозу остаје нејасно.¹³⁹ Мета анализа више мањих студија је показала да код деце дефицијенција протеина C удвостручује вероватноћу настанка цереброваскулар-

ног инzulта.¹⁴⁰ Код одраслих, највише доказа о повезаности смањења нивоа протеина С са артеријском тромбозом се добија из појединачних приказа случаја. Закључено је да су ови докази тренутно недовољни да би повезали дефицијенцију протеина С и артеријску тромбозу код људи.¹⁴¹ Недавно је велика породична кохортна студија показала да урођена дефицијенција протеина С (протеин С антиген испод 63 IU/dL) и/или активност мања од 64 IU/dL су удружене са повећаним ризиком од артеријске тромбозе (инфаркт миокарда, исхемијски цереброваскуларни инzulт, транзиторни исхемични атак) пре 55. године, али не и код старијих особа.¹⁴² У популационој студији Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC), плазма протеин С ниво није био удружен са појавом коронарне болести.¹³⁹

Клиничке студије су показале да особе са фактором V Leiden, мутираним фактором V што води резистенцији на активисани протеин С, имају девет пута већи ризик од развоја исхемијске болести срца пре 45. године.¹⁴³ Додатно, мутација на тромбомодулину је удружена са инфарктом миокарда на тај начин што онемогућава настанак APC у нормалним физиолошким условима. Активност APC након реперфузионе терапије у АИМ је проучавана на анималним моделима сисара. Давање APC током исхемије и реперфузије помаже у смањењу морталитета и степена апоптозе кардиомиоцита, и враћа средњи артеријски притисак у нормалне оквире без утицаја на срчану фреквенцу или притисак у левој комори, кратко након оклузије. Тачан механизам настанка ових повољних ефеката је нејасан.¹⁴⁴

Costa и сар.¹⁴⁵ су показали да APC повећава преузимање глукозе и доводи до повећања транслокације глукоза транспортера тип 4 (GLUT 4) до ћелијске мембране и на тај начин мења метаболизам супстрата у исхемијском миокарду на повољан начин, тако да се АТФ генерише примарно преко оксидације глукозе током реперфузије. Интересантно, APC такође, повећава аутофагију и побољшава редокс статус у исхемијом и/или реперфузијом оштећеном миокарду. Ови резултати иду у прилог недавним налазима да аутофагија доприноси интраћелијској хомеостази глукозе у краткорочним условима стреса.¹⁴⁵

1.8. АЛБУМИНУРИЈА

Нормално се бубрезима излучује мање од 30 mg на дан, односно 20 µg/min албумина. Перзистентна екскреција албумина између 30 и 300 mg/дан (20 до 200 µg/min)

раније се називала микроалбуминурија (МА), а сада се означава као албуминурија умереног степена. Излучивање албумина преко 300 mg/дан (200 µg/min) је позитивна протеинурија на тест траци (која се назива и албуминурија тешког степена, односно, по старој номенклатури макроалбуминурија).^{146, 147} Важнији параметар у процени албуминурије је одређивање уринарног албумин креатинин односа (UACR, *енг.* urinary albumin-to-creatinine ratio). Предност одређивања овог параметра је у независности од волумена излученог урина. Вредности од 2,5-25 mg/mmol код мушкараца и 3,5-35 mg/mmol код жена сугеришу на постојање умерено повишене албуминурије, док вредности веће од 25 mg/mmol код мушкараца, и вредности веће 35 mg/mmol код жена, указују на тешку албуминурију (раније називану макроалбуминурија).^{148, 149}

1.8.1. Албуминурија умереног степена

Утврђено је да је албуминурија умереног степена значајан фактор ризика и умирања од КВБ.

У HOPE студији (Heart Outcomes Prevention Evaluation), њено присуство је било удружено са повишеним релативним ризиком од инфаркта миокарда, CVI и кардиоваскуларног морталитета, без обзира на присуство шећерне болести.¹⁵⁰ У LIFE (The Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study) студији је показано да је ризик од кардиоваскуларног морталитета, инфаркта миокарда и CVI био снижен код болесника код којих је регистровано њено смањење на крају једне године праћења.¹⁵¹

Велики број популационих студија је указао на то да је умерено повећање албуминурије снажан, независан, предиктор кардиоваскуларног ризика.¹⁵²⁻¹⁵⁴ Високо-нормална албуминурија тј. виши ниво албуминурије, али унутар референтних вредности, је, такође, удружен са повишеним кардиоваскуларним ризиком, што је доказано у Copenhagen Heart Study и субанализама Framingham Heart Study.¹⁵⁵

Њено присуство повећава предиктивни значај ST/T промена. Ово је нађено у субанализи PREVEND IT (The Prevention of Renal and Vascular Endstage Disease Intervention Trial) студије. Испитаници са албуминуријом умереног степена и ST/T променама, у поређењу са онима са само ЕКГ променама, су имали повишен укупни и кардиоваскуларни морталитет (7,2 vs. 1,1%).¹⁵⁶

Поједини аутори су указали на то да она има чак већи утицај на укупан морталитет од хипертензије, хиперхолестеролемије, пушења дувана, гојазности и дијабетес мелитуса, али је недовољно познат механизам којим је повезана са КВБ. Код особа без

шећерне болести она је изгледа сигнал из бубрежне васкулатуре, посебно ендотела, о постојању дисфункције. Наиме, вазодилатација у одговору на одређене стимулусе је релативно ослабљена код старијих здравих особа са албуминуријом умереног степена, у поређењу са онима који имају албуминурију у референтним вредностима.¹⁵⁷ Код особа са примарном хипертензијом и без шећерне болести, али са албуминуријом умереног степена, нађени су повишени нивои vWF антигена. Вредности албуминурије и vWF антигена код ових болесника су блиско корелисале.¹⁵⁸

1.8.1.1. Албуминурија умереног степена - фактор ризика за КВБ

Подаци из више студија су показали да албуминурија умереног степена није само предиктор компликација код болесника са шећерном болешћу, него и снажан, независан фактор ризика за коронарну болест, тј. она је предиктор развоја коронарне болести на терену атеросклерозе.¹⁵⁹ Постоји више патофизиолошких механизма који објашњавају њену повезаност са процесом атеросклерозе крвних судова. Тренутно прихваћена теорија подразумева локално оштећење глаткомишићних ћелија и ендотела, што води ћелијској пролиферацији и порасту васкуларне пермеабилности.¹⁶⁰

Савремена схватања сугеришу да је механизам васкуларне повреде удружен са албуминуријом умереног степена различит код хипертензивних особа са одн. без шећерне болести.¹⁶¹⁻¹⁶³ Особе са албуминуријом умереног степена имају повишену стопу транскапиларног губитка албумина. Оне такође имају скуп других метаболичких и не-метаболичких фактора удружених са КВБ као што су артеријска хипертензија, дислипидемија и инсулинска резистенција.^{164, 165}

Код болесника са албуминуријом умереног степена без дијабетес мелитуса, повећана васкуларна пермеабилност је узрокована изменама у екстраћелијском матриксу, што доприноси развоју ендотелне дисфункције, са убрзаним преласком липида у зид крвног суда и настанком атеросклеротских промена.¹⁵⁰ У многим акутним и хроничним обољењима она је удружена са повећаном васкуларном пермеабилношћу која представља финалну заједничку карику и укључује активацију комплемента и макрофага, неутрофила и ендотелних ћелија, путем различитих запаљенских медијатора.¹⁶²

Болесници са дијабетес мелитусом, поред системских промена, развијају локално оштећење на нивоу гломеруларне мембране. Као последица реналног губитка албумина, јетра компензаторно повећава синтезу истих.¹⁶¹ Гликозилација албумина у дијабетес мелитусу трансформише овај молекул у антиген, који иницира велики број ћелијских и хуморалних имунолошких реакција, као што је активација полиморфону-

клеарних леукоцита. Додатно, постоји губитак селективности гломеруларне мембране. Патолошко промене удружене са албуминуријом умереног степена, у дијабетес мелитусу су вишеструке: локалне промене у бубрезима као што је повишен интрагломеруларни капиларни притисак, повећан прелазак албумина кроз поре гломеруларне мембране и губитак наелектрисања гломеруларне мембране, док системске промене укључују активацију инфламаторних медијатора, повећани транскапиларни прелазак албумина и васкуларну ендотелну дисфункцију. Она стога, одражава постојање дифузне васкуларне болести, која је удружена са присуством неповољног профила ризика и оштећењем циљних органа код особа са дијабетес мелитусом.¹⁶⁶

1.8.1.2. Ендотелна дисфункција и албуминурија

Ендотел продукује компоненте екстраћелијског матрикса и низ протеина који имају важну улогу у васкуларној и бубрежној функцији. Оштећена ендотелна анти-тромботична и вазодилататорна својства јесу најзначајнији фактори у атерогенези. Сматра се да поремећај ендотелне пермеабилности може бити узрок албуминурије умереног степена у општој популацији, код оних са артеријском хипертензијом и са дијабетес мелитусом. Ендотелна дисфункција изгледа има кључну улогу у настанку гломерулосклерозе и атеросклерозе, код болесника без дијабетес мелитуса. Повећана пермеабилност ендотела дозвољава атеросклеротским липопротеинским честицама (оксидисаном LDL и др.) да продру у васкуларни зид и започну процес настанка атеросклеротских плакова. Албуминурија умереног степена је, такође, удружена са биохемијским показатељима ендотелне дисфункције као што су повишен vWF, повећана адхезивност тромбоцита, са повишеном концентрацијом ангиотензина II у плазми, повишеним ткивним плазминоген активатор инхибитором-1 и повишеним концентрацијама ET-1.¹⁶⁶ Већи степен албуминурије умереног степена не представља само показатељ ендотелног оштећења, него је удружена и са лошом кардиоваскуларном прогнозом.

Њено присуство је од великог дијагностичког значаја јер она представља веома сензитивну манифестацију поремећене васкуларне пермеабилности.¹⁵⁵ Количина излучених албумина је пропорционална тежини патолошког стања.¹⁶⁵ Албуминурија умереног степена је уочена и код болесника са АКС или са болешћу периферних артерија, и пропорционална је величини инфарктног подручја, односно, појави клаудикација.^{167, 168} Рана детекција ове абнормалности може утицати на агресивност лечења и коначно на исход обољења. У студији Klansena и сар.¹⁶⁹ нађено је да је она снажан показатељ

постојања коронарне болести и предиктор морталитета, независно од старости, пола, хипертензије, присуства дијабетес мелитуса, реналне функције и липидног профила.

Нађена је значајна корелација албуминурије умереног степена и тежине коронарне болести, одређене бројем коронарних артерија са сигнификантним лезијама. Болесници са дво- или тросудовном болешћу имали су виши степен албуминурије умереног степена од оних са једносудовном болешћу.¹⁷⁰ Она је била независан предиктор слабијег протока крви кроз инфарктну артерију, што је био показатељ шестомесечног морталитета код болесника са STEMI, који су били подвргнути примарној перкутаној коронарној интервенцији (ПКИ), без обзира на старост, Килип класу на пријему и број оболелих коронарних артерија.¹⁷¹

Последњих година, hsCRP и албуминурија умереног степена су означени као независни маркери ризика за морталитет код болесника са АИМ.^{172, 173} Удруженост CRP и албуминурије умереног степена се објашњава помоћу више механизма. Студије на животињама су показале да убризгавање CRP пацовима доводи до ендотелне дисфункције и оштећења вазореактивности услед инхибиције ендотелне NOS.¹⁷⁴ Смањена синтеза азот-моноксида доводи до вазоконстрикције, адхезије леукоцита, активације тромбоцита, поремећаја коагулације и васкуларне инфламације.¹⁷⁵ С-реактивни протеин доводи до продукције проинфламаторних цитокина што изазива пролиферацију мезангијалних ћелија, прекомерну продукцију мезангијалног матрикса гломерула и повећану васкуларну пермеабилност, чија је последица албуминурија.¹⁷⁶ Није било разлике у нивоу hsCRP између група са нормоалбуминуријом и албуминуријом умереног степена код болесника са АИМ, у студији Weir и сар.¹⁷⁷ Ово може бити објашњено тиме да је сам АИМ праћен израженим порастом hsCRP. У овој студији, болесници са албуминуријом умереног степена су имали више вредности серумског креатинина, већу гликемију на пријему и нижу LVEF, од болесника без албуминурије умереног степена. Међутим, утицај албуминурије умереног степена на краткорочни морталитет у АИМ је био независан од осталих поменутих фактора ризика у мултиваријантном моделу. Виши ниво серумског креатинина у АИМ, може указивати на смањен срчани минутни волумен што води смањењу реналног протока крви, смањењу протока крви кроз миокард, хроничном оптерећењу волуменом и дијастолној дисфункцији леве коморе. Даље, албуминурија умереног степена рефлектује субклиничко оштећење васкулатуре у бубрезима, али може означавати и системску ендотелну дисфункцију која, сама по себи, јесте предиспонирајући фактор за кардиоваскуларне догађаје.¹⁷⁷ Хипергликемија, *per se*, оштећује ендотелна вазодилаторна својства што води ендотелној дисфункцији.¹⁷⁸

Неколико истраживача је показало да се „no-reflow“ феномен виђа код више од 30% болесника након тромболизе или “catheter-based” ПКИ у АИМ.^{179,180} Додатно, показано је да „no-reflow“ јесте предиктор лоше краткорочне и дугорочне прогнозе у АИМ. Тежина „no-reflow“ феномена корелише добро са тежином миокардног оштећења.¹⁷⁹ Ангиографски „no-reflow“ феномен је снажан предиктор срчаних компликација, независно од осталих добро познатих предиктора дугорочне прогнозе након АИМ, као што су старост, Килип класа, LVEF.¹⁸¹ Недавно су Suenagi и сар.¹⁸² нашли да постоји значајна разлика у протоку крви кроз епикардне коронарне артерије, одређиваног „TIMI flow grades“, између болесника са и без албуминурије умереног степена.¹⁸² „No-reflow“ у инфарктом захваћеној артерији, након реперфузионе терапије, углавном се приписује дисфункцији дисталне микроциркулације. Реперфузионо оштећење и ослобађање слободних кисеоничких радикала као и микроваскуларна ендотелна дисфункција и микроваскуларна констрикција могу имати значајну улогу у настанку „no-reflow“ феномена.^{183, 184} Прецизан патофизиолошки механизам којим албуминурија умереног степена повећава ризик од настанка лоше миокардне перфузије након ПКИ није познат. Претпоставља се да су анемија, оксидативни стрес, пораст инфламаторних цитокина, неповољан липидни профил, поремећај калцијум фосфатне хомеостазе, као и стања која фаворизују коагулацију, удружени са албуминуријом умереног степена. Све наведено може бити повезано са лошом перфузијом миокарда, након примарне ПКИ, код болесника са албуминуријом умереног степена.^{171, 185, 186}

2. НАУЧНА ХИПОТЕЗА

X0. Акутни инфаркт миокарда нема утицаја на маркере ендотелне дисфункције, оксидативног стреса и инфламације и наведени биомаркери немају прогностички значај у овој болести.

X1. Ендотелин-1, азот-моноксид, уринарни албумин-креатинин однос и фон Вилебрандов фактор су повишени трећег дана након акутног инфаркта миокарда и имају значаја у интрахоспиталној и двогодишњој прогнози код ових болесника.

X2. Тиолне групе у плазми, активност антиоксидативних ензима у еритроцитима: SOD, GPx и CAT, као и продукти оксидативног стреса: MDA и AOPP су значајно повишени трећег дана након акутног инфаркта миокарда и њихово одређивање има значаја у интрахоспиталној и двогодишњој прогнози.

X3. Инфламаторни маркери: hsCRP, фибриноген и број леукоцита су повишени у акутном инфаркту миокарда и њихово одређивање пружа додатне прогностичке информације поред оних које добијамо одређивањем маркера некрозе кардиомиоцита.

X4. Маркери хемостазе: протеин C и D-димер, мерени трећег дана од акутног инфаркта миокарда имају краткорочни и дугорочни прогностички значај.

X5. Одређивање више биомаркера, односно, „мултимаркер“ приступ омогућује боље сагледавање профила ризика код пацијената након акутног инфаркта миокарда, како у погледу краткотрајне (интрахоспиталне) тако и прогнозе након 24 месеца од акутног догађаја (морталитет и рехоспитализације).

3. ЦИЉ РАДА

Имајући у виду комплексност акутне коронарне болести у чијој патогенези се налази велики број механизма као што су процес атеросклерозе, ендотелна дисфункција, оксидативни стрес и инфламација, циљ нашег рада је био:

1. Одредити поједине маркере ендотелне дисфункције, трећег дана од акутног инфаркта миокарда, како би се проценио однос промене њихових концентрација и појаве интрахоспиталних компликација и њихов значај у одређивању двогодишње прогнозе (морталитет и рехоспитализације).
2. Одредити маркере прооксидативне активности (MDA, AOPP) и антиоксидативне активности (GPx, SOD, CAT, концентрација T-SH), трећег дана од акутног инфаркта миокарда, како би се проценио однос промене њихових концентрација и појаве интрахоспиталних компликација, и њихов значај у одређивању двогодишње прогнозе (морталитет и рехоспитализације).
3. Одредити маркере инфламације код болесника са акутним инфарктом миокарда, у истом временском периоду, и проценити промене у њиховој концентрацији у односу на прогнозу ових болесника.
4. Одредити маркере хемостазе трећег дана од акутног инфаркта миокарда и проценити постојање пораста њихове концентрације и њену удруженост са интрахоспиталном и двогодишњом прогнозом.
5. Корелирати вредности појединих биомаркера оксидативног стреса, ендотелне дисфункције, инфламације и хемостазе са клиничким манифестацијама акутног инфаркта миокарда.

4. ИСПИТАНИЦИ И МЕТОДЕ

4.1. ИСПИТАНИЦИ

4.1.1. Експериментална/клиничка група

Проспективним истраживањем је обухваћено 108 болесника са акутним инфарктом миокарда (80 мушкараца и 28 жена) старости од 40 до 84 године који су чинили клиничку одн. експерименталну групу и 30 здравих испитаника (20 мушкараца и 10 жена) старости од 30 до 72 године који су представљали контролну групу. Информисани пристанак је добијен од сваког пацијента пре укључивања у истраживање, у складу са препорукама *World medical association Declaration of Helsinki - Ethical principles for medical research involving human subjects* (усвојена 1964, ревидирана 1975, 1983, 1996, 2000, 2002, 2004, 2008, 2013).

У истраживање су укључени болесници који су примљени у Јединицу за лечење акутног коронарног синдрома Клинике за кардиоваскуларне болести, Клиничког центра у Нишу, у периоду април-јун 2012. године. Из истраживања су били искључени болесници са коморбидитетима као што су дијабетес мелитус, хроничне инфламаторне болести, коагулопатије, хронична бубрежна и респираторна слабост, с обзиром на то да маркери инфламације, оксидативног стреса и ендотелне дисфункције могу бити повишени у склопу основне болести.

Према најновијим препорукама Европског удружења кардиолога, дијагноза акутног инфаркта миокарда се поставља уколико се докаже некроза миокарда у склопу клиничке слике која указује на исхемију миокарда. У том случају се било који од наведених критеријума сматра довољним за дијагнозу инфаркта миокарда: Регистровање пораста и/или пада вредности срчаних биомаркера (пре свега срчаног тропонина (сТn)) за најмање једну вредност изнад 99. перцентила горње референтне вредности (URL) уз постојање најмање једног од наведених параметара, као што су:

- симптоми исхемије;
- ЕКГ промене које указују на новонасталу исхемију (новонастала значајна промена ST-сегмента-Т-таласа) (ST-T) или новонастали блок леве гране (BLG);

- развој патолошког Q зупца на ЕКГ-у;
- новонастали губитак вијабилности миокарда или новонастали поремећај регионалне покретљивости доказан визуализационим методама;
- идентификација интракоронарног тромба ангиографијом или аутопсијом.
- Срчана смрт са симптомима који упућују на исхемију миокарда и новонастале исхемијске промене или новонастали блок леве гране, при чему је смртни исход наступио пре него што су добијене вредности биомаркера, или пре него што је дошло до пораста вредности срчаних биомаркера.
- Посебно се издвајају подтипови инфаркта који могу настати код поступака као што су ПКИ или аортокоронарног бајпаса (АКБП).¹⁸⁷

Клиничко-лабораторијска обрада болесника обухватала је детаљно узимање анамнезе уз процену присутних фактора кардиоваскуларног ризика и претходних кардиоваскуларних болести, као и податке о претходној терапији. Рађен је детаљни физикални преглед и процена хемодинамског статуса, као и процена Килип класе. Килип класа I подразумева непостојање срчане инсуфицијенције, Килип класа II постојање конгестивне срчане инсуфицијенције са влажним шушњевима испод половине плућних поља или трећи срчани тон, док Килип класа III означава едем плућа (влажни шушњеви преко половине плућних поља), Килип IV класа се односи на кардиогени шок. Пацијентима је мерена телесна висина и тежина и одређиван индекс телесне масе (BMI, *енг.* *body mass index*). Узимани су узорци крви за лабораторијске анализе (комплетна крвна слика, глукоза, уреа, креатинин, натријум, калијум, аспартат аминотрансфераза-AST, аланин аминотрансфераза-ALT, лактат дехидрогеназа-LDH, липидни статус-укупни холестерол, LDL и HDL фракција холестерола, триглицериди), као и за маркере некрозе миоцита: тропонин I (TnI), креатин киназа изоензим МБ (СК-МБ), мождани натриуретски пептид В (BNP) и инфламаторне маркере: високо сензитивни С реактивни протеин (hs CRP), фибриноген. Високо сензитивни тропонин I је одређиван на пријему ако је од почетка болова у грудима прошло најмање 6 сати, уколико то није био случај, крв је за ову анализу узимана након истека поменутог временског периода. Процена бубрежне функције је вршена поред мерења азотних продуката у крви и одређивањем брзине гломеруларне филтрације уз помоћ MDRD једначине.¹⁴⁶

Комплетна крвна слика је одређивана на хематолошком анализатору AL 816 (Graz, Austria), док су биохемијски параметри испитивани у серуму стандардним процедурама на биохемијском анализатору Olympus AU680, Beckman Coulter, Brea, USA.

Концентрације BNP, hsCRP и hsTnI су одређиване према упутствима произвођача: BNP (Architect assay, Abbott, USA), hsCRP (Beckman Coulter, Brea, USA), hsTnI (Architect Stat High sensitive Troponin-I assay, Abbott Diagnostics, USA).

Болесници са инфарктом миокарда и ST-сегмент елевацијом, болесници након неуспешне фибринолитичке терапије и болесници са инфарктом миокарда без ST-сегмент елевације (NSTEMI) на врло високом или високом ризику (хемодинамска нестабилност или кардиогени шок, рекурентни или непрекидни бол у грудима рефрактеран на примењену медикаментозну терапију, животно угрожавајуће аритмије или срчани застој, механичке компликације, рекурентне ST/T промене, посебно интермитентна ST елевација, GRACE ризик скор преко 140) су одмах по иницијалној обради добијали реперфузиону терапију (примарну или „rescue“ ПКИ, фибринолитик- ACTLYSE®).¹⁸⁸

С обзиром на то да је лечење укључивало ПКИ унутар 72 часа од момента настанка АИМ и биомаркери су одређивани на крају тог периода.

Трећег дана хоспитализације одређивани су:

1. Маркери оксидативног стреса: малондиалдехид, продукти узнапредовале оксидације протеина, тиолне групе, антиоксидативни ензими у еритроцитима: супероксид-дизмутаза, каталаза, глутатион-пероксидаза.
2. Маркери ендотелне дисфункције: азот-моноксид, ендотелин-1, фон Вилебрандов фактор, албуминурија мерена као уринарни албумин креатинин однос (UACR) из јутарњег узорка урина;
3. Маркери хемостазе: D-димер и протеин С.

Биохемијске анализе су обављене у Центру за медицинску биохемију КЦ Ниш, Заводу за трансфузију крви Ниш и у оквиру Института за биомедицинска истраживања Медицинског факултета у Нишу.

4.1.2. Контролна група

Контролну групу чинило је 30 здравих испитаника сличне старосне и полне структуре у односу на клиничку. Испитаници су били добровољни даваоци крви у Заводу за трансфузију крви Ниш. Онима који су потписали информисани пристанак након детаљног објашњења циља истраживања и њихових обавеза, заказан је термин за амбулаторни интернистички преглед, током кога је рађен ЕКГ, мерен крвни притисак, узета детаљна анамнеза и узорци крви и урина (ујутру, наше, најмање 12 сати од

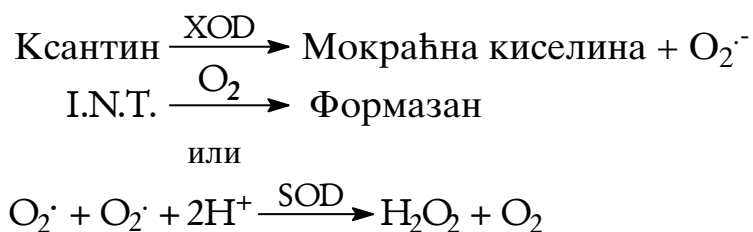
узимања obroka и конзумирања дувана). Добровољци код којих су уочене абнормалности упућивани су лекарима опште медицине на даљу дијагностичку и терапијску обраду. Од 112 наводно здравих добровољаца који су потписали информисани пристанак, само 30 је укључено у истраживање. Код њих су телефонске визите рађене на 6 месеци, а након 2 године поново су били на интернистичком прегледу.

4.2. МЕТОДЕ

4.2.1. Супероксид дизмутаза

Супероксид дизмутаза (SOD) (EC 1.15.1.1) је одређивана у еритроцитима колориметријским тестом „Ransod“ фирме Randox (Crumlin, Co. Antrim, UK). Еритроцити су припремани из предходно узете крви са хепарином (вакумска епрувета, Terumo, Leuven, Belgium). Након центрифугирања и одвајања плазме уобличени елементи су испирани више пута са NaCl (8,9 g/L) све док супернатант не постане сасвим бистар (3-4 пута). По завршеном испирању суспензији еритроцита додавана је хладна вода (на 1 део еритроцита 3 дела воде) и вршена је хемолиза еритроцита након чега је хемолizat смрзаван и чуван на -20°C .

Супероксид анион радикал, генерисан ксантин/ксантин оксидаза системом, реагује са акцептором електрона 2-(*p*-indophenyl)-3-(*p*-nitrophenol)-5-phenyl tetrazolium chloride (I.N.T.) формирајући црвену формазан боју.



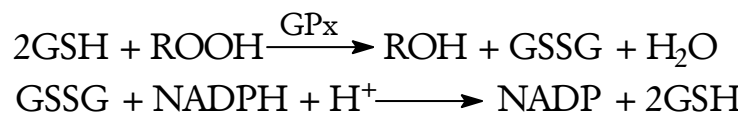
Активност SOD-а је одређивана степеном инхибиције ове реакције и прерачунана преко стандардне криве при чему су вредности изражаване на грам предходно одређеног хемоглобина (U/g Hb). Метода је апликована на анализатору Beckman Coulter AU 680 (Beckman Coulter, Brea, USA).¹⁸⁹

4.2.2. Глутатион пероксидаза

Глутатион пероксидаза (GPx) (EC 1.11.1.9) је одређивана у еритроцитима UV методом, „Ransel“ реагенсом фирме Randox на анализатору Beckman Coulter AU 680

(Beckman Coulter, Brea, USA). Начин припреме узорка је исти као и за одређивање SOD. За разблажење узорка коришћен је Драпкинов реагенс да би се цијанидом извршила инхибиција других пероксидаза. Пре додавања Драпкиновог реагенса узорак је третиран комерцијалним дилуентом да би се GPx превела у редуковани облик.

Принцип реакције је заснован на методи коју су дали Paglia и Valentine.



Глутатион пероксидаза катализује оксидацију глутатиона са кумен хидропероксидом. У присуству глутатион редуктазе и NADPH, оксидисани глутатион се преводи у редуковану форму са истовременом оксидацијом NADPH у NADP, што се одражава на пад апсорбанције на 340 nm.^{190, 191} Активност је изражавана као U/g Hb.

4.2.3. Каталаза

Каталаза (CAT) (EC 1.11.1.6) у еритроцитима је одређивана Beutler-овом кинетичком методом, базираном на разградњи водоник-пероксида чији се пад при разградњи прати падом апсорбанце на 230 nm.¹⁹² Узорак је претходно припреман након испирања еритроцита, с тим што се стоструко разблажује. Активност је изражавана као U/g Hb $\times 10^4$. Одређивање је вршено на спектрофотометру DU-650, Beckman (Beckman Coulter, Brea, USA).

4.2.4. Малондиалдехид

Концентрација MDA је одређивана у плазми помоћу спектрофотометријске методе са тиобарбитурном киселином (ТВА). Малондиалдехид, као један од секундарних продуката липидне пероксидације, у ацидификованој средини, на повишеној температури, реагује са ТВА при чему настаје розе пребојени MDA-(ТВА)₂ комплекс чија се концентрација одређује спектрофотометријски на 532 nm употребом моларног апсорпционог коефицијента $1,56 \times 10^5 \text{ mol/L/cm}$, а изражава се у $\mu\text{mol/L}$.¹⁹³

4.2.5. Узнапредовали продукти оксидације протеина

Узнапредовали продукти оксидације протеина (AOPP) су одређивани у плазми у коју је додата H₂O, сирћетна киселина и калијум јодид. Апсорбанца је читавана

спектрофотометријски на 340 nm у поређењу са хлорамином T раствореним у истом пуферу. Резултат је изражаван као $\mu\text{mol/L}$ хлораминских еквивалената плазме.¹⁹⁴

4.2.6. Сулфхидрилне групе

Укупна количина (протеинских и непротеинских) SH група је одређивана у плазми према методи Sedlaka и Lindsay, заснована на Ellman-овој реакцији -SH група са 5,5'-5,5'-дитио ди-(2-nitrobenzoevom киселином) при чему настаје 2-нитро-меркапто бензоева киселина која има апсорпциони максимум на 412 nm. Редуковани глутатион је коришћен као стандард, а концентрација сулфхидрилних група је изражавана у $\mu\text{mol/L}$ плазме.¹⁹⁵

4.2.7. Ендотелин-1

Одређивање ендотелина 1 вршено је ELISA методом, комерцијалним тестом фирме R&D Systems, R&D Company, Minneapolis, USA. Метода је заснована на тзв. сендвич имуноесеју где по додавању узорка и након инкубације долази до специфичног везивања антигена за антитело, предходно везаног за унутрашњост реакционе чашице, те након следеће инкубације долази до везивања "обележивача" (стрептавидин пероксидаза) за комплекс антиген-антитело. Након инкубације испирањем се издваја невезан обележивач, а комплекс обележивач-антиген-антитело се затим специфично боји те фотометрира на 450 nm. Интензитет настале боје је пропорционалан концентрацији одређеног испитиваног атохеционог молекула.

4.2.8. Нитрати и нитрити

Венска крв је узимана у вакутајнере обложене калијум EDTA као антикоагулансом за индиректно мерење NO преко одређивања концентрације нитрита/нитрата ($\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$) у плазми.

Узорци плазме су чувани на -20°C . Концентрација нитрата и нитрита је мерена уз помоћ модификоване кадмијум редукционе методе према Navaro-Gonzalvez, базираној на Griss-овој реакцији.¹⁹⁶

4.2.9. Албуминурија

Умерено повишена албуминурија (раније: микроалбуминурија) се дефинише као уринарни албумин креатинин однос (UACR) у рангу 3,4-34 mg/mmol.¹⁴⁸ UACR је мерен трећег дана од пријема у болницу из узорка првог јутарњег урина. Коришћење првог јутарњег узорка урина се препоручује јер је у то време утицај уноса хране и воде, као и физичке активности на албуминурију минимално. Албумин се у урину одређује фотометријским колор тестом са пирогалол црвеним на апарату Olympus analyzer AU 400 (Olympus, Tokyo, Japan).

4.2.10. D-димер

D-димер Latex Reagens је суспензија полистиренских латекс честица једнаке величине, обложених моноклоналним антителима која су високо специфична за D-димер домен који је део растворљивих фибринских молекула. Када се плазма која садржи D-димер помеша са латекс реагенсом и реакционим пуфером (фосфатни пуфер са говеђим албуминима) укљученим у D-димер кит, долази до аглутинације обложених честица латекса. Степен аглутинације је директно пропорционалан концентрацији D-димера у узорку и одређује се мерењем опадања пропуштене светлости на 405 nm које изазивају агрегати (турбидиметријски имуноесеј).¹⁹⁷ Метода се изводи на апарату ACL ELITE (Instrumentation Laboratory, Bedford, USA). D-димер резултати се изражавају у ng/mL.

4.2.11. Протеин С

Протеин С кит је базиран на синтетичком хромогеном супстрату. Ниво протеина С у плазми се мери аутоматски на IL Coagulation системима у 2 фазе:

1. Фаза: инкубација плазме са протеин С активатором
2. Фаза: квантификација активисаног протеина С уз помоћ хромогеног синтетичког супстрата.

Паранитроанилин који се ослобађа у овој реакцији и чија се кинетика прати на 405 nm директно је пропорционална нивоу протеина С у испитиваном узорку. Референтни опсег: 70-140%. Састав протеин С активатора: 2x2,5 mL лиофилизоване фрак-

ције из отрова Agkistrodon c. contortrix, пуфер, говеђи серум албумин и конзерванс. Састав хромогеног супстрата: 2x2,5 mL лиофилизованог хромогеног супстрата S-2366 pigoGlu-Pro-Arg-pNA и HCl, синтетички тромбин инхибитор I-2581 и пуњач. Метода се изводи на апарату ACL ELITE (Instrumentation Laboratory, Bedford, USA) према упутству произвођача.

4.2.12. фон Вилебрандов фактор

Фон Вилебранд је кит латекс честица припремљених за имунотурбидиметријски есеј за квантификацију фон Вилебрандовога фактора у плазми. Када се плазма која садржи фон Вилебрандов фактор помеша са Латекс Реагенсом и Реакционим Пуфером који је укључен у кит, долази до аглутинације латексом обложених честица. Степен аглутинације је директно пропорционалан концентрацији фон Вилебрандовога антигена у узорку и одређује се мерењем смањења пропуштеног светла узрокованог агрегатима. Састав латекс реагенса: 2x3 mL суспензије полистиренских латекс честица обложених зечјим поликлоналним антителима против vWF који садржи говеђи серум албумин, стабилизатори и конзерванси. Састав реакционог пуфера: 2x4 mL HEPES пуфера који садржи говеђи серумски албумин, стабилизатори и конзерванси. Резултати су изражени у % нормалног. Метода се изводи на апарату ACL ELITE (Instrumentation Laboratory, Bedford, USA) према упутству произвођача.

Интрахоспитална прогноза у експерименталној групи је одређивана на основу присуства/одсуства компликација укључујући:

1. Фатални исход;
2. Теже нефаталне интрахоспиталне компликације као што су:
 - Постинфарктна ангина пекторис: рекурентна ангина при мировању са новом депресијом ST сегмента ($\geq 0.1\text{mV}$ тј. 1mm) или инверзијом Т таласа у најмање 2 суседна одвода;
 - Проширење инфарцираног подручја: елевација ST сегмента ($>0,1\text{ mV}$, тј. 1 mm) у најмање 2 нова суседна одвода са порастом кардиоспецифичних ензима;
 - Механичке компликације: руптура слободног зида миокарда, руптура интервентрикуларног септума или руптура папиларног мишића дијагно-

стикована; ехокардиографски или доказана током хируршке интервенције или пост-мортем;

- Поремећаји у спровођењу надражаја: атриовентрикуларни (AV) блок другог степена тип Mobitz 2 или комплетни AV блок или новонастали комплетни блок гране;
- Вентрикуларне аритмије: нон-сустаинед вентрикуларна тахикардија (3 или више узастопних вентрикуларних екстрасистола при SF>100/мин, у трајању <30s), sustained вентрикуларна тахикардија (3 или више узастопних вентрикуларних екстрасистола при SF>100/мин, у трајању >30s или удружена са осећајем мучнине, синкопом или болом у грудима) или вентрикуларна фибрилација;
- Едем плућа: влажни касноинспиријумски пукоти над више од половине површине плућних поља (класа III по Килип-у);
- Остале компликације од значаја.

Испитивање у хоспиталним условима је обухватало и ЕКГ мониторинг (континуирани у току првих 24h-48h), праћење виталних параметара и примењену терапију.

Унутар 24 сата од пријема код свих болесника је рађен ехокардиографски преглед на апарату марке Vivid 4, GE (Fairfield, Conn., USA).

Болесници су били амбулантно праћени 24 месеца након отпуста из болнице и то на редовно заказаним контролним специјалистичким прегледима на 6 месеци, када је рађен комплетни физикални преглед, ЕКГ и мерење крвног притиска уз додатне методе и специјалистичке прегледе, уколико је то било неопходно.

Праћен је укупни и морталитет од кардиоваскуларних болести, као и број рехоспитализација због кардиоваскуларних болести.

4.3. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

Након завршеног истраживања формирана је јединствена база података у софтверском пакету SPSS (верзија 17,0) са којом је вршена даља статистичка обрада и анализа добијених резултата. Континуиране варијабле су изражаване као средња вредност и стандардна девијација, односно као медијана са интеркванталним рангом, (тј. од 25-ог до 75-ог перцентиља), док су категоријске варијабле изражаване као апсолутни бројеви

и проценти. Нормалност дистрибуције континуираних варијабли је тестиран Kolmogorov-Smirnovim тестом. Коришћени су следећи статистички поступци:

- Дескриптивна статистика - мере централне тенденције (средња вредност, медијана, мод) и мере варијабилитета (стандардна девијација, варијанса, интерквartilни распон);
- Аналитичка статистика - 1.) Методе за анализу значајности добијених разлика (параметријски и/или непараметријски): Студентов т тест, т тест за упарене и независне узорке, тестови за тестирање интергрупних варијанси (ANOVA), Mann-Whitney, Wilcoxon, Kruskal Wallisov тест. Ови тестови примењивани су тамо где је то било адекватно узимајући у обзир дистрибуцију вредности добијених варијабли, величину узорка, и жељену анализу), и 2.) Методе за анализу повезаности тестираних варијабли (Pearsonov коефицијент линеарне корелације, Spearmanov коефицијент корелације рангова, линеарна корелациона и регресиона анализа).
- Појединачна и милтипла линеарна регресиона анализа су коришћене да би се проценила веза између биомаркера и клиничких базичних варијабли. Варијабле које нису имале нормалну расподелу су трансформисане у њихов природни логаритам за све регресионе анализе.
- За анализу преживљавања конструисане су Kaplan-Meier криве да би илустровале време до циљних догађаја током праћења болесника у зависности од нивоа испитиваног биомаркера. За поређење преживљавања између група употребљен је Log-rank тест. Униваријантни и мултиваријантни модели Cox-ове пропорционалне анализе ризика су примењени како би се проценио однос између базалних варијабли и укупног морталитета и рехоспитализација због КВБ.
- Како би се проценила способност концентрација биомаркера да предвиђају нежељени исход и да би се поредила њихова прогностичка вредност, конструисане су receiver-operator characteristic (ROC) кривуље и пропрачуната је површина испод кривуље (AUC-“ area under the curve”, тј. с-статистика).

Вредност p мања од 0,5 је сматрана статистички значајном.

5. РЕЗУЛТАТИ

5.1. ПОЛНА И СТАРОСНА СТРУКТУРА ИСПИТИВАНИХ ГРУПА

На табели 1 приказана је полна и старосна структура клиничке и контролне групе, где нису постојале статистички значајне разлике ($\chi^2 = 0,137$, $p=0,5$; ANOVA, $F=2,114$; $p=0,148$).

Табела 1. Старосна и полна структура у клиничкој и контролној групи

	Старост (године)	Мушкарци (N)%
Клиничка група, N=108	62,44±10,42	(80) 74,1%
Контролна група, N=30	59,37±9,46	(20) 66,7%

У табели су дате средње вредности ± SD.

5.2. ФАКТОРИ РИЗИКА ЗА КВБ У КЛИНИЧКОЈ И КОНТРОЛНОЈ ГРУПИ

5.2.1. Пушење дувана

Није било разлике у броју активних пушача између испитиваних група, али је проценат бивших пушача (апстинирали најмање 6 месеци) био већи у клиничкој групи, у поређењу са контролном, док је број непушача у клиничкој групи био значајно мањи у односу на контролну. Дужина пушачког стажа код активних и бивших пушача у клиничкој и контролној групи се није разликовала (Табела 2).

Табела 2. Пушачке навике у контролној и клиничкој групи

Пушачке навике	Клиничка група		Контролна група	
	N (%)	Дужина пушења (године)	N (%)	Дужина пушења (године)
Непушачи	29 (26,8)**	/	20 (66,6)	/
Пушачи	51 (47,2)	32,45±10,104	9 (30)	21,13±8,22
Бивши пушачи	28 (25,9)*	28,12±12,167	1 (3,33)	34,0
Укупно	108 (100,0)	/	30 (100,0)	/

* - $p < 0,05$ vs. Контролна група; ** - $p < 0,001$ vs. Контролна група

5.2.2. Употреба алкохола

Постоји статистички значајна разлика између броја испитаника који повремено конзумирају алкохол или га не конзумирају у поређењу са бројем оних који свакодневно користе 1 до 2 чашице жестоког алкохолног пића, између клиничке и контролне групе (Табела 3). У обе групе није било лечених алкохоличара.

Табела 3. Конзумирање алкохола у контролној и клиничкој групи

	Група	
	Клиничка	Контролна
	N (%)	N (%)
Повремено користе алкохол или га не конзумирају	86 (79,6)*	30 (100)
Редовно конзумирају алкохол (1 до 2 чашице жестоког алкохолног пића дневно)	20 (18,5)*	0 (0)
Престали да конзумирају алкохол	2 (1,9)	0 (0)
Укупно	108 (100,0)	30 (100,0)

* - $p < 0,05$ vs. Контролна група

5.2.3. Поремећај метаболизма липида

Значајно већи број пацијената имао је промене у липидном статусу у клиничкој групи у поређењу са контролном ($\chi^2=7,62$; $p=0,005$) (Табела 4). Код болесника који су имали поремећаје у липидима у клиничкој групи, просечно трајање истог је било $3,7\pm 4,31$ године. Од болесника који су имали хиперлипидемију, 22 (48,88%) је било на терапији дијетом и статином, најмање 4 недеље пре пријема у болницу.

Табела 4. Хиперлипидемија код болесника у клиничкој и контролној групи

	Група	
	Клиничка	Контролна
	N (%)	N (%)
Нема хиперлипидемију	25 (83,33)	51 (47,2)*
Болује од хиперлипидемије	0 (0)	45 (41,7)*
Без података	5 (16,66)	12 (11,1)
Укупно	30 (100,0)	108 (100,0)

*- $p < 0,001$ vs. Контролна група

5.2.4. Индекс телесне масе (ИТМ)

Није било значајне разлике у ИТМ односно ВМІ између клиничке и контролне групе (ANOVA, $F=2,834$; $p=0,095$) (Табела 5).

Табела 5. Индекс телесне масе код испитаника

Групе	N	ВМІ (kg/m ²)	95% интервал поверења за средњу вредност		Мин.	Макс.
			Доња граница	Горња граница		
			Клиничка	108		
Контролна	30	26,25±3,35	24,99	27,50	19,20	32,10
Укупно	138	27,24±3,69	26,62	27,87	18,37	37,40

У табели су дате средње вредности ± SD.

Највећи број пацијената је био прекомерно ухрањен (Табела 6).

Табела 6. Степен ухрањености према ВМІ у клиничкој групи

	N	%
Слабија ухрањеност (<18,5)	1	0,9
Нормална ухрањеност (18,5-24,9)	21	19,4
Прекомерна ухрањеност (25-29,9)	58	53,7
Гојазност I степена (30-34,9)	25	23,1
Гојазност II степена (35-39,9)	3	2,8
Укупно	108	100,0

5.2.5. Поремећај метаболизма глукозе

Код 11 (10,18%) болесника у току хоспитализације због АИМ је откривен поремећај метаболизма глукозе, код 8 (7,4%) пацијената је постављена дијагноза *de novo* дијабетес мелитуса, док је код 3 (2,7%) болесника дијагностикован поремећај гликемије наше (*енг.* impaired fasting glucose).

Од болесника са поремећеним метаболизмом глукозе, њих 40% је умрло током 2 године праћења, што је значајно више у поређењу са онима без ове болести метаболизма (9,2%; $\chi^2=8,063$; $p=0,018$).

5.2.6. Породично оптерећење за кардиоваскуларне болести

Није било значајне разлике у броју болесника са и без позитивне породичне анамнезе за кардиоваскуларна обољења код испитаника клиничке и контролне групе (Табела 7).

Табела 7. Породично оптерећење за КВБ код болесника у клиничкој и контролној групи

Позитивна породична анамнеза	Група	
	Клиничка	Контролна
	N (%)	N (%)
Нема	14 (46,66)	78 (72,2)
Има	16 (53,33)	108 (100,0)
Укупно	30 (100,0)	30 (100,0)

5.3. КАРДИОВАСКУЛАРНА ОБОЉЕЊА КОД ИСПИТАНИКА КЛИНИЧКЕ ГРУПЕ

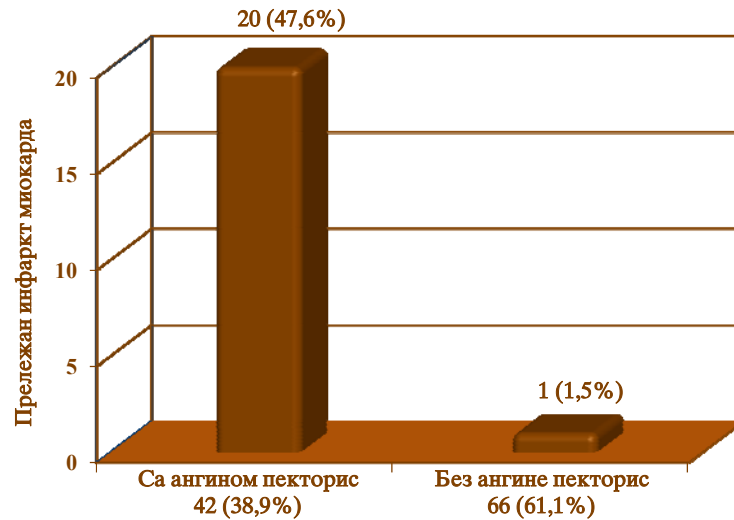
5.3.1. Артеријска хипертензија

Примарну артеријску хипертензију имало је 82 (75,9%) испитаника који су доживели ИМ. Дужина трајања артеријске хипертензије износила је $8,73 \pm 7,054$ година (мин 0,4 год/мах 32 године).

Педесетпет (52,9%) болесника је у терапији артеријске хипертензије (најмање 4 недеље пре пријема у болницу) имало АСЕ инхибитор или ARB.

5.3.2. Ангина пекторис, прележан инфаркт миокарда, АКБП и ПКИ

Ангину пекторис у анамнези је имало 42 (38,9%) болесника. Међу болесницима са ангином пекторис њих 20 (47,6%) је раније преживело ИМ док је међу онима који нису боловали од ангине пекторис само 1 (1,5%) болесник имао прележан инфаркт у историји болести ($\chi^2=34,8$; $p<0,001$) (Графикон 1).



Графикон 1. Прележан ИМ код болесника са и без ангине пекторис у анамнези.

Просечна дужина трајања ангине пекторис је била $6,16 \pm 6,58$ година (мин 1 месец/мах 27 год). Инфаркт миокарда у анамнези имао је 21 (19,4%) болесник, а међу њима је код 3 (2,7%) уграђен аорто-коронарни бајпас (АКБП), а осморо (7,4%) је било подвргнуто ПКИ са уградњом стента. Један болесник са ангином пекторис, а без прележаног инфаркта миокарда, је био на перкутаној коронарној интервенцији и уграђен му је стент.

5.3.3. Цереброваскуларне болести

Цереброваскуларни инцидент је преживело 6 болесника (5,5%). Међу њима, 2 је имало ангину пекторис, а 1 је, такође, преживео и инфаркт миокарда. Код 3 болесника са прележаним CVI, он је био прва манифестација атеросклеротске болести.

5.3.4. Срчана аритмије

Статистички значајно већи број болесника је имао синусни ритам на ЕКГ-у приликом пријема у болницу ($\chi^2=37,46$; $p<0,001$). Перманентну атријалну фибрилацију имало је 10 (9,25%) болесника.

5.4. КЛИНИЧКО-ФУНКЦИОНАЛНИ И ЛАБОРАТОРИЈСКИ ПАРАМЕТРИ КОД КЛИНИЧКЕ И КОНТРОЛНЕ ГРУПЕ

У табели 8 су представљене основне клиничко-функционални и лабораторијске карактеристике испитаника из клиничке и контролне групе.

Табела 8. Клиничке и биохемијске карактеристике испитиваних група

Клиничко-функционални и биохемијски параметри	Клиничка група	Контролна група
Срчана фреквенција (bpm)	78,10±23,82	72,25±9,57
Систолни крвни притисак (mmHg)	133,17±26,91	128,91±8,54
Дијастолни крвни притисак (mmHg)	82,21±15,38	80,77±5,47
LVEF (%)	52,59±10,54	62,20±6,84***
Еритроцити (x 10 ¹² /L)	4,69±0,47	4,63±0,38
Тромбоцити (x 10 ⁹ /L)	224,76±61,12	248±60,52
Хемоглобин (g/L)	139,41±15,10	132,55±15,34
Уреа (mmol/L)	6,34±2,35	5,14±1,53**
Креатинин (μmol/L)	99,77±30,18	79,69±14,14**
Глукоза (mmol/L)	7,69±3,21	5,14±0,88***
Триглицериди (mmol/L)	1,73±0,87	1,22±0,53*
Холестерол (mmol/L)	5,83±1,56	5,44±1,48
LDL (mmol/L)	3,92±1,23	3,55±1,14
HDL (mmol/L)	1,21±0,25	1,13±0,27
Na ⁺ (mmol/L)	137,3±2,55	139±1,63**
K ⁺ (mmol/L)	4,25±0,49	4,30±0,34

* - p < 0,05 vs. Контролна група; ** - p < 0,01 vs. Контролна група; *** - p < 0,001 vs. Контролна група. У табели су дате средње вредности ± SD. LVEF-ејекциона фракција леве коморе, LDL-липопротеини ниске густине, HDL-липопротеини високе густине.

Испитаници клиничке, у односу на контролну групу, су имали значајно веће концентрације лабораторијских параметара као што су гликемија, уреа, креатинин и триглицериди.

У табели 9 представљени су биомаркери инфламације, некрозе, ендотелне дисфункције, хемостазе и BNP код испитаника из обе групе. Маркери запаљења, D-димер, vWF, протеин С, LDH и трансминазе су имали значајно вишу концентрацију код испитаника из клиничке групе, у односу на контролну групу.

Табела 9. Испитивани биомаркери инфламације, некрозе, хемостазе, ендотелне дисфункције и BNP

Биохемијски параметри	Клиничка група	Контролна група
Леукоцити ($10^9/L$)	11,25±3,8	6,49±1,13***
Фибриноген (g/L)	6,19±1,73	3,92±0,70***
hs CRP (mg/L)	6,9 (3,41-30,81)	1,57 (0,91-3,20) ***
hsTnI (ng/mL)	6,93 (2,20-20,49)	/
LDH (U/L)	835,41±413,00	317,08±89,92**
СК-МВ (U/L)	82,73±116,64	14,89±7,44***
AST (U/L)	90,93±113,77	21,43±8,05**
ALT (U/L)	39,34±42,27	20,51±8,98*
D-димер (ng/mL)	235,0 (149,5-589,5)	107,75±68,22**
Протеин С (%)	108,93±24,63	83,25±12,18***
vWF антиген	140,0 (126,5-146,0)	95,75±18,07***
BNP (pg/mL)	300,1 (176,95-560,6)	48,1 (21,05-92,0) ***

* - $p < 0,05$ vs. Контролна група; ** - $p < 0,01$ vs. Контролна група; *** - $p < 0,001$ vs. Контролна група. У табели су дате средње вредности \pm SD/ медијана (IQR). LDH -лактат-дехидрогеназа, СКМВ-кратин киназа МВ изоформа, hsCRP- високо сензитивни С-реактивни протеин, BNP-мождани натриуретски пептид, hsTnI-високо сензитивни тропонин I, AST-аспартат аминотрансаминаза, ALT-аланин аминотрансаминаза, vWF антиген-фон Вилебрандов антиген, IQR-интерквартилна разлика.

5.5. МАРКЕРИ ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА И ЕНДОТЕЛНЕ ДИСФУНКЦИЈЕ У ИСПИТИВАНИМ ГРУПАМА

Испитивани маркери оксидативног стреса и ендотелне дисфункције у контролној и клиничкој групи су приказани у табели 10.

Табела 10. Вредности биомаркера оксидативног стреса и ендотелне дисфункције у клиничкој и контролној групи

Биомаркер	Клиничка група	Контролна група
CAT (Ux104/g Hb)	6,40±2,14	7,25±1,98
SOD (U/g Hb)	1370,07±191,89	1185,23±134,49*
GPx (U/g Hb)	40,66 (36,48-45,36)	51,64±11,98*
SH ($\mu\text{mol/L}$)	134,26 (111,46-158,0)	183,18 (153,67-211,9) *
NOx ($\mu\text{mol/L}$)	131,80 (116,10-161,10)	86,04±16,64*
AOPP ($\mu\text{mol/L}$)	20,01 (14,33-21,23)	18,35±1,73
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	38,13 (27,11-46,33)	15,95 (11,79-19,98) *
ET-1 (pg/mL)	3,11 (2,50-3,84)	3,46 (3,01-3,91)
UACR (mg/mmol)	0,87 (0,45-4,59)	0,72 (0,46-1,38)

* - $p < 0,001$ vs. Контролна група. У табели су дате средње вредности \pm SD/медијана (IQR).

Супероксид-дизмутаза и САТ из клиничке групе; SOD, САТ, GPx, NOx и AOPP из контролне групе су имале нормалну статистичку дистрибуцију, док су остали маркери имали неправилан распоред, те су концентрације маркера представљене као средња вредност \pm SD, али и као медијана са интерквartilним распоном (IQR) од 25. до 75. перцентила.

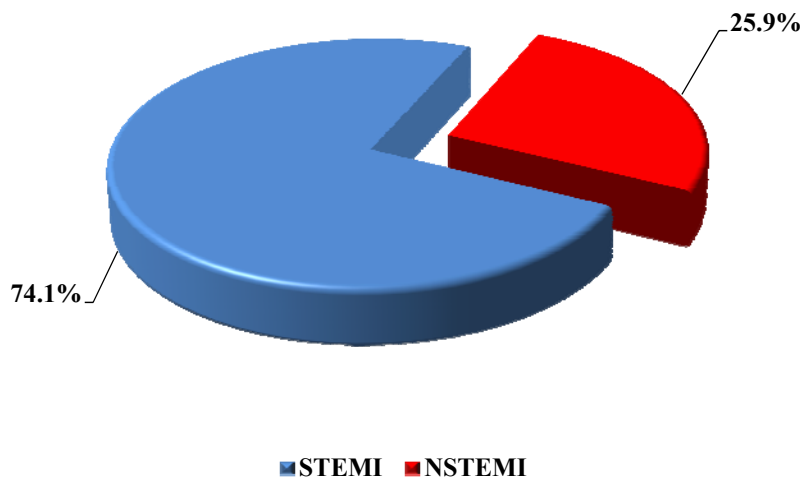
Међу антиоксидативним ензимима, једино је SOD имала значајно већу активност у клиничкој групи ($p < 0,001$), док је GPx имала значајно нижу активност у односу на контролну групу ($p < 0,001$). Нитрати и нитрити и MDA су били значајно виши код болесника са АИМ ($p < 0,001$ за оба маркера). Тиолне групе су имале значајно ниже вредности у клиничкој групи ($p < 0,001$).

Код испитаника из клиничке групе нађена је статистички значајно већа вредност ET-1 код пушача у односу на непушаче [3,38 (2,51-3,93) vs. 2,77 (2,50-3,29) pg/mL, $p = 0,026$], што се разликује од резултата у контролној групи. Разлике у NOx концентрацијама међу испитиваним групама није било.

У клиничкој групи, нађена је позитивна корелација MDA и BMI ($\rho = 0,204$, $p = 0,034$). У обе групе SOD није корелисала са BMI.

5.6. АКУТНИ КОРОНАРНИ ДОГАЂАЈ - ТИП И ТЕРАПИЈА

Међу испитаницима клиничке групе 80 болесника је имало STEMI, док су остали развили NSTEMI форму инфаркта ($\chi^2 = 14,19$; $p = 0,0002$) (Графикон 2).



Графикон 2. Процентуална заступљеност болесника са (N)STEMI.

Највећи број болесника је имао инфаркт инфериорног и антериорног зида, док је инферопостеролатерални и инфериорни инфаркт са десном комором био ређе заступљен као инфарктно подручје (Табела 11).

Табела 11. Инфарктом захваћен зид

	N	(%)
Антериорни	40	37,0
Инфериорни	44	40,7
Инферопостеролатерални	16	14,8
Инфериорни са десном комором	8	7,4
Укупно	108	100,0

Значајно већи број болесника са STEMI је био лечен примарном ПКИ у односу на оне са фибринолитичком терапијом ($\chi^2=79,005$; $p<0,001$) или „спашавајућом“ ПКИ ($\chi^2=82,04$; $p<0,001$) (Табела 12).

Табела 12. Тип реперфузионе терапије у STEMI

	N	%
Примарна ПКИ	65	81,25
Фибринолитичка терапија	8	10
„Rescue“ ПКИ	7	8,75
Укупно	80	100,0

Код највећег броја болесника са STEMI којима је рађена ПКИ (примарна или „rescue“) „culprit“ лезија је била локализована у систему десне коронарне артерије (Табела 13).

Код 5 (4,6%) болесника рађена је ангиопластика, док је њих 67 (62,03%) добило 1 или више стентова током примарне или „rescue“ ПКИ. Код 2 болесника је било немогуће лоцирати „culprit“ лезију и то због спонтане реперфузије у првом случају на артеријама без сигнификантне стенозе, док је код другог болесника била у питању тросудовна коронарна болест.

Код укупно 6 (5,5%) болесника због болести главног стабла или тросудовне коронарне болести предложена је хитна хируршка реваскуларизација миокарда.

Табела 13. Артерија одговорна за инфаркт миокарда (IRA) у STEMI код примарне или „rescue“ ПКИ

IRA (infarct related artery - culprit lezija)	N	%
LAD - предња десцендента артерија	24	41,6
LCX - циркумфлексна артерија	8	11,1
RCA - десна коронарна артерија	38	52,7
Неидентификована	2	2,7
Укупно	72	100

Код 101 болесника је урађена коронарографија током хоспитализације. Највећи број болесника имао је обољење 1 крвног суда са лумен стенозом преко 75%, док је најмањи број имао болест главног стабла и то уз сигнификантну стенозу још 2 (2 болесника) или 3 (2 болесника) коронарна крвна суда (Табела 14).

Табела 14. Број оболелих коронарних крвних судова

Бр. крвних судова са значајном стенозом	N	(%)
0	6	5,55
1	51	47,22
2	29	26,85
3	11	10,18
LM	4	3,7

LM- left main

5.7. ЕЈЕКЦИОНА ФРАКЦИЈА ЛЕВЕ КОМОРЕ

Код 24 (22%) болесника са сниженом ејекционом фракцијом леве коморе (45%) мерене унутар 24h од пријема, нађене су значајно повишене вредности NOx, MDA, BNP, hsTnI и снижен ниво тиолних група у односу на остале болеснике.

AOPP је био гранично повишен у истој групи пацијената (Табела 15).

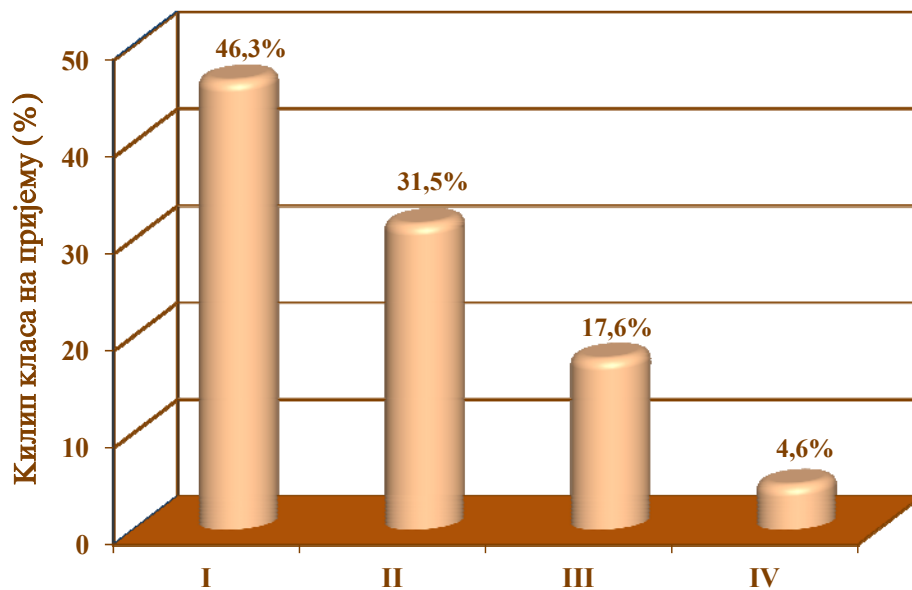
Табела 15. Испитивани биомаркери код болесника са LVEF испод одн. изнад 45%

Биомаркер	LVEF < 45%	LVEF ≥ 45%
CAT	6,88±2,03	6,39±2,15
SOD	1383,43±138,06	1371,04±208,27
GPx	40,34 (36,48-44,48)	41,26 (36,57-46,61)
SH	134,63 (110,80-159,33)	140,73 (126,17-157,31)*
AOPP	23,06 (14,97-31,93)	23,56 (16,18-26,68)
MDA	38,26 (25,83-51,98)	39,67 (38,25-41,23)*
ET-1	3,45 (3,01-4,45)	2,97 (2,31-3,58)*
UACR	1,21 (0,36-5,86)	0,79 (0,46-5,02)
hsCRP	10,31 (5,01-36,35)	8,73 (3,77-31,29)
Фибриноген	6,09±1,76	6,19±1,71
Le	10,91±3,97	11,26±3,91
BNP	688,20 (455,30-802,50)	266,85 (91,80-481,70)*
TnI	20,98 (10,05-22,06)	4,75 (1,40-17,76)*
D-димер	287,0 (218,0-593,0)	235,1 (142,0-463,5)
vWF	143,0 (138,9-149,0)	141,0 (127,0-147,5)
Протеин С	107,67±67	110,72±29,44

* - $p < 0,05$ vs. LVEF < 45%

5.8. КИЛИП КЛАСА НА ПРИЈЕМУ

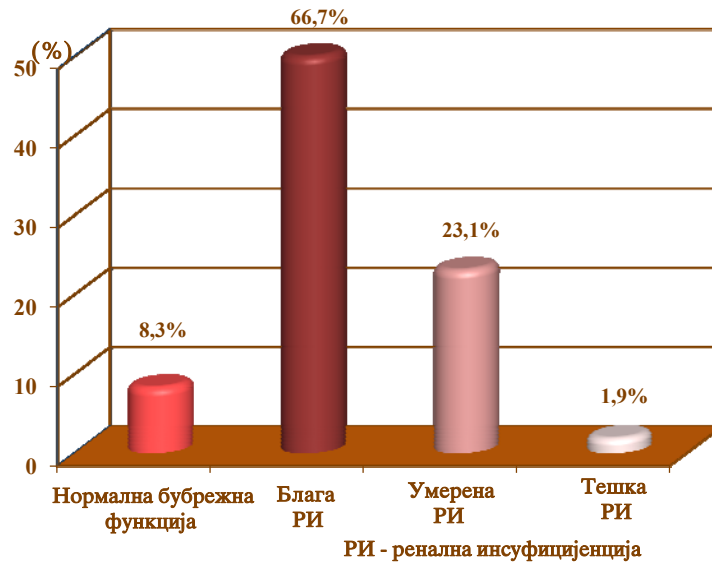
Највећи број болесника (50) није имао знаке срчане слабости, док је у кардиогеном шоку (Килип класа IV) примљено 5 болесника ($\chi^2=47,3$; $p<0,001$) (Графикон 3).



Графикон 3. Килип класа на пријему.

5.9. БУБРЕЖНА ФУНКЦИЈА НА ПРИЈЕМУ У БОЛНИЦУ

Највећи број болесника са АИМ имао је реналну дисфункцију благог степена (Графикон 4) ($\chi^2=9,08$; $p=0,002$, у односу на нормалну реналну функцију; $\chi^2=12,57$; $p=0,004$, у односу на умерену бубрежну слабост). Вредности креатинина, као ни GFR нису корелисали са концентрацијом АОРР.



Графикон 4. Степен бубрежне (дис)функције на пријему у болницу.

5.10. ТИМІ ПРОТОК НА КРАЈУ РЕПЕРФУЗИОНЕ ТЕРАПИЈЕ

Wilcoxon-овим тестом ранга установљено је да је било значајне промене у вредностима ТИМІ (Thrombolysis In Myocardial Infarction) протока пре и након завршетка ПКИ (примарне/ „rescue“ код STEMІ или болесника са NSTEMІ - 9 болесника који су због високог ризика унутар 24h од пријема у болницу подвргнути ургентној ПКИ) (Табела 16).

Табела 16. ТИМІ проток пре и након реперфузионе терапије

ТИМІ проток	Пре реперфузионе терапије N (%)	Након реперфузионе терапије N (%)
0 - без протока	52 (64,2)	5 (6,2)
1 - контраст пролази иза места опструкције	8 (9,9)	2 (2,5)
2 - парцијална перфузија	11 (13,6)	2 (2,5)
3 - комплетна перфузија	10 (12,3)	72 (88,9)

$p < 0,001$ 3 vs. 0+1+2

Каталаза и D-димер значајно разликовали код болесника код којих јесте одн. није добијен оптимални ТИМІ проток након реперфузије (Табела 17).

Табела 17. Биомаркери од значаја код болесника са оптималним и субоптималним ТИМІ протоком на крају реперфузионе терапије

Биомаркер	ТИМІ 3 проток на крају реперфузије	ТИМІ<3 на крају реперфузије
CAT(Ux104/g Hb)	6,41±2,29	8,52±1,83**
SOD (U/g Hb)	1362,93±188,67	1354,69±250,58
GPx (U/g Hb)	39,11 (37,48-41,67)	39,78 (37,63-42,98)
SH (μmol/L)	135,06 (121,32-159,33)	161,35 (120,91-196,12)
AOPP (μmol/L)	23,27 (16,18-30,87)	14,51 (12,84-16,92)
MDA (μmol/L)	38,26 (27,78-50,68)	32,7 (22,044-39,64)
ET-1 (pg/mL)	3,15 (2,77-3,81)	3,30 (2,59-8,97)
UACR (mg/mmol)	0,79 (0,57-1,37)	3,21 (0,76-17,35)
hsTnI (ng/mL)	15,91 (7,73-41,27)	4,52 (3,95-12,35)
BNP (pg/mL)	390,1 (203,5-481,7)	488,3 (254,7-732,5)
hsCRP (mg/L)	7,93 (4,76-12,15)	66,08 (29,53-104,97)
D-димер (ng/mL)	167 (113-204)	272,5 (198,0-1760,5)*
vWAg	141,5 (128,0-147,5)	148,0 (140,0-170,0)
Протеин C (%)	106,16±23,57	106,33±38,15

* - p < 0,05 vs. ТИМІ 3 проток на крају реперфузије; ** - p < 0,01 vs. ТИМІ 3 проток на крају реперфузије; у табели су дате средње вредности ± SD/медијана (IQR)

Није било значајне разлике у преваленци интрахоспиталних компликација код болесника са постигнутим оптималним ТИМІ и субоптималним протоком кроз коронарне артерије (Табела 18).

Табела 18. Оптимална одн. субоптимална реперфузија и интрахоспиталне компликације

Интрахоспиталне компликације	ДА (ТИМІ 3)	НЕ (ТИМІ 0+1+2)	Укупно
Укупно	57	6	63
НЕ % болесника без интрахосп. компликација	90,5%	9,5%	100,0%
Укупно	15	3	18
ДА % болесника са интрахосп. компликацијама	83,3%	16,7%	100,0%

Није било значајне разлике у преваленци двогодишњег морталитета код болесника са постигнутим оптималним ТИМІ и субоптималним протоком кроз коронарне артерије (Табела 19).

Табела 19. Оптимална одн. субоптимална реперфузија и двогодишњи морталитет

Двогодишњи морталитет		ДА (TIMI 3)	НЕ (TIMI 0+1+2)	Укупно
НЕ	Укупно	67	8	75
	% живих болесника	89,3%	10,7%	100,0%
ДА	Укупно	5	1	6
	% умрлих болесника	88,9%	11,1%	100,0%

5.11. ИСПИТИВАНИ БИОМАРКЕРИ КОД БОЛЕСНИКА СА STEMI/NSTEMI И РАЗЛИЧИТИМ ТИПОМ РЕПЕРФУЗИОНЕ ТЕРАПИЈЕ

Међу испитиваним маркерима једино је hsTnI био значајно виши код болесника са STEMI од оних код којих се акутни коронарни синдром презентовао као NSTEMI (Табела 20).

Табела 20. Биомаркери код болесника са различитим типом акутног коронарног догађаја

Биомаркер	STEMI	NSTEMI
CAT (Ux104/g Hb)	6,51±2,29	6,03±1,62
SOD (U/g Hb)	1360,03±189,03	1398,72±198,84
GPx (U/g Hb)	39,44 (37,48-42,82)	43,32 (38,97-46,14)
SH (μmol/L)	133,45 (109,99-169,03)	137,89 (106,76-157,71)
NOx (μmol/L)	135,85 (114,30-167,40)	157,05 (128,60-181,80)
AOPP (μmol/L)	21,22 (13,27-30,87)	22,14 (15,75-28,03)
MDA (μmol/L)	34,47 (22,94-41,23)	40,09 (35,96-42,94)
ET-1 (pg/mL)	3,14 (2,41-3,91)	2,76 (2,33-3,47)
UACR (mg/mmol)	0,93 (0,57-1,41)	0,55 (0,25-0,86)
hsTnI (ng/mL)	17,01 (7,36-45,14)	1,52 (0,17-4,64)*
hsCRP (mg/L)	8,60 (4,79-29,81)	2,95 (1,92-45,35)
BNP (pg/mL)	395,35 (235,0-688,2)	153,65 (78,8-455,30)
D-димер (ng/mL)	189 (119-226)	161,5 (80,0-310,0)
vWAg	140,55±20,75	133,21±23,12
Протеин С (%)	133,21±25,69	113,14±21,622

* - $p < 0,001$; у табели су дате средње вредности ± SD, медијана (IQR)

Код болесника који су били подвргнути „rescue“ ПКИ, вредност hsTnI, hsCRP и D-димера је била значајно већа него у осталим групама. Вредности D-димера и BNP су биле више код болесника који су добили фибринолитичку терапију у односу на оне лечене примарном ПКИ (Табела 21).

Табела 21. Вредности испитиваних маркера у односу на тип реперфузионе терапије

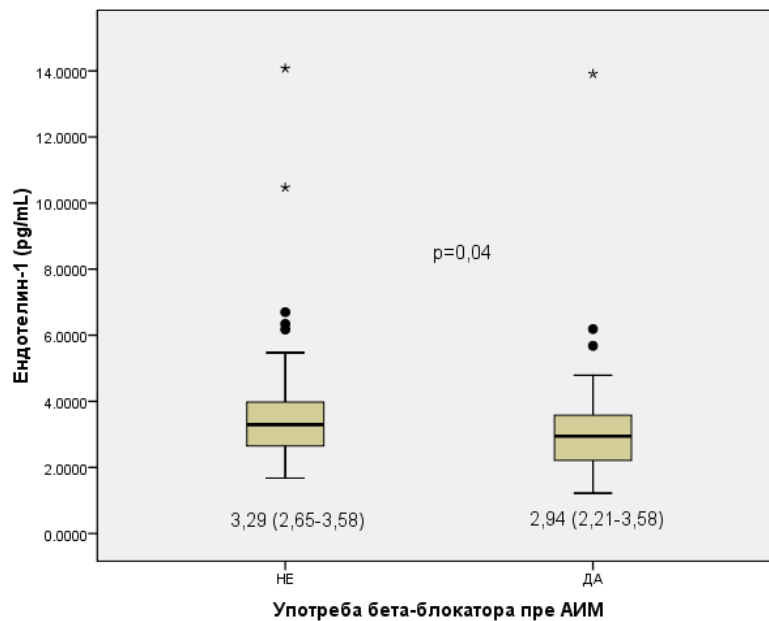
Биомаркер	I група Реперфузија примарном ПКИ	II група Реперфузија фибринолитиком	III група Реперфузија rescue ПКИ
TnI (ng/mL)	11,87 (4,52-21,52)	65,39(28,62-102,17)	57,53(17,6-97,47) ^{a,d}
hsCRP (mg/L)	6,22 (4,19-12,82)	21,8 (5,91-37,7)	35,8 (9,72-61,88) ^b
BNP (pg/mL)	322,25 (217,45- 445,35)	719,1 (635,7-802,5)	594,3(235,0-953,6) ^a
D-димер (ng/mL)	235,0 (158,0-433,0)	775,0 (494,0-995,0)	377,50 (260,0- 407,0) ^{b,c}

a - $p < 0,05$ vs. I; b - $p < 0,01$ vs. I; c - $p < 0,05$ vs. II; d - $p < 0,01$ vs. II

5.12. УТИЦАЈ ПРЕТХОДНО КОРИШЋЕНЕ ТЕРАПИЈЕ (АСЕ ИНХИБИТОРА /ARB, БЕТА-БЛОКАТОРА И СТАТИНА) НА ВРЕДНОСТ ИСПИТИВАНИХ ПАРАМЕТАРА

Пре АИМ, 59 (54,6%) болесника користило је бета-блокатор, док је њих 55 (50,9%) имало АСЕ инхибитор или ARB у терапији.

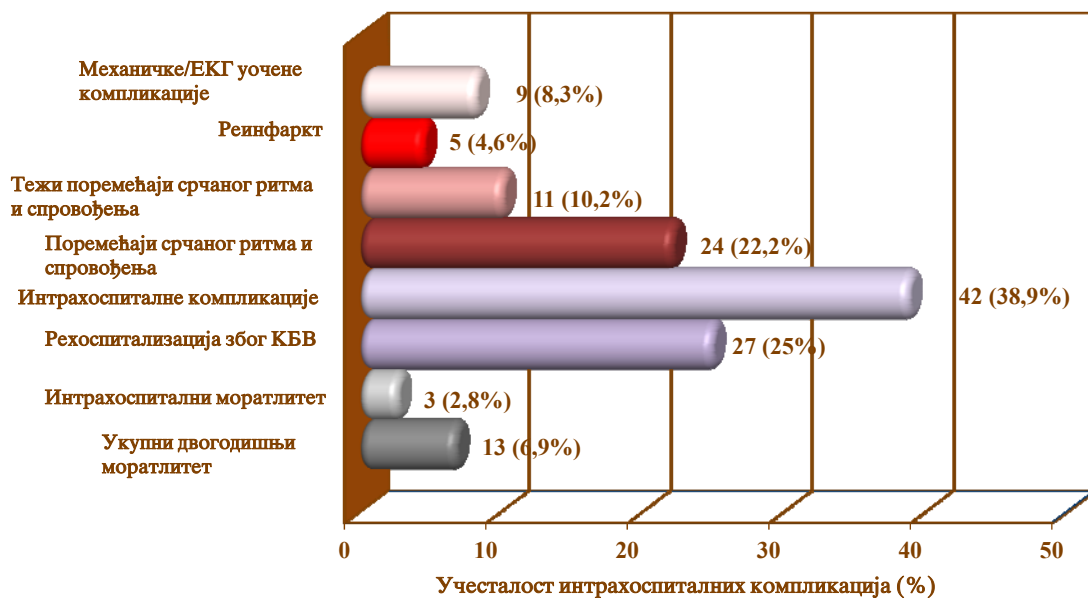
Концентрације ЕТ-1 су се разликовале само код болесника са/без бета блокатора у терапији (Графикон 5), док АСЕ инхибитори и ARB нису испољили утицај на испитиване биомаркере.



Графикон 5. Концентрација ЕТ-1 код болесника са и без бета блокатора у терапији КВБ.

5.13. ИНТРАХОСПИТАЛНЕ КОМПЛИКАЦИЈЕ

Лакши или тежи облик интрахоспиталних компликација је био присутан код 41 (48%) болесника. Најчешће компликације су биле срчане аритмије и поремећаји спровођења импулса које су нађене код 24 (22%) болесника. Теже аритмије и спроводне сметње су се јављале у виду вентрикуларне фибрилације, вентрикуларне тахикардије (пре реперфузионе терапије), и спроводних сметњи које су захтевале уградњу сталног пејсмејкера. У ову групу поремећаја спадали су и они „бенигни“ типа пароксизама брзе атријалне фибрилације и других форми суправентрикуларних тахикардија, идиовентрикуларни ритам и транзиторни AV блок II и III степена који није захтевао имплантацију сталног пејсмејкера. Механичке компликације - руптура митралног кусписа и припадајуће хорде (1 болесник), ехокардиографски уочене компликације: анеуризма леве коморе у раном току АИМ (6 болесника) и тромб у левој комори (2 болесника) су нађени код 9 (8,3%) болесника, док је 5 (4,6%) имало реинфаркт и то као последицу ин-стент тромбозе (Графикон 6).



Графикон 6. Учесталост интрахоспиталних компликација у клиничкој групи.

Код болесника са интрахоспиталним компликацијама, вредности продуката оксидације: АОРР и МДА су биле значајно ниже у односу на болеснике без истих, док је тропонин био сигнификантно повишен (Табела 22).

Табела 22. Однос присутности интрахоспиталних компликација и промене биомаркера

Биомаркер	Без интрахоспиталних компликација	Са интрахоспиталним компликацијама
CAT (Ux104/g Hb)	6,67±2,25	5,98±1,91
SOD (U/g Hb)	1369±194,69	1370,38±189,73
GPx (U/g Hb)	40,28(36,07-45,36)	44,79(42,93-45,47)
SH (μmol/L)	135,46(112,42-159,33)	93,01(92,20-109,185)
NOx (μmol/L)	131,45(115,50-161,10)	172,40(155,85-178,65)
AOPP (μmol/L)	22,53 (15,75-30,44)	15,68 (12,77-26,68) **
MDA (μmol/L)	40,60 (29,31-50,76)	36,53 (23,97-42,94) *
ET-1 (pg/mL)	3,11(2,50-3,81)	4,08(3,28-8,99)
UACR (mg/mmol)	0,86(0,45-4,11)	53,17(26,86-67,02)
TnI (ng/mL)	7,94 (3,02-22,16)	15,57 (4,7-45,32) *
hsCRP (mg/L)	9,28 (4,46-33,56)	28,73 (9,78-47,68)
BNP (pg/mL)	334,0 (170,0-698,6)	500,0 (450,0-1400,0)
D-димер (ng/mL)	248,0(156,0-496,0)	586,0(522,0-932,0)
vWAg	141,50 (128,0-148,0)	149,0 (144,5-149,0)
Протеин С (%)	114,09±23,18	101,84±25,16

* - $p < 0,05$ vs. Болесници без интрахоспиталних компликација

** - $p < 0,01$ vs. Болесници без интрахоспиталних компликација

Није било статистички значајне разлике у броју болесника са и без микро одн. маркоалбуминурије код пацијената са и без интрахоспиталних компликација.

Код механичких и ехокардиографски уочених компликација тропонин I је био значајно повишен, док је MDA био значајно нижи у поређењу са болесницима без ових компликација. Фон Вилебрандов антиген је био значајно нижи код болесника који су доживели реинфаркт услед ин-стент тромбозе (Табела 23).

Табела 23. Биомаркери са статистички значајном разликом код испитаника са различитим интрахоспиталним компликацијама

Интрахоспитална компликација	Биомаркер	Са компликацијом	Без компликације	р
Механичка компликација/тромб у ЛК/анеуризма ЛК	TnI	28,62 (19,47-44,96)	8,59 (2,89-25,84)	<0,05
Реинфаркт услед ин-стент тромбозе	MDA	24,16 (21,98-27,75)	39,67 (29,10-49,32)	<0,01
	vWAg	121 (98-140)	142 (129-148)	<0,05

5.13.1. Логистичка регресиона анализа параметара удружених са појавом интрахоспиталних компликација

Са повишеним ризиком од интрахоспиталних компликација су били удружени снижен систолни и дијастолни крвни притисак, ТИМI проток 1 vs. ТИМI проток 3, као и

веће концентрације ET-1, ниже концентрације триглицерида, протеина С и АОРР у униваријантном регресионом моделу. У мултиваријантном моделу су се као независни предиктори за појаву интрахоспиталних компликација издвојиле снижене концентрације АОРР. За сваку јединицу смањења концентрације АОРР у плазми, повећава се ризик од појаве интрахоспиталних компликација за 6,5% (Табела 24).

Табела 24. Логистичка регресиона анализа параметара удружених са интрахоспиталним компликацијама

Параметар	Униваријантна анализа			Мултиваријантна анализа		
	OR	95% CI	p	OR	95%	p
АОРР	0,945	0,902-0,990	0,018	0,935	0,878-0,995	0,034
ET-1	1,455	1,054-2,009	0,022			
Систолни крвни притисак	0,983	0,968-0,998	0,032			
Триглицериди	0,404	0,175-0,933	0,034			
ТИМI проток пре реперфузије 1:3	15,000	1,215-185,198	0,035			
Протеин С	0,978	0,958-0,998	0,039			
Дијастолни крвни притисак	0,973	0,974-0,999	0,043			

5.13.2. Реинфаркт услед ин-стент тромбозе

Повишене вредности ET-1, UACR, нижи BMI, присуство макроалбуминурије, NSTEMI тип инфаркта и непостојање претходно уграђеног стента у униваријантном моделу су били удружени са повишеним ризиком од настанка реинфаркта. У мултиваријантном моделу UACR је задржао свој значај као независни предиктор и то повећавајући вероватноћу за 8,3% са сваким порастом концентрације за 1 јединицу, док је индекс телесне масе са снижењем за 1 мерну јединицу повећавао исти ризик за чак 49,5% (Табела 25).

Табела 25. Логистичка регресиона анализа фактора за појаву реинфаркта

Параметар	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
ET-1	1,338	1,037-1,726	0,025			
UACR	1,059	1,018-1,101	0,004	1,083	1,016-1,154	0,014
Нормо vs. макроалбуминурија	0,23	0,002-0,326	0,005			
Микро vs. макроалбуминурија	0,62	0,004-0,915	0,043			
Тип ИМ STEMI/NSTEMI	0,076	0,008-0,712	0,024			
BMI	0,700	0,524-0,935	0,016	0,505	0,271-0,943	0,032
Претходно уграђен стент	0,109	0,016-0,766	0,026			
vWAg	0,966	0,932-1,000	0,052			

5.13.3. Механичке и ехокардиографски уочене компликације

У униваријантном моделу, повишене вредности ЕТ-1, GРх и гликемије на пријему, са једне стране, и снижене вредности MDA и триглицерида, поред ТИМI протока 0 у поређењу са оптималним, су биле удружене са повишеним ризиком од настанка механичких и ехокардиографски уочених компликација. Вероватноћа настанка ових компликација повећавала се за 85,3% уколико је особа претходно преживела CVI (Табела 26). Наведени фактори, међутим, нису задржали своју независну предиктивну улогу, тј. статистички значај у мултиваријантном моделу.

Табела 26. Логистичка регресиона анализа параметара удружених са појавом механичких и ехокардиографски уочених компликација

Параметар	OR	95% CI	p
ЕТ-1	1,288	1,019-1,628	0,034
GРх	1,073	1,001-1,151	0,047
MDA	0,908	0,842-0,978	0,011
Глукоза	1,167	1,004-1,355	0,044
Триглицериди	0,127	0,017-0,963	0,046
ТИМI на крају процедуре 0 vs. 3	8,933	1,201-66,453	0,032
Прележан CVI	0,147	0,023-0,949	0,044

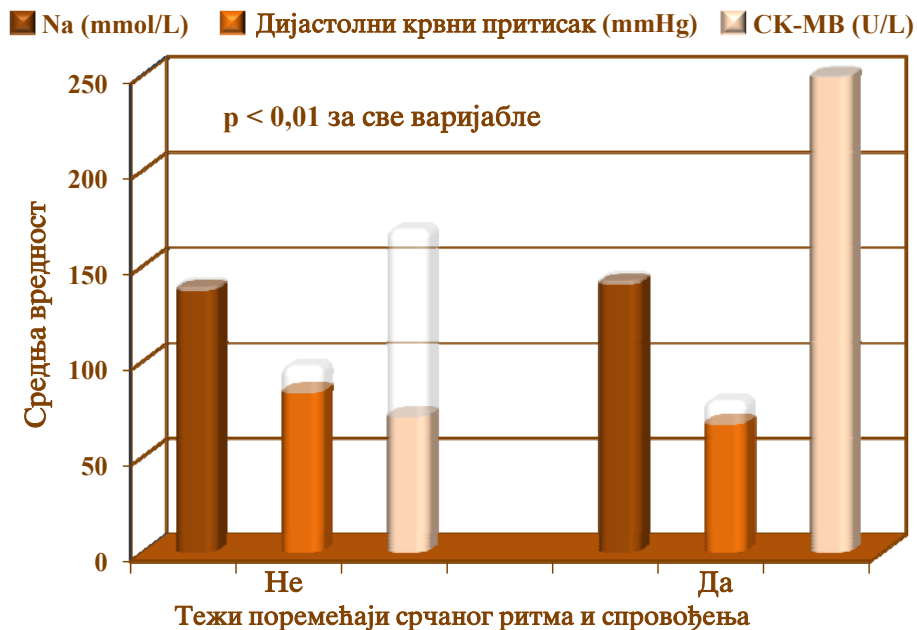
5.13.4. Тежи поремећаји срчаног ритма

Повишене вредности натријума у серуму, МВ изоформе креатин киназе, као и снижен дијастолни крвни притисак су били удружени са повишеним ризиком од настанка тежих поремећаја срчаног ритма и спровођења срчаних импулса (Табела 27). У мултиваријантном моделу своју независност су задржали натријум (са порастом серумске концентрације за 1 mmol/L ризик од компликације се повећава за 48,4%) и дијастолни крвни притисак (са снижењем за 1 mmHg, повећава се ризик од компликације за 5,1%).

Табела 27. Логистичка регресиона анализа испитиваних параметара удружених са појавом тежих поремећаја срчаног ритма

Параметар	Униваријантна анализа			Мултиваријантна анализа		
	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
Натријум (mmol/L)	1,571	1,123-2,198	0,008	1,484	1,070-2,059	0,018
Дијастолни КП (mmHg)	0,944	0,901-0,988	0,014	0,949	0,898-0,993	0,024
СК-МВ (U/L)	1,008	1,000-1,019	0,038			

Средње вредности параметара који су били удружени са појавом тежих поремећаја срчаног ритма су представљене на графикону 7.



Графикон 7. Средње вредности дијастолног крвног притиска, натријума и СК-МВ код болесника са и без тежих поремећаја срчаног ритма.

Сви болесници са овом компликацијом су имали STEMI и 10 је било подвргнуто примарној, а 1 болесник „rescue“ ПКИ. „Culprit“ лезија је у 72,7% случајева била лоцирана у систему десне коронарне артерије. Инфаркт антериорног зида имало је 18,2% болесника, инфериорног 45,4%, инферопостериорног 9,1%, а 27,3% болесника инфаркт доњег зида са захватањем десне коморе. Срчана фреквенца се код ових болесника кретала од 30 до 150/мин са средњом вредношћу од 69,73/мин. Средња вредност крвног притиска на пријему је била 119,55/70,91 mmHg. Дијастолни крвни притисак се кретао од 40 до 120 mmHg, а систолни од 60 до 190 mmHg. Средња вредност eGFR код болесника без ових компликација је била незнатно виша него код оних који су испољили ове компликације током хоспитализације (69,69 vs. 63,81 mL/min/m²).

5.14. УКУПНИ МОРТАЛИТЕТ У КЛИНИЧКОЈ ГРУПИ

Током две године праћења 13 (12%) болесника је умрло, и то 3 (2,8%) болесника током иницијалне хоспитализације. Умрло је 14,3% жена и 11,3% мушкараца укључених у истраживање ($\chi^2=0,181$; $p=0,4$). Код свих болесника, сем код једног који је умро

на гастроентеролошкој клиници услед масивног крварења из желудачних улцерација, узрок смрти су биле кардиоваскуларне компликације. Код болесника који су умрли током две године праћења, ET-1, SOD и D-димер су били значајно повишени, док су вредности AOPP и SH биле значајно ниже (Табела 28).

Табела 28. Испитивани биомаркери код преживелих и умрлих болесника током две године праћења

Биомаркер	Преживели	Умрли
CAT	6,48±2,19	5,79±1,70
SOD	1352,86±176,54	1495,78±254,36*
GPx	39,15 (36,92-45,18)	42,59 (41,09-44,36)
SH	136,27 (111,46-159,33)	115,65 (91,39-129,40) *
NOx	140,8 (116,15-166,15)	165,50 (141,14-175,20)
AOPP	21,22 (15,32-29,66)	14,05 (12,36-15,75) *
MDA	38,19 (25,76-44,12)	42,94 (36,50-47,46)
ET-1	3,12 (2,44-3,59)	4,02 (2,74-5,67) *
UACR	0,76 (0,52-1,37)	40,62 (0,39-80,86)
TnI	8,16 (2,89-21,52)	1,64 (0,83-3,33)
hsCRP	6,4 (3,41-30,81)	10,23 (6,03-28,95)
BNP	289,05 (176,95-522,30)	558,30 (318,55-2779,15)
D-димер	235 (145-486)	458 (279-1278) *
vWAg	138,0 (121,0-144,50)	140,0 (133,5-140,5)
Протеин С	108,51±23,79	112,11±31,70

* - $p < 0,05$ vs. Преживели; у табели су дате средње вредности ± SD /медијана (IQR).

Двогодишњи морталитет је био највећи у групи бивших пушача (28,6%), затим непушача (10,3%), а најмањи је био код пушача (3,9%). Бивши пушачи и непушачи у клиничкој групи били значајно старији од пушача ($69,2 \pm 7,5$ vs. $64,8 \pm 10,8$ vs. $57,2 \pm 8,8$ година).

У униваријантној анализи, старост, повишене вредности D-димера, SOD, ET-1, UACR и креатинина, присуство макроалбуминурије, Килип класа 4 vs. Килип класа 1, присуство ангине пекторис у анамнези, прележан CVI, *de novo* дијагностикован diabetes mellitus су повећавали ризик од двогодишњег морталитета у униваријантној анализи, који је био повишен и код бивших пушача (у односу на актуелне).

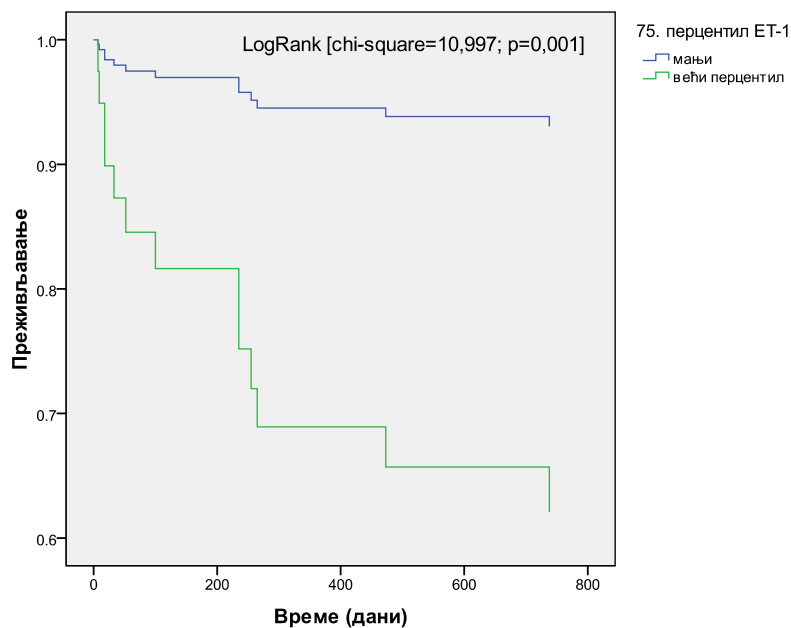
Повишен ризик је био удружен и са нижим вредностима хемоглобина и тиолних група (Табела 29).

Табела 29. Логистичка регресиона анализа параметара удружених са двогодишњим морталитетом

Параметар	Униваријантна анализа			Мултиваријантна анализа		
	OR	95% CI	p	OR	95%CI	p
SOD	1,004	1,002-1,007	0,017	1,003	1,001-1,009	0,048
SH	0,975	0,954-0,997	0,023	0,962	0,928-0,997	0,036
UACR	1,052	1,015-1,090	0,005	1,076	1,010-0,146	0,023
Ангина пекторис у анамнези	0,237	0,068-0,827	0,024	0,075	0,007-0,786	0,031

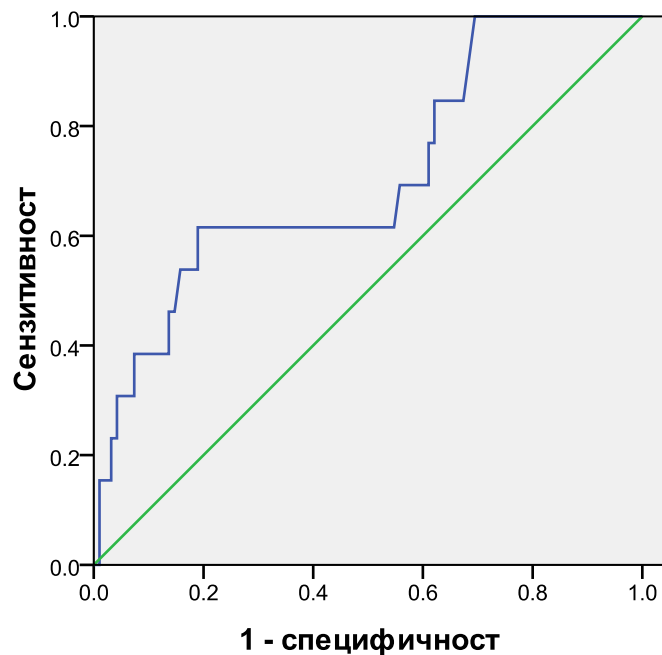
У мултиваријантној анализи своју предиктивну независност су задржали SOD (свако повећање за 1 јединицу је удружено са повећањем ризика за 0,3%), тиолне групе (свако смањење за 1 јединицу је удружено са повећањем ризика за 3,8%), UACR (чије повећање за 1 јединицу јесте удружено са повишеним ризиком за 7,6%), док присуство ангине пекторис повећава ризик за 92,5%. Наведени мултиваријантни модел у целини објашњава између 25,4% (R^2 Koxsa и Snela) и 51,1% (R^2 Nagelkerkea) варијансе и тачно класификује 89,1% случајева.

Сох регресиона анализа је показала да постоји разлика у преживљавању између болесника са вредностима ET-1 испод и изнад 75. перцентила (HR=0,151, 95% CI (0,049-0,466); p=0.001) (Графикон 8).



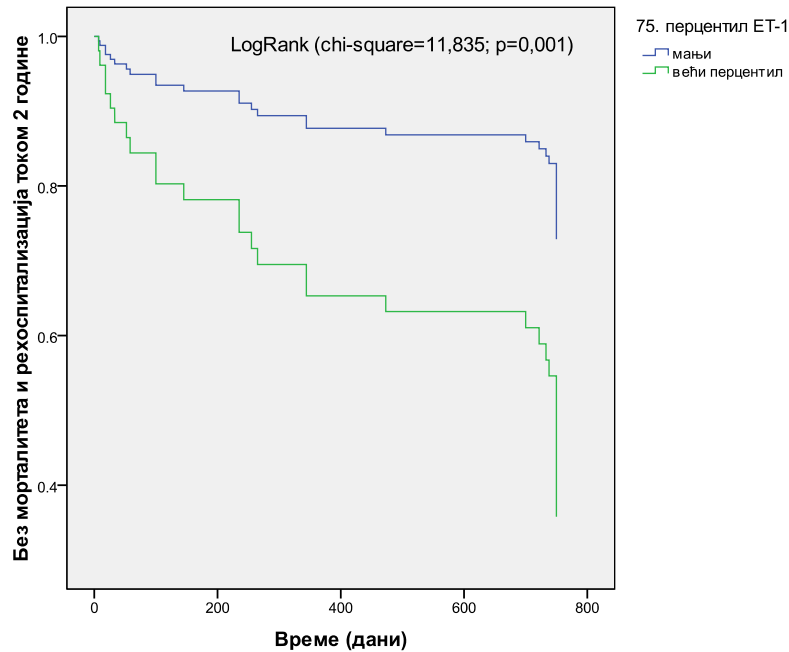
Графикон 8. Карпан-Мејер кривуље преживљавања за вредности ET-1 изнад и испод 75. перцентила.

ROC анализа је показала да је за вредност ET-1 > 3,81 pg/mL, AUC=0,708 за 95% CI (0,612-0,791), $p=0,01$, постоји сензитивност од 61,5% и специфичност 81,05% за предикцију двогодишњег морталитета (Графикон 9).



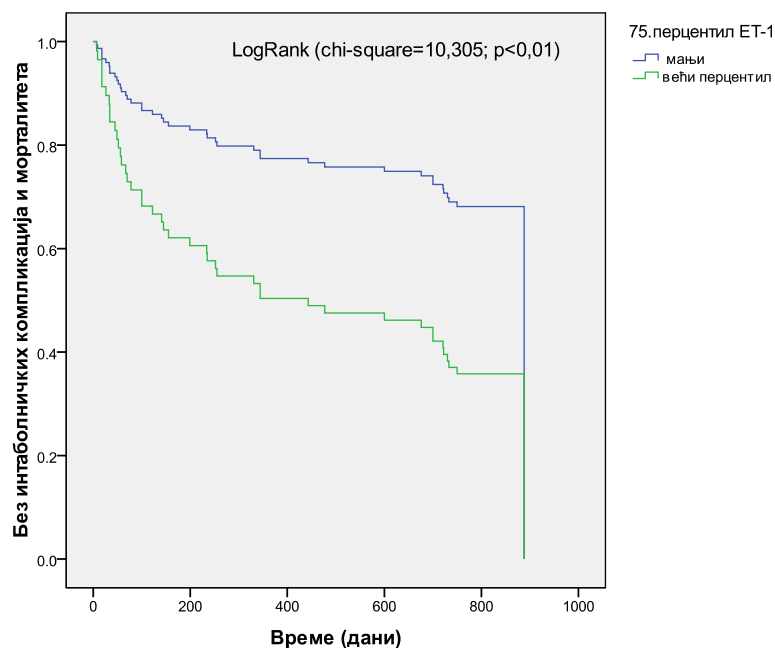
Графикон 9. ROC кривуља за ET-1 код двогодишњег морталитета.

У Cox-регресионој анализи [HR=0,308; 95% CI (0,151-0,626)], вероватноћа преживљавања без рехоспитализација током две године је била значајно већа ($p=0,001$) код болесника са ET-1 испод 75. перцентила (3,77 pg/mL) (Графикон 10).



Графикон 10. Kaplan-Meier кривуље за „composit endpoint“ (преживљавање без рехоспитализација) за вредности ET-1 испод и изнад 75. перцентиала.

У Cox-регресионој анализи [HR=0,374; 95% CI (0,200-0,698)], вероватноћа преживљавања болничких компликација је била значајно већа ($p=0.002$) код болесника са ET-1 испод 75. перцентиала (3,77 pg/mL) (Графикон 11).



Графикон 11. Kaplan-Meier кривуље за composit endpoint (интрахоспитално преживљавање без компликација) за вредности ET-1 испод и изнад 75. перцентиала.

Повишене вредности ET-1, UACR, снижене вредности калијума и присуство макроалбуминурије су били удружени са интрахоспиталним морталитетом (Табела 30). У мултиваријантном моделу се као независан предиктор морталитета издвојио UACR чије повећање за 1 јединицу јесте удружено са повишеним интрахоспиталним морталитетом за 6,2%.

Табела 30. Логистичка регресиона анализа за факторе од интереса за интрахоспитални морталитет

Параметар	Униваријантна анализа			Мултиваријантна анализа		
	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
ET-1	1,398	1,054-1,854	0,020			
UACR	1,070	1,023-1,120	0,003	1,062	1,025-1,179	0,016
Макро vs. нормоалбуминурија	0,023	0,002-0,326	0,005			
Калијум	0,043	0,003-0,690	0,026			

Модел у целини објашњава између 17,1% (R^2 Koxsa и Snela) и 25,1% (R^2 Nagelkerkea) варијансе и тачно класификује 96,9% случајева.

За факторе удружене са лошом интрахоспиталном прогнозом средње вредности одн. медијане су представљене на Табели 31.

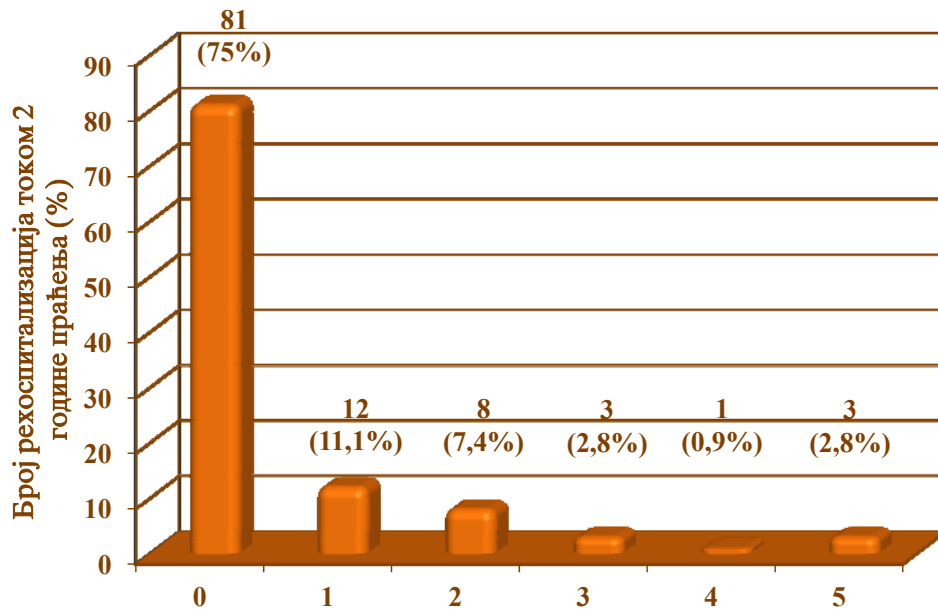
Табела 31. Вредности предиктивних параметара код болесника са и без интрахоспиталног морталитета

Биохемијски параметри	Преживели	Умрли у току иницијалне хоспитализације
Калијум	4,27±0,48	3,56±0,73*
ET-1 медијана (IQR)	3,11 (2,50-3,81)	4,08 (3,28-8,99)*
UACR медијана (IQR)	0,86 (0,45-4,11)	53,17 (26,86-67,02)**
Макроалбуминурија (%)	2,85%	66,6%**

* - $p < 0,05$ vs. Преживели; ** - $p < 0,001$ vs. Преживели; у табели су дате средње вредности ± SD, медијана (IQR)

5.15. РЕХОСПИТАЛИЗАЦИЈЕ

Током две године праћења, 27 (25%) болесника је било рехоспитализовано, од којих је 14 (13%) болесника имало више од једне рехоспитализације (Графикон 12).



Графикон 12. Број рехоспитализација током две године праћења.

У униваријантној анализи снижене вредности NO_x, LVEF, присуство ангине пекторис и прележаног инфаркта миокарда у анамнези и интрахоспиталних компликација су били удружени са повишеним ризиком од рехоспитализација током две године (Табела 32). У мултиваријантној анализи своју независну предиктивну улогу су задржали снижена LVEF (свако снижење за 1 мерну јединицу је било удружено са повишеним ризиком од рехоспитализације за 5,7%) и присуство прележаног инфаркта миокарда у анамнези (удружено са повећањем ризика за 75,7%).

Табела 32. Логистичка регресиона анализа фактора удружених са ризиком за рехоспитализацију током двогодишњег праћења

Параметар	Униваријантна анализа			Мултиваријантна анализа		
	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
NO _x	0,984	0,969-1,000	0,044			
LVEF (%)	0,958	0,918-1,000	0,047	0,943	0,894-0,995	0,03
Претходни ИМ	0,267	0,098-0,731	0,010	0,243	0,075-0,787	0,02

Модел у целини објашњава до 39,8% (R² Nagelkerke) варијансе и тачно класификује 74 % случајева.

У табели 33 су представљени лабораторијски и клиничко-функционални параметри који су били удружени са повећаним ризиком за рехоспитализацију током две године у униваријантној логистичкој регресионој анализи.

Табела 33. Варијабле од интереса за рехоспитализацију

Клиничко-функционална или лабораторијска карактеристика	Без рехоспитализација	Са 1 или више рехоспитализација
LVEF (%)	52,67±10,58	48,50±10,50*
NOx медијана (IQR)	139,3 (116,8-164,9)	125,5 (112,35-139,25)*
Ангина пекторис у анамнези	33,3 (%)	55,6(%)*
Прележан ИМ у анамнези	13,6 (%)	37(%)*
Интрахоспиталне компликације	33,3 (%)	55,6(%)*

* - $p < 0,05$ vs. Без рехоспитализација; у табели су дате средње вредности \pm SD, медијана (IQR)

5.16. КОРЕЛАЦИЈА ИСПИТИВАНИХ БИОМАРКЕРА

Каталаза, NOx, ET-1 и UACR нису корелисали са маркерима оксидативног стреса. Нађена је позитивна корелација тиолних група и AOPP, као и тиолних група и MDA (Табела 34).

Табела 34. Корелација маркера оксидативног стреса

	MDA	SH
AOPP	$r=0,415$ $p<0,001$	$r=0,286$ $P<0,01$
MDA		$r=0,305$ $p<0,01$

Код старијих болесника, вредност тиолних група и AOPP је била значајно нижа (Табела 35).

Табела 35. Корелација маркера оксидативног стреса

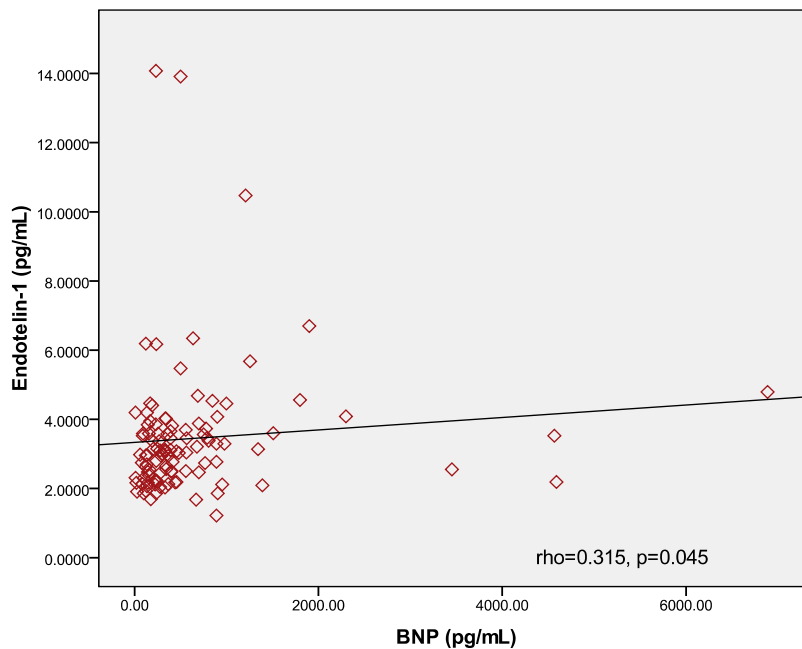
	AOPP	SH
Старост	$r=-0,274$ $p<0,01$	$r=-0,192$ $p<0,05$

Нађена је блиска корелација маркера инфламације, некрозе миокарда, хемодинамског оптерећења (BNP) и ендотелне дисфункције vWF (Табела 36). Ендотелин-1 је позитивно корелисао са TnI, BNP и бројем леукоцита (Графикон 13, 14, 15).

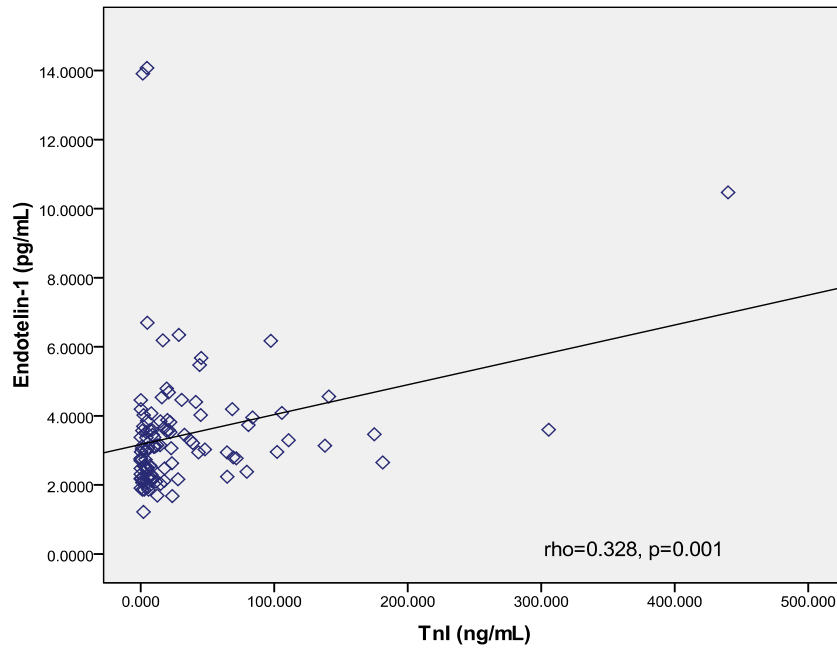
Табела 36. Корелација маркера оксидативног стреса и инфламације

	hsCRP	TnI	BNP	D-димер	Фибриноген
Фибриноген	r=0,565 p<0,001				
TnI	r=0,399 p<0,001				
Le	r=0,226 p<0,05	r=0,323 p<0,01			
D-димер	r=0,254 p<0,05		r=0,526 p<0,001		
BNP	r=0,439 p<0,01	r=0,460 p<0,01			r=0,322 p<0,05
vWAg	r=0,343 p<0,001	r=0,244 p<0,05	r=0,518 p<0,001	r=0,397 p<0,001	

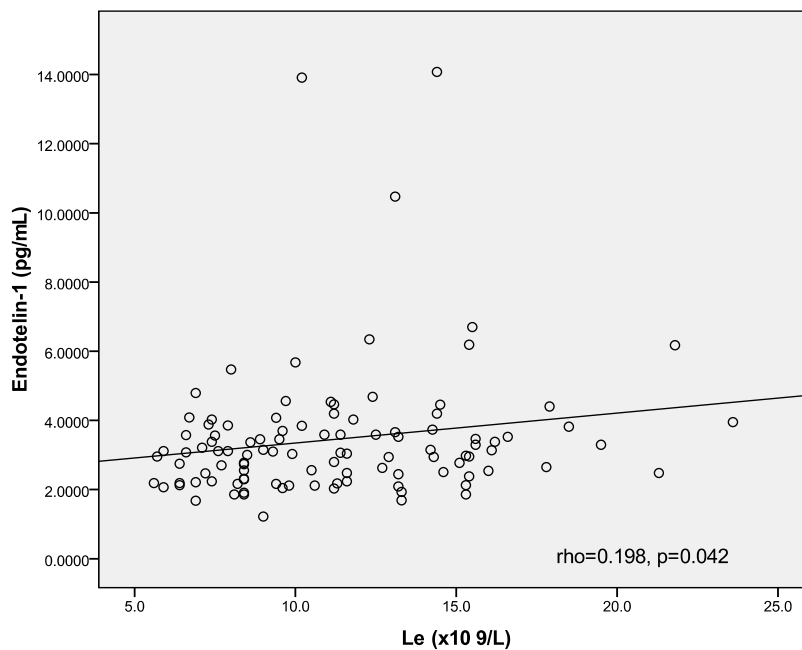
UACR је позитивно корелисао са BNP ($\rho=0,327$, $p=0,04$), hsCRP ($\rho=0,306$, $p=0,003$), D-димером ($\rho=0,225$, $p=0,026$), vWF ($\rho=0,219$, $p=0,031$).



Графикон 13. Корелација ET-1 и BNP концентрација.



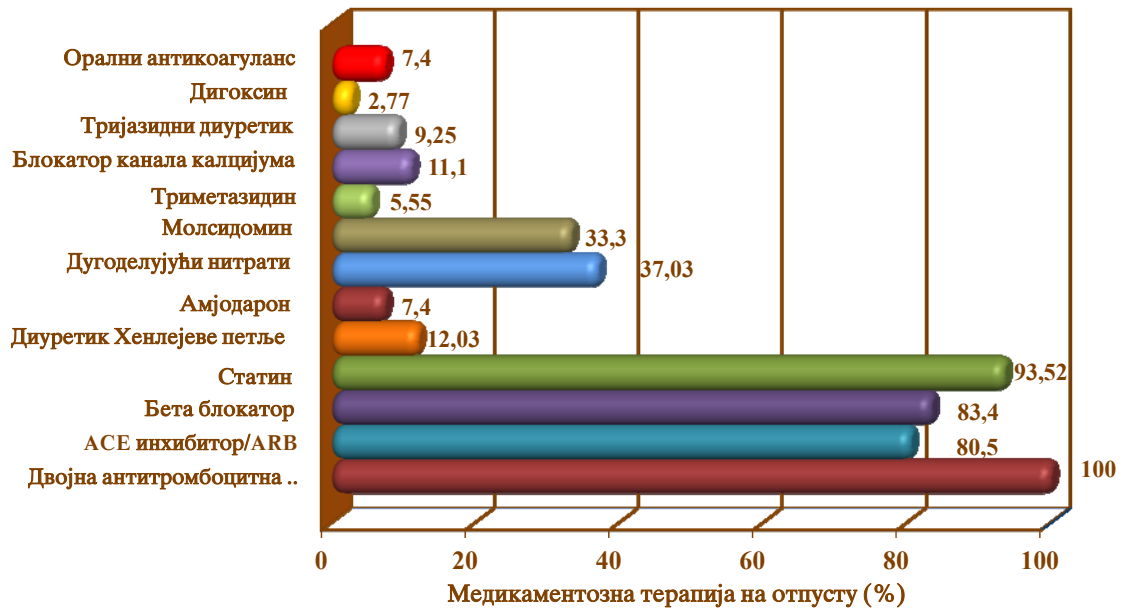
Графикон 14. Корелација концентрација ЕТ-1 и ТнI.



Графикон 15. Корелација ЕТ-1 концентрације и броја леукоцита.

5.17. МЕДИКАМЕНТНА ТЕРАПИЈА НА ОТПУСТУ

Сви болесници су на отпусту очекивано имали двојну антиагрегациону терапију. Такође, у високом проценту је прописан статин. Орални антикоагуланс имало је 7,4% болесника у терапији, што повећава ризик од „мајор“ крварења и може утицати на прогнозу (Графикон 16).



Графикон 16. Медикаментозна терапија на отпусту.

6.1. РАЗЛИКА У УЧЕСТАЛОСТИ АИМ КОД МУШКАРАЦА И ЖЕНА

Ово истраживање је показало да је учесталост АИМ у клиничкој групи била значајно већа код мушкараца, што се слаже са подацима већине националних регистра.¹⁹⁸ Међутим, у току две године праћења, стопа морталитета се није разликовала између полова, што је такође показано у европским регистрима за коронарну болест.¹⁹⁹ Просечна старост мушкараца и жена је била око 62 године, и већина испитаница је била у менопаузи, чиме се може објаснити добијени резултат.

6.2. УТИЦАЈ ТРАДИЦИОНАЛНИХ ФАКТОРА РИЗИКА И ПОСТОЈЕЋИХ КВБ НА ПРОМЕНЕ ВРЕДНОСТИ ПОЈЕДИНИХ БИОМАРКЕРА

6.2.1. Гликемија и новооткривени поремећаји метаболизма глукозе

Гликемија на пријему је била значајно већа код болесника из клиничке групе, што је у складу са доказима да организам на акутни стрес реагује ангажовањем хипоталамусно-питуитарно-адреналне осовине. Неуроендокрини одговор на стрес подразумева појачану гликонеогенезу, гликогенолизу и истовремену инсулинску резистенцију. Сматра се да је стрес хипергликемија узрокована пре свега појачаном синтезом глукозе у јетри, пре него смањеном екстракцијом у периферним ткивима.²⁰⁰

Данас се зна да је хипергликемија код пацијената са АИМ снажан предиктор морталитета, како код болесника са шећерном болешћу, тако и код оних који је немају. Међутим, има аутора који сматрају да је гликемија код болесника у раном стадијуму лечења АИМ, бољи индикатор морталитета и срчане слабости, од гликемије на пријему.²⁰¹ Гликемија наште у раном хоспиталном току јесте бољи предиктор морталитета од гликемије на пријему, међутим, посебно се истиче флукуација нивоа глукозе током хоспитализације као лош прогностички знак.^{202, 203} То је показано и у овој студији, јер су болесници који су умрли током две године праћења, на пријему, имали незнатно више вредности гликемије од преживелих (9,03 vs. 7,5 mmol/L). Међутим, код болесника са новооткривеним поремећајем метаболизма глукозе, стопа морталитета је била значајно већа, него код осталих испитаника. Повећање гликемије за 1 mmol/L пове-

ћавао је ризик у униваријантној анализи од механичких и ехокардиографски уочених компликација (вентрикуларна анеуризма и/или тромб у левој комори) у току хоспитализације за 7,3%. Иако актуелни регистри за акутни коронарни синдром указују на то да се тренд интрахоспиталног морталитета код болесника са дијабетесом лагано смањује, ови болесници и даље имају лошију прогнозу након АИМ.²⁰⁴

6.2.2. Пушачке навике

Није постојала значајна статистичка разлика у појави АИМ код наших испитаника који су били непушачи, бивши пушачи или пушачи. Међутим, други аутори налазе да је инциденца АИМ шест пута већа код жена, односно, три пута већа код мушкараца који пуше најмање 20 цигарета дневно.²⁰⁵ Пушење је значајан независан фактор ризика за КВБ и водећи је узрок структурних и функционалних промена у кардиоваскуларном систему. Показано је да је дувански дим један од директних узрока оштећења васкуларних структура, што поред оштећења ендотела укључује и продукцију супероксидних анјона, смањену продукцију и биорасположивост NO и повећану продукцију и ослобађање ET-1. Свакако, да то за последицу има ендотелну дисфункцију, и покретање сложеног механизма настанка атеросклерозе.²⁰⁶

Поређење вредности ET-1 код пушача и непушача клиничке групе, показало је да активни пушачи имају значајно више вредности, што није био случај и у контролној групи. Нису нађене значајне разлике у концентрацији NOx код испитаника са АИМ, у односу на њихов пушачки статус, што би се могло приписати значајнијем утицају самог коронарног догађаја на ослобађање деградационих продуката азот-моноксида, од изолованог утицаја пушачког дима. Двогодишњи морталитет је био највећи у групи бивших пушача, затим непушача, а најмањи је био код пушача. Ове резултате треба сагледати у односу на старост пацијената јер су бивши пушачи и непушачи у клиничкој групи били значајно старији од пушача.

6.2.3. Алкохол

Највећи број испитаника клиничке групе узимао је алкохол у малим количинама или повремено, што би било неповољно, ако се узму у обзир данашње препоруке које кажу да редовно конзумирање може имати добре ефекте у смањењу кардиоваскуларног ризика.¹⁹⁹ Са друге стране, не сме се занемарити чињеница да постоји J- или U-тип

повезаности између коришћења алкохола и коронарне болести, и између коришћења алкохола и морталитета. Показано је да узимање већих количина алкохола доводи до субклиничког оштећења леве коморе са развојем алкохолне кардиомиопатије. Ово је последица директних токсичних ефеката алкохола или његових токсичних метаболита на миокард, а ретко је повезано и са адитивима који се додају алкохолним пићима. Свакако је од значаја и присуство придруженог повећаног крвног притиска и повећане масе леве коморе код конзумента.²⁰⁷

6.2.4. Индекс телесне масе

Највећи број испитаника клиничке групе је био прекомерно ухрањен. Vincent и сар.²⁰⁸ су нашли да је гојазност удружена са повећаном липидном пероксидацијом у миокарду. Гојазност може довести до повећане продукције ROS у миокарду, повећаног садржаја полинезасићених масних киселина (PUFA, *енг.* polyunsaturated fatty acids) у срцу и смањења антиоксидативног капацитета. Митохондријална изоформа SOD (Mn-SOD) је повишена у левој комори код прекомерно ухрањених експерименталних животиња, што указује на то да један од извора ROS у гојазности јесте супероксидни радикал. Међутим, и поред повећане експресије овог ензима, у миокарду су биле повећане концентрације липидних хидропероксида и TBARS, што сугерише да је за антиоксидативну заштиту потребно укључење више (не)ензимских система.²⁰⁸ У клиничкој, али не и у контролној групи, нађена је позитивна корелација MDA и BMI, док SOD није корелисала са BMI како у клиничкој, тако и у контролној групи.

6.2.5. Хиперлипидемија

Поремећај метаболизма липида који се манифестовао као хиперхолестеролемија верификован је код 41,7% испитаника клиничке групе, од којих је 48,8% било на терапији статинима и на дијети, најмање 4 недеље пре пријема у болницу. Међутим, 11,1% болесника није контролисало свој липидни статус. Снижење плазма LDL холестерола смањује ризик од КВБ. Резултати епидемиолошких студија указују на то да редукација LDL холестерола мора бити примарни циљ превенције КВБ. Метаанализа великог броја студија је показала јасну дозно-зависну редукацију инциденце КВБ са снижењем LDL холестерола. Свако снижење LDL холестерола за 1 mmol/L редукује ризик од кардиоваскуларног морталитета и не-фаталног инфаркта миокарда за 20-25%.

Новије студије су потврдиле да снижење LDL холестерола испод 1,8 mmol/L значајно доприноси снижењу ризика од рекурентних кардиоваскуларних догађаја.¹⁹⁹ Просечна вредност LDL холестерола код болесника са АИМ је била 3,9 mmol/L, далеко изнад циљних вредности (испод 3 mmol/L и 2,5 mmol/L за особе са ниским тј. високим кардиоваскуларним ризиком).

6.2.6. Претходне кардиоваскуларне болести

Од болести које су у директној вези са кардиоваскуларним системом, најзаступљенија је била примарна артеријска хипертензија, што су показали и резултати других аутора. Значајно ређе су биле присутне раније верификована ангина пекторис, инфаркт миокарда и цереброваскуларни инзулт. Познато је из епидемиолошких студија да је повишен крвни притисак, фактор ризика, не само за коронарну болест, срчану слабост, већ и за цереброваскуларна оболења, периферну артеријску болест и оштећење бубрега.¹⁹⁹

Акутни инфаркт миокарда директно повећава интензитет инфламације у атеросклеротским плаковима. Због тога, након исхемијског догађаја, настаје повећање атеросклеротских плакова са истовременим повећањем активности протеаза у њима. Ова дешавања су последица промена у оквиру имуног система, а индуктор им је повећана активност симпатичког нервног система. Под дејством овог система долази до појачаног ослобађања прогениторних ћелија из костне сржи, које се транспортују до слезине доводећи до убрзане екстрамедуларне мијелопоезе. Ове про-инфламаторне промене перзистирају у плаку месецима. Упркос све већем броју доказа о инфламаторној природи процеса атеросклерозе, примена антиинфламаторне терапије у овом обољењу остаје будућност. Болесници са исхемијским компликацијама атеросклерозе улазе у посебно вулнерабилну фазу обољења и интервенције које би биле усмерене на прогениторне имуне ћелије имале би најдугорочније повољне ефекте.²⁰⁹ Болесници који су претходно имали CVI били су на повишеном ризику од механичких и ехокардиографски уочљивих компликација, са истовремено већим ризиком од двогодишњег mortalитета у униваријантном моделу регресионе анализе. Пацијенти са претходно верификованом ангином пекторис су имали повишен ризик од двогодишњег mortalитета, а овај ризик је у униваријантном моделу био праћен и ризиком од рехоспитализација. Већина болесника са ангином пекторис је лечена медикаментозно, а само је један болесник био подвргнут ПКИ. Показало се да нема значајне разлике у

морталитету (22,2% болесника са претходно уграђеним стентом), инциденци рехоспитализација (44,4% болесника са претходно уграђеним стентом), као и интрахоспиталних компликација (44% болесника са претходно уграђеним стентом) код болесника са одн. без претходне ПКИ. Међутим, код болесника са претходно уграђеним стентом постојао је виши ризик од реинфаркта услед ин-стент тромбозе у униваријантном моделу, док је у мултиваријантном моделу статистички значај био на самој граници. Још увек је отворено питање да ли је ПКИ у стабилној коронарној болести, супериорнија у односу на медикаментозну терапију.²¹⁰

Прележан инфаркт миокарда се такође издвојио као независан предиктор, удружен са повећним ризиком од рехоспитализација због КВБ, у току две године праћења.

У неким студијама, код болесника који имају уграђен АКБП, посебно код оних са дијабетес мелитусом, прогноза у реинфаркту је била далеко повољнија, а инциденца реинфаркта се кретала од 4 до 8%.²¹¹ Код болесника из ове студије који су имали уграђен АКБП није дијагностикован поремећај метаболизма глукозе *de novo*. Међу њима није било умрлих током две године праћења, а код једног је дијагностикована анеуризма леве коморе током хоспитализације. Двоје је било рехоспитализовано због КВБ поремећаја током 24 месеца. Дакле, није било разлике у заступљености компликација у поређењу са осталим болесницима.

6.2.7. Утицај раније примењене анитипертензивне и антилипемичке терапије на вредности испитиваних биомаркера код болесника са АИМ

Само код болесника који су у антихипертензивној терапији имали бета-блокаторе пре иницијалног догађаја, нађене су значајно ниже концентрације ЕТ-1, док сви остали биомаркери нису показали ову врсту зависности. Испитивани биомаркери се нису разликовали код болесника са, односно, без статина, АСЕ инхибитора и ARB у терапији пре АИМ. Garlichs и сар.²¹² су показали да бета-блокатори (пропранолол, метопролол и целипролол) смањују базално и стимулисано ослобађање ЕТ-1 из културе хуманих ендотелних ћелија. Како адреналин доводи до пораста секреције ЕТ-1, могући инхибиторни ефекат је посредован преко блокаде бета-адренергичких рецептора на површини ендотела. Са друге стране, блокада бета-адренергичких рецептора може бити посредна и везана за мембраностабилизујуће дејство. Овакво дејство имају, углавном калцијум антагонисти из групе дихидропиридина, и они су описани као инхибитори ослобађања ЕТ-1 из ендотелних ћелија. Brehm и сар.²¹³ су на експерименталном моделу

нашли да небиволол и карведилол смањују синтезу ET-1 из његових прекурсора. Ово говори у прилог да су бета-блокатори лекови који могу имати улогу у превенцији настанка и прогресије атеросклерозе.

У експерименталној студији на пацовима нађено је да ACE инхибитори могу да превенирају хроничну хипертензију индуковану инфузијом ET-1.⁷¹ Доказано је да постоји блиска повезаност ендотелинског и ренин-ангиотензинског система, и очекивало би се да ACE инхибитори имају сличне ефекте на ET-1 концентрације као и бета-блокатори, што није био случај у овом истраживању. Могуће је да ACE инхибитори своје ефекте остварују краткотрајно у ендотелинском систему у поређењу са бета-блокаторима.

У студији Yada и сар.²¹⁴ је показано да је NOS инхибитор - ADMA, повишен док су снижени нивои ТХБ у условима појачаног оксидативног стреса у АИМ, као и да је терапија примењена у АИМ смањивала ниво оксидативног стреса. Недавно рађене студије показале су да ACE инхибитори и аспирин редукују ниво ADMA у плазми, док статини немају утицаја на његову концентрацију. Инхибитори ангиотензин конвертујућег ензима стимулишу ткивне антиоксидативне механизме, док аспирин редукује ADMA концентрацију, повећавајући активност диметиларгинин диметил-аминохидролазе (DDAH), ензима који разграђује ADMA молекул.²¹⁴ Изостанак антиоксидативног ефекта ARB и ACE инхибитора је вероватно била последица снажне активације iNOS система у условима исхемије.

6.3. АКТИВНОСТ АНТИОКСИДАТИВНИХ ЕНЗИМА (CAT, SOD, GPX) И КОНЦЕНТРАЦИЈА ТИОЛНИХ ГРУПА У КЛИНИЧКОЈ И КОНТРОЛНОЈ ГРУПИ

Код испитаника клиничке групе, једино је SOD имала већу активност у односу на контролну групу, док је активност GPx била значајно нижа у клиничкој групи у поређењу са контролном, а активност CAT није показивала значајне разлике између група. Концентрација тиолних група, слично GPx, показивала је значајно нижу вредност код болесника са АИМ.

Резултати из доступне литературе не дају јасан одговор на питање шта се дешава са антиоксидативним системом у акутној и субакутној фази инфаркта миокарда.

У студији Bagatini и сар.²¹⁵ је нађено да највећу активност у групи испитаника са АИМ имају CAT и SOD, у поређењу са контролном групом. Иначе, ова активност је мерена након што је концентрација TnI достигла пик, а што је у просеку било 72h од

почетка ангинозних болова.²¹⁵ То одговара времену када су вршена мерења у клиничкој групи, али у овом истраживању пораст активности SOD није била праћена порастом активности САТ. Каталаза, као ензим такозване прве линије одбране, је имала нижу активност и у налазима других студија код болесника са АИМ (Noichgi и сар.²¹⁶). Постојала је велика осцилација активности овог ензима, у зависности од циркардијалног ритма, на анималним моделима, што свакако може имати директног утицаја на добијене резултате.²¹⁷ Акумулација водоник-пероксида у условима исхемије и реперфузије може инхибирати антиоксидативне ензиме (инхибиција високом концентрацијом супстрата) и, такође, мењати им молекуларну конформацију. Смањена активност САТ код болесника са коронарном болешћу може бити и последица њене инактивације услед унакрсног везивања, или поремећаја у NOS активности. Наиме, NO концентрација расте услед активације iNOS у АИМ који се може реверзибилно везивати за фери јон (Fe^{3+}), чиме се инхибира активност САТ.²¹⁸

Активност антиоксидативних ензима се мења брзо током акутног коронарног догађаја. Повећану продукцију реактивних кисеоничких радикала и смањење антиоксидативних резерви у првих 6-12 сати, прати усходна, тзв. „ур“ регулација ензимске активности, која достиже пик након 1-2 дана од почетка акутног догађаја, и постепено се враћа у референтне интервале током следећих дана. Интензитет и време ових промена зависе од тежине акутног догађаја, развоја компликација, а у првом реду од примене реперфузионе терапије.

Варијабилност у времену одређивања антиоксидативне ензимске активности, у зависности од времена почетка акутног догађаја, је разлог хетерогености резултата унутар једне или између више студија. Чак и у студијама у којима се врше мерења активности антиоксидативних ензима у хроничној, стабилној коронарној болести, ензимска активност може бити модификована променама у терапијским протоколима након прележаног инфаркта миокарда (употребом статина) или изменом животних навика (престанак пушења, физичка активност, исхрана).²¹⁹

Могуће је да се „ур“ регулација SOD, која реагује са супероксидним анионом, дешава брже у АИМ у односу на САТ, те да је из тог разлога концентрација SOD била значајно виша у клиничкој групи након 72 сата од иницијалног догађаја.

Када је у питању снижена активност GPx у еритроцитима, добијени резултати се слажу са већином других студија, које су показале да код болесника са АИМ долази до смањења активности овог ензима због исцрпљивања у реакцији са водоник-пероксидом, или пак, због излагања алдехидним нуспродуктима насталим у липидној перокси-

дацији и азот-моноксиду чија је концентрација такође повишена у АИМ.²¹⁸

Cheng и сар.²²⁰ су нашли да код болесника са стабилном коронарном болешћу, који имају већ снижене вредности GPx-1 изоензима и витамина Е у плазми, постоји значајно већи ризик од настанка АИМ. Дефицијенција GPx-1 доводи до ендотелне дисфункције, повећане оксидације LDL молекула, значајних измена у структури васкулатуре и миокарда и прогресије атеросклеротских лезија на анималним моделима.²²⁰ Како је значајан проценат испитаника имао већ доказану коронарну болест, могуће је да је и то био један од разлога њене снижене активности у време мерења.

Тиолне групе, чија је концентрација у клиничкој групи била снижена, имају велики удео у целокупној антиоксидативној активности у плазми.⁹⁸ У студији Nojiri и сар.²²¹ је нађено да је TAS била нижа код болесника са стабилном коронарном болешћу, као и да је постојала корелација његовог снижења са бројем захваћених крвних судова. У студији Surekha и сар.²⁰⁷ код болесника са АИМ је такође нађена значајно нижа вредност TAS. Tanriverdi и сар.⁹⁸ предлажу да редукција у вредностима тиолних група, мерених на пријему у болницу, буде коришћена као помоћно средство у дијагностици акутног коронарног синдрома. Исти аутори су нашли негативну корелацију концентрације тиолних група и маркера некрозе.⁹⁸ У испитиваној клиничкој групи није нађена корелација броја захваћених оболелих коронарних крвних судова, као ни вредности TnI са концентрацијом тиолних група. Већина болесника је имала једносудовну коронарну болест, а време узорковања крви за одређивање TnI се разликује међу студијама, чиме се могу објаснити поменуте разлике.

6.4. КОНЦЕНТРАЦИЈА ОКСИДАЦИОНИХ ПРОДУКАТА ПРОТЕИНА И ЛИПИДА (AOPP, MDA) У КЛИНИЧКОЈ И КОНТРОЛНОЈ ГРУПИ

Концентрација MDA је била значајно повишена у клиничкој групи у односу на контролну групу. Запажено је повећање MDA у току АИМ, као и да се његова концентрација током првих седам дана од акутног догађаја прогресивно увећава, што одговара нашем налазу.¹¹¹

Протеини су посебно осетљиви на дејство слободних радикала. У реакцији са ROS долази до измена у аминокиселинама, односно резидуама лизина, аргинина, пролина и хистидина, при чему настају карбонилни молекули, који су идентификовани као рани показатељи оксидативног оштећења протеинских молекула, али је методологија њиховог одређивања сложенија.²²² Молекули који служе за процену оксидативне

модификације протеина у клиничким студијама су најчешће АОРР.⁹⁶ Skvarilova и сар.⁹³ су показали да пацијенти са АКС имају повишене нивое АОРР који се значајно разликују од оних који су присутни код здравих.

Barsotti и сар.⁹⁵ су вршили серијско мерење АОРР код болесника са АИМ и у контролној групи чији су испитаници имали неки од фактора ризика за коронарну болест. Вредности АОРР су биле повишене и месец дана након акутног догађаја.⁹⁵ Добијени резултати су у складу са налазом поменуте студије, где су АОРР мерени трећег дана од АИМ били повишени, међутим, разлике у концентрацијама нису биле статистички значајне у односу на контролну групу. Могуће је да концентрација АОРР постепено расте током периода реконвалесценције.

За хемијску реактивност АОРР молекула је поред оксидативно измењених албумина, одговоран и оксидисан фибриноген.⁹⁶ Како је код болесника са АИМ, фибриноген био значајно повишен у односу на здраве испитанике, очекивао би се њихов пораст. Могуће је да је вредност албумина која се смањује након акутне фазе инфаркта миокарда (и то израженије код снажнијег инфламаторног одговора) узрок снижења концентрације овог молекула. Такође, од значаја је и време узорковања крви за добијене различите вредности у различитим студијама.

Оксидисани фибриноген може да се веже за аро(а), део Lp(а) због велике структурне сличности између аро(а) и плазминогена. Тако, аро(а) се надмеће са плазминогеном за везујућа места, и може да се „такмичи“ са плазминогеном (и/или ткивним плазминоген активатором) за везујућа места на фибрин(огену), што доводи до инхибиције фибринолизе и промоције атеросклерозе у КВБ. То даје за право да се функција АОРР система посматра као мач са две оштрице плазма протеома, са једне стране, а са друге, не умањује његов значај као биомаркера оксидативног стреса.⁹⁶

Kaneda и сар.²²³ су показали корелацију концентрације АОРР и тежине коронарне болести одређиване Gensini скором. Witko-Sarsat и сар.⁹² су нашли да се вредност АОРР повећава у уремији, али у студији Kaneda и сар.²²³ није нађена корелација креатинина и АОРР. Већина болесника клиничке групе је имала вредности креатинина у референтним оквирима и благи степен реналне дисфункције, и није показана корелација између ових параметара и АОРР, као ни корелација АОРР и броја оболелих коронарних крвних судова.

У неким студијама болесници са АИМ показали су виши ниво АОРР/тиол односа него они са нестабилном ангином пекторис. Нађена је корелација глукозе, тиола и АОРР/тиол односа у плазми код болесника са АИМ. Показано је да хипергликемија

дефинише подгрупу болесника са АИМ који имају већи степен инфламаторне активности, а самим тим и већи ризик за поновне кардиоваскуларне догађаје. Описане промене у односима ових параметара свакако играју улогу у настанку генерализованог инфламаторног одговора код ових болесника.⁹⁵ За разлику од тога, у клиничкој групи није нађена корелација гликемије на пријему, АОРР и АОРР/тиол односа, али је постојала снажна позитивна корелација тиолних група и АОРР, што је још један доказ парадоксалног одговора АОРР као антиоксидативног система.

6.5. МАРКЕРИ ИНФЛАМАЦИЈЕ У АИМ

Маркери за процену постојања инфламаторног процеса: hsCRP, фибриноген и број леукоцита су били значајно повишени код болесника клиничке групе у односу на испитанике контролне групе.

Процес инфламације је укључен у све аспекте атеросклерозе, па и у настанак АКС. Повишени маркери инфламације су присутни код атеросклеротских плакова склоних руптури и тромбози, какви су они са танком фиброзном капом, великим липидним/некротичним језгром, смањеним садржајем глаткомишићних ћелија у фиброзној капи, „спољашњим ремоделовањем“ (компензаторним увећањем), тачкастим или микроскопским калцификацијама.²²⁴ Већина наших испитаника је имала инфаркт тип 1, у чијој основи су поменуте атеросклеротске промене, што је свакако и доказано високим степеном активности инфламаторног процеса. Након иницијалног исхемијског догађаја јавља се снажан инфламаторни одговор праћен, пре свега, инфилтрацијом ткива неутрофилима, потом моноцитима/макрофагима и лимфоцитима. Током еволуције, инфламаторни/имуни систем се развијао са циљем адаптације и заштите врсте од убиквитарне микробне флоре, али по цену развоја неинфективних обољења преко хроничне инфламације (каква се виђа у атеросклерози, дијабетес мелитусу, гојазности) или претераног инфламаторног одговора на оштећење ткива (АИМ, CVI). Постоје многобројни докази да инфламација има централну патофизиолошку улогу у прогресији коронарне болести, АИМ и срчаној слабости.²²⁵

6.6. ЕНДОТЕЛИН-1, NOX I UACR (МАРКЕРИ ЕНДОТЕЛНЕ ДИСФУНКЦИЈЕ)

Код испитаника клиничке групе вредности ET-1 нису показивале значајне разлике у односу на испитанике контролне групе. Иначе, ET-1 се ослобађа у циркулацију

врло рано током АИМ, али се брзо и враћа у референтне оквире (унутар пар сати), чиме се може објаснити овакав налаз код наших болесника са АИМ.¹³⁹ Концентрације ЕТ-1 код кардиоваскуларних компликација, као што су срчана слабост и рекурентна исхемија, остају повишене најмање три дана од иницијалног догађаја.^{139, 140} Нови пик ЕТ-1 се јавља након реперфузионе терапије, услед постојања феномена „испирања“ из инфарктом захваћеног подручја, након „отварања“ крвног суда одговорног за настанак АКС.^{119, 139} Већина болесника је била подвргнута примарној, спасавајућој или елективној ПКИ унутар 24 сата од пријема у болницу, тако да је ЕТ-1 мерен након секундарног пика концентрације индукованог реперфузијом. У студији Lewiciki и сар.²²⁶ је нађено да је код болесника са STEMI, вредност ЕТ-1 била два пута виша у односу на контролну групу, али узорковање крви је вршено током пункције у припреми за ПКИ.

Трећег дана од АИМ код испитаника клиничке групе нађене су повишене концентрације NOx, што се слаже и са подацима из других студија, где су вредности NOx достизале пик пар дана након акутног догађаја. Ово се може објаснити компензаторним повећањем продукције NO од стране iNOS, пре свега индуковане инфламаторним цитокинима.¹¹⁴

Вредности UACR, још једног маркера ендотелне дисфункције, нису биле значајно различите код болесника са АИМ у односу на контролну групу здравих испитаника. Албуминурија умереног степена се значајно чешће налазила у клиничкој групи, у односу на контролну. Gosling и сар.¹⁶⁷ су још 1991. године дали објашњење да унутар прва три дана од настанка АИМ, долази до пораста екскреције протеина путем урина. Појава микроалбуминурије у болесника са АИМ је тумачена повећањем системске васкуларне пермеабилности, укључујући и бубрежне крвне судове, у склопу инфламаторног процеса и хемодинамских промена који прате АИМ.²²⁷

6.7. МАРКЕРИ КОАГУЛАЦИОНО-ФИБРИНОЛИТИЧКЕ АКТИВНОСТИ У АИМ

Фон Вилебрандов антиген је нађен у значајно вишој концентрацији код болесника са АИМ. Овај налаз је у складу са подацима других аутора о порасту vWF код болесника са АИМ и то са пиком три до четири дана од иницијалног догађаја.¹³¹ Плазматски vWF је значајан маркер ендотелне дисфункције, односно генерализованог оштећења ендотела, а истовремено је и маркер степена изражености атеросклеротског процеса.²²⁸ Према досадашњим сазнањима, ниво vWF није удружен са развојем коро-

нарне болести у општој популацији, али има значајну предиктивну улогу код болесника са развијеном КВБ, дијабетес мелитусом и код старијих особа. Иако постоји консензус да ниво vWF одражава општи ендотелни функционални поремећај, још увек није јасно да ли он има утицаја на појаву и опсежност тромбозе артерија.²²⁹

D-димер је био значајно повишен у наших болесника са АИМ. Овај маркер може да има значајну улогу и у раној дијагностици АКС, с обзиром на чињеницу да пружа независне информације од оних које добијамо користећи традиционална лабораторијска и функционална дијагностичка средства (посебно у искључењу АКС када је маркер у референтним оквирима).²³⁰

Очекивано, протеин С је био значајно повишен у АИМ у поређењу са испитаницима из контролне групе, с обзиром на то да је он задужен за инактивацију активисаних фактора коагулације V и VIII, и његова ензимска активност је стимулисана тромбином односно томбин-тромбомодулин једињењем.¹³⁹

6.8. РАЗЛИКЕ У ВРЕДНОСТИ БИОМАРКЕРА КОД БОЛЕСНИКА СА АКУТНИМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА СА ИЛИ БЕЗ ST СЕГМЕНТ ЕЛЕВАЦИЈЕ

Код болесника са АИМ доминирали су они са STEMI. У скоро истом проценту су били заступљени инфаркт антериорног и инфериорног зида, а најчешће се радило о једносудовној коронарној болести, са „culprit“ лезијом лоцираном у систему десне коронарне артерије или на LAD. У овом истраживању ниједан параметар оксидативног стреса, као ни ендотелне дисфункције, није корелисао са бројем оболелих крвних судова, као ни са захваћеним коронарним судом (LAD, ACx, RCA, LM). Ово одступа од налаза Kaneda и сар.²²³ који су показали да постоји корелација концентрације AOPP и тежине коронарне болести. Lewicki и сар.²²⁶ су запазили да је код болесника са STEMI, код којих је „culprit“ лезија била лоцирана на LAD, ниво ET-1 био нижи него код осталих болесника. Nojiri и сар.²²¹ су утврдили да се ниво укупне плазматске антиоксидативне заштите смањује са бројем оболелих крвних судова. Могуће одступање наших налаза је и у томе што је већина болесника имала једносудовну коронарну болест. Показано је да и ниво појединачно измерених антиоксиданаса као што су α и β каротен, GPx јесте у негативној корелацији са ангиографски одређеном тежином коронарне болести. Поједини аутори сматрају да коронарна болест може делом бити узрокована поремећеним аминотиол редокс статусом, што није последица, него узрок оштећења крвног суда.²²¹ Резултати ове студије, када је у питању активност GPx, одговарају они-

ма које су добили Yegin и сар.²³¹ који су доказали да постоји смањење како GРх активности, тако и нивоа селена у еритроцитима, у атеросклерози, као и да активност овог ензима може бити пропорционална степену тежине коронарне болести.

Болесници са STEMI у овој студији су имали значајно више вредности TnI. Ниво TnI се код болесника са NSTEMI мења унутар 72 сата. Сматра се да та флукуација након исхемијског догађаја може бити снажан предиктор mortalитета, а то је посебно изражено код болесника са умерено повишеним TnI који дуго одржава плато концентрације. Претпоставља се да је то последица пролонгираног ослобађања тропонина I из оштећеног миокарда, што резултује прогресивним ремоделовањем и нежељеним догађајима.²³² Није било значајне разлике у параметрима оксидативног стреса и ендотелне дисфункције код болесника са STEMI и NSTEMI. Једино је ET-1 био лако повишен код болесника са STEMI. Овај налаз се слаже са испитивањем Маууас и сар.²³³ Сматра се да ове промене могу бити у вези са чињеницом да болесници са STEMI имају веће инфарктно подручје, а самим тим, и већу стопу mortalитета него они са NSTEMI. Стога је очекивано да повишени ниво ET-1 у плазми код наших болесника буде удружен са акутном и хроничном срчаном инсуфицијенцијом, тј. са нижом LVEF на пријему. Свакако то указује на то да ET-1 има потенцијалну улогу у смањењу вредности LVEF путем директног смањења крвног протока кроз болесне коронарне артерије. Са друге стране, постоје и мишљења да пораст ET-1 може настати након снижења LVEF као компензаторни одговор, како би се одржао крвни притисак у условима смањеног минутног волумена. Постоје и извештаји да је плазматски ниво про-ендотелина три до пет дана након ИМ предиктор развоја срчане слабости и mortalитета. Студијска популација De Chiara и сар.²³⁴ је обухватала како болеснике са STEMI, тако и болеснике са NSTEMI, а испитиване су промене у тзв. редокс статусу (тиолне групе, GSH, хомоцистеин и цистеин), узимајући у обзир време које је протекло од почетка тегоба до уласка у катетеризациону салу, као и тип третмана. Од свих посматраних параметара само је код болесника са STEMI нађен пораст плазматског хомоцистеина и цистеина који показују прооксидативна својства.²³⁴

6.9. АКТУЕЛНИ ТЕРАПИЈСКИ ПОСТУПЦИ

Код болесника са STEMI и различитим типовима реперфузионе терапије није било значајне разлике у вредностима ET-1. Иначе, ET-1 као снажан вазоконстрикторни пептид, налази се у великим количинама у нестабилним коронарним плаковима или у

тромбу унутар коронарних артерија, и појачано се експримира у реперфундованом исхемијском миокарду. Његов плазматски ниво је предиктор „no-reflow“ након примарне ПКИ, а истовремено и показатељ дугорочне прогнозе након АИМ. До данас није у потпуности разјашњена улога блокатора ЕТ рецептора на експерименталним моделима са АИМ. Постоје саопштења у којима се тврди да ови лекови на анималним моделима редукују величину инфарктног подручја, али и саопштења о њиховом контроверзном, односно, њиховом непожељном ефекту. С обзиром на то да ЕТ покреће микроциркулаторну дисфункцију у STEMI, претпоставља се да краткорочно давање антагониста ЕТ рецептора побољшава микроваскуларну функцију, након примарне ПКИ. Давање ових лекова код болесника са STEMI након ПКИ, према подацима појединих аутора, је безбедно и може побољшати перфузију на нивоу ткива и LVEF.²³⁵

Наши резултати су показали да се код болесника који се лече примарном ПКИ дешава “експлозија” реактивних кисеоничких радикала, што се сматра последицом повишене инфламаторне активности у вулнерабилним плаковима, постојећом исхемијом и реперфузионим оштећењем. Иако је отворена коронарна артерија након ПКИ или тромболитичке терапије, са добијеним протоком TIMI 2-3, и даље перзистира високи степен про-оксидативног окружења, што може бити главни прогностички индикатор и имати утицаја на неповољан исход болести. Са друге стране, правовремена реперфузија је од критичног значаја за спречавање ћелијског и васкуларног оштећења.²³⁴ Код болесника у овој студији нису постојале значајне разлике између биомаркера оксидативног стреса у односу на модалитете реперфузионе терапије, што је вероватно везано за брзе промене у њиховој активности у акутној фази инфаркта миокарда.

У студији Cuculi и сар.²³⁶ нађена је значајна разлика у концентрацијама ЕТ-1 између болесника са вишесудовном коронарном болешћу који су подвргнути ПКИ или тзв. “on-pump” АКБП хирургији. Показано је да је ЕТ-1 достигао пик 24 сата од хируршке интервенције и остајао је повишен једну недељу након процедуре, док су промене у концентрацији ЕТ-1 код болесника са ПКИ биле значајно мање, што је дало за право тврдњи да он нема значајну улогу у перипроцедуралном миокардном оштећењу у ПКИ.²³⁶ Овај налаз одговара резултатима ове студије где је највећи број болесника имао једносудовну коронарну болест и ПКИ. Иста група аутора је доказала да постоји снажна корелација вредности ЕТ-1 и hsCRP што указује на повишену инфламаторну активност током АКБП хируршке процедуре, те би антиинфламаторна терапија могла побољшати прогнозу ових болесника.²³⁶

Уринарни албумин-креатинин однос, као показатељ ендотелне дисфункције, се није значајно разликовао међу болесницима лечених примарном, односно, „rescue“ ПКИ и оних који су добили фибринолитик.

За разлику од маркера ендотелне дисфункције и оксидативног стреса, вредности BNP и D-димера су биле значајно више код болесника који су добијали фибринолитичку терапију. То је потврђено и од стране других аутора, који сматрају да BNP, као маркер хемодинамског стреса, у комбинацији са маркерима некрозе, може имати значајно место у правилној стратификацији ризика на пријему у болницу, односно, на брзо упућивање пацијената са повишеним ризиком на ПКИ. Повишене вредности BNP на иницијалној презентацији код STEMI су последица поремећене реперфузије након фибринолизе и удружене су са повишеним ризиком од краткорочног морталитета.²³⁷ D-димер као биомаркер има посебан значај, имајући у виду да његове концентрације код пацијената који су добили фибринолитичку терапију након АИМ, остају повишене и по неколико месеци. То указује на перзистирање стања повећане коагулабилност након ИМ. Хиперкоагулабилно стање условљено је одржавањем повишеног нивоа фибриногена, што са собом носи ризик од реинфаркта, цереброваскуларног догађаја и морталитета. Стога, D-димер може бити користан биомаркер у предикцији рекурентних исхемијских догађаја код ових болесника. Подстудија HORIZONS-AMI (Harmonizing outcomes with revascularization and stents in acute myocardial infarction trial) показала је да су високе вредности D-димера на пријему болесника са STEMI, лечених примарном ПКИ, биле удружене са повећаним ризиком од нежељених догађаја током три године праћења. Међутим, и вредности D-димера одређене на отпусту, такође могу указивати на повишен ризик од нежељених догађаја. Нађено је да дужина укупног исхемијског времена (време од почетка тегоба до балон инфлације) одређује концентрацију D-димера и током тог временског периода активира се коагулациона каскада са ослобађањем фибрина, а прекида се давањем анти тромботске терапије.²³⁸ Болесници из овог истраживања на фибринолитичкој терапији су очекивано имали више вредности D-димера од оних лечених примарном ПКИ, док су болесници са „rescue“ ПКИ имали најмању вредност овог биомаркера, што је указивало на добру средњерочну прогнозу, што се слаже и са наводима из литературе.

Што се тиче маркера инфламације, код испитанка са АИМ, hsCRP је био значајно виши код оних који су третирани са „rescue“ у поређењу са онима који су били подвргнути примарној ПКИ. То се слаже и са наводима других аутора, који су показали да код пацијената са пролонгираним “pain to balloon” временом (што је случај са rescue

подгрупом), постоји лоша миокардна перфузија. Одрређивање CRP показало је да је он снажан предиктор краткорочног и дугорочног морталитета код болесника са NSTEMI.²³⁹ Мали број студија се бавио одређивањем корелације CRP, мереног унутар шест сати од почетка тегоба, и прогнозе код болесника са STEMI који су били третира- ни примарном ПКИ. У неким студијама уочено је да су повишени нивои hsCRP удру- жени са великим бројем нежељених догађаја, након примарне ПКИ, унутар тридесет дана од иницијалног догађаја.^{233, 234} Друга група аутора сматра да маркери инфламације имају изузетну предиктивну вредност код NSTEMI док су маркери некрозе бољи прогностички показатељи код STEMI. Доказано је да код STEMI постоји бржи и већи пораст нивоа TnI у односу на NSTEMI. То је потврдило да се у STEMI процес некрозе одвија брже због чега је неопходна реперфузиона терапија како би се очувала вијабил- ност миокарда. Свакако да је брзи пад TnI након реперфузионе терапије потврда ових налаза. За болеснике са NSTEMI, карактеристично је да TnI расте полако током 36 сати од почетка тегоба.²⁴⁰ Очекивано, болесници са „rescue“ ПКИ су имали више вредности TnI у поређењу са осталим подгрупама, узевши у обзир да је код њих исхемија дуже трајала, али и да се парцијално одиграо “wash out” феномен након давања фибрино- литика.

Значајно нижи морталитет код примарне ангиопластике, али не и фибринолизе је нађен у CARDINAL (Complement And ReDuction of INfarct size after Angioplasty or Lytics) студији која је била дизајнирана као две посебне подстудије за фибринолизу одн. примарну ПКИ у ИМ. Објашњење за ову разлику је свакако везано за различит процес реперфузије у ове две групе. Наиме, реперфузија узрокована фибринолизом је спорија и често интермитентна, док се код примарне ПКИ проходност артерије много брже успоставља, а самим тим и реперфузија. Овај налаз је потврђен и у COMMA (COMplement inhibition in Myocardial infarction treated with Angioplasty) студији која је показала да се код болесника са примарном ПКИ брзо постизала комплетна ST сегмент резолуција. Међутим, у случају да је примарна ПКИ удружена са дисталном емболи- зацијом, посебно при имплантацији стента, реперфузија је продужена што одражава поремећај ендотелне функције и микроваскуларну инфламацију.^{240, 241}

6.10. БИОМАРКЕРИ И ТИМІ ПРОТОК НАКОН РЕПЕРФУЗИОНЕ ТЕРАПИЈЕ

Одржавање повишених вредности D-димера након примарне ПКИ показало се као предиктор лоше шестомесечне прогнозе.²⁴² Код болесника у овој студији након

реперфузионих процедура, код оних код којих није постигнут оптимални TIMI 3 проток, једино су каталаза и D-димер били значајно повишени. Један од разлога могао би да буде „slow“ или „no-reflow“ феномен, због чега долази до континуираног ослобађања мањих количина ових маркера из оштећених подручја у периферну крв. Повишени нивои каталазе говоре у прилог израженом оксидативном стресу код ових пацијената, јер је овај антиоксидативни ензим одговоран за брз, адаптивни одговор на повишен садржај ROS.^{48, 91}

Концентрација MDA је била виша код болесника са оптималним TIMI протоком у односу на остале. Вероватно да је проходна артерија одговорна за инфаркт, омогућила „washout“ за липидне пероксиде настале дејством ROS.

Није било значајне разлике у преваленци интрахоспиталних компликација и двогодишњег морталитета код болесника са оптималним и субоптималним TIMI протоком. Наиме, могуће је да код болесника са TIMI 3 протоком није постигнут микроциркуларни проток и адекватна миокардна перфузија. Адекватан проток кроз епикардне крвне судове се новим техникама и помоћним фармаколошким средствима постиже у 95% болесника. Међутим око 40% болесника не постиже микроваскуларну и миокардну перфузију што се класификује као „slow“ или „no-reflow“ у најтежим случајевима.²⁴⁰

Има података да ET-1 учествује у важним механизмима настанка „no-reflow“ феномена. Сматра се да прво долази до појачаног ослобађања ET-1 из исхемија-реперфузијом оштећеног ендотела, што доводи до снажне и постојане микроваскуларне констрикције. Затим, ослобођени ET-1 активира полиморфонуклеарне леукоците и стимулише њихову адхезију за ендотел појачавајући експресију интегрина CD11b/18 на површини ових ћелија с једне стране, а са друге, индукује ослобађање еластазе, ензима који посредује у ткивном оштећењу. Ендотелин-1 може да повећава микроваскуларну пермеабилност што доводи до настанка едема и микроваскуларне компресије. У неким студијама је доказано да карведилол смањује ниво ET-1 као и предео захваћен исхемијско-реперфузионим оштећењем делујући преко K_{ATP} зависних канала.²⁴¹

За разлику од претходних студија, у овој није нађена разлика у концентрацијама ET-1 код болесника са и без TIMI 3 протока добијеног на крају реперфузионе терапије. Могуће је и да се TIMI проток побољшао након иницијалне процедуре употребом медикаментозне терапије.

6.11. ВРЕДНОСТИ ИСПИТИВАНИХ БИОМАРКЕРА И ЕЈЕКЦИОНА ФУНКЦИЈА ЛЕВЕ КОМОРЕ

Најбољи предиктор очуваности функције леве коморе након реперфузионе терапије јесте управо миокардна перфузија.²⁴¹ Код болесника са очуваном систолном функцијом, тј. код оних са $LVEF \geq 45\%$, уочене су повишене вредности NOx, тиолних група, и ниже вредности MDA, AOPP, BNP, TnI и ET-1. Ендотелин-1 је такође био у корелацији са LVEF у студији Omlanda и сар.¹¹⁹ У другој студији показано је да оштећење систолне функције леве коморе повећава притисак у левој преткомори, што је стимулус за ослобађање ET-1 и натриуретских молекула.²⁴³ То даје за право тврдњама да је ET-1, као маркер ендотелне дисфункције, повишен пропорционално степену тежине АИМ, независно од Килип класе и претходне историје болести.²³

Протективне тиолне групе и NOx су били повишени код болесника са већом EFLK. Ниже концентрације оксидационих продуката, као што су MDA и AOPP, свакако указују на мањи степен оксидативног стреса и/или ефикасније одн. активније антиоксидативне механизме. Логично је да овакве промене прати мањи пораст TnI.

6.12. ПРОМЕНЕ У ВРЕДНОСТИМА БИОМАРКЕРА И ИНТРАХОСПИТАЛНЕ КОМПЛИКАЦИЈЕ КОД БОЛЕСНИКА СА АИМ

Код болесника са интрахоспиталним компликацијама постојале су статистички значајно повишене вредности TnI у односу на испитанике који нису имали ове компликације. Највећи пораст у вредностима овог биомаркера запажен је код болесника са механичким и ехокардиографски уоченим компликацијама. Тропонин I је био снажан предиктор тридесетодневне прогнозе у ИМ.²³ Сличне резултате објавили су Feng и сар.²⁴⁴ и истакли су да су пацијенти са STEMI, имали изражен пораст не само TnI, него и СК-МВ. За разлику од наших испитивања где су продукти оксидације липида и протеина у подгрупи болесника са интрахоспиталним компликацијама имали значајно снижене вредности, овде је показано да AOPP корелирају са порастом TnI и СК-МВ, односно, позитивно корелирају са “pain to hospital” временом. Показано је и да су високе вредности AOPP биле удружене са повећаном инциденцом тешких нежељених догађаја и снижењем LVEF током шест месеци праћења, што се тумачи интензивирањем оксидативног стреса због пролонгираног исхемијског времена, упркос хитној ПКИ. Из ових разлога се предлаже одређивање AOPP на самом пријему, као значајног предиктора лоше прогнозе.²⁴⁴ Друга група аутора сматра да AOPP могу бити

доприносећи фактори у даљој прогресији атеросклерозе, и у и могућем развоју бубрежних оштећења. Они су показали да код болесника на хируршком третману коронарне болести, концентрације овог оксидисаног продукта су биле повишене и до седам дана од оперативног захвата.²⁴⁵ Међутим, у мултиваријантној анализи снижен АОРР је био независни предиктор удружен са повећаним ризиком за све интрахоспиталне компликације. Добијени резултати у овом испитивању могу се објаснити одређивањем овог биомаркера тек након 72 часа од пријема, што је са једне стране везано за интензивније укључивање ензимских и неензимских компоненти антиоксидативног система, а са друге стране, смањењем биорасположивости овог једињења у условима повећања његовог клиренса као последице индукције супстратом.

Нађена је позитивна корелација вредности триглицерида са холестеролом и MDA. Снижење вредности триглицерида се може објаснити повећаном продукцијом соматотропног хормона у условима стреса, који директно утиче на метаболизам масти, убрзавајући разградњу триглицерида.²⁴⁶

Што се тиче компоненти антиоксидативног система, пре свега GPx, она није показивала значајан пораст са интрахоспиталним компликацијама. Могуће је да је њена потрошња у овим условима већа, јер се укључује у процес уклањања продуката липидне пероксидације.²⁴⁷ Овај ефекат може бити у вези са поремећајем протока кроз веће епикардне коронарне крвне судове и микроциркулаторну мрежу, што може резултирати у постепеном, али континуираном, ослобађању мањих количина продуката липидне пероксидације из исхемичног и некротичног миокарда. У униваријантној анализи активност GPx и концентрација MDA су имали предиктивни значај код пацијената са интрахоспиталним компликацијама. Могуће повишење активности GPx у субакутној фази ИМ, у условима када постоји теже оксидативно оштећење, се може објаснити појавом „уп“ регулације. Резултати ових истраживања се слажу са подацима појединих студија које су доказале да је низак ниво GPx-1 активности у еритроцитима независан предиктор будућих кардиоваскуларних догађаја.²⁴⁸

Што се тиче промена у маркерима ендотелне дисфункције, очекивано је да су болесници са интрахоспиталним компликацијама имали више вредности ET-1 и NOx. Такође, вредности ET-1 су биле повишене код болесника који су имали механичке и ехокардиографски уочене компликације. Пацијенти који су имали аритмије и спроводне сметње, имали су статистички значајно више вредности ET-1 у односу на оне без аритмија и спроводних сметњи. Овај налаз се слаже са резултатима испитивања појединих аутора који су нашли да пораст концентрације ET-1 има проаритмијски ефекат у

АИМ.⁶⁵ Пораст вредности ЕТ-1 у плазми је била праћена статистички значајним порастом концентрације натријумових јона. С обзиром на то да физиолошки ефекти ЕТ-1 у бубрегу јесу стимулација натриурезе и вазодилатација, настанак овог ефекта може се објаснити појавом такозване јатрогене хипернатремије, због значајног пада крвног притиска код болесника са АИМ, односно, поремећајима срчаног ритма и терапијским третманом јер су ови пацијенти добијали 0,9% раствор NaCl у циљу одржања перфузије миокарда, или су пак ти раствори служили као дилуенси за парентералну терапију антиаритмицима. Више вредности натријума (повећање за 1 mmol/L је било удружено са 1,5 пута већим ризиком) и снижен дијастолни крвни притисак (снижење за 1 mmHg је било удружено са 5.6% повећаним ризиком) су били независни показатељи повишеног ризика од тежих поремећаја срчаног ритма и спровођења (VT, VF, потреба за сталним пејсмејкером). То је у супротности са ранијим саопштењима где су болесници са STEMI имали хипонатремију на пријему, а у наредним данима вредности Na⁺ јона су се нормализовале. Налаз дилуционе хипонатремије у неким истраживањима се може објаснити повећаним задржавањем слободне воде због активације антидиуретског хормона.²⁴⁹

Фон Вилебрандов фактор који је одређиван као и као параметар ендотелне дисфункције, али и хемостазе, показао је значајан пораст вредности у клиничкој групи. Међутим, код болесника са реинфарктом током хоспитализације, његове вредности су биле значајно снижене, што се може објаснити испражњеним депоима овог фактора и неспособношћу оштећених ендотелних ћелија да га брзо ресинтетишу. Свакако да се не може искључити и значај примењене медикаментозне терапије. Овај налаз се слаже и са подацима других аутора који су код пацијената са коронарном ангиопластиком и стентирањем, нашли повећање vWF и фактора ендотелне дисфункције.²⁵⁰ Он учествујући у груписању и адхезији тромбоцита на местима васкуларног оштећења, директно стимулише процес тромбогенезе.²⁵⁰ Могуће да код болесника са ин-стент тромбозом због пораста потрошње на месту ендотелне повреде и стварања тромба долази до опадања његове вредности у периферној циркулацији. Смањење дијастолног (пад за 1 mmHg повећава ризик за 2,7%) и систолног крвног притиска (снижење за 1 mmHg повећава ризик за 1,7%), као и TIMI 3 проток vs. TIMI 1 проток (15 пута мањи ризик код проходне артерије) су били удружени повећаним ризиком од интрахоспиталних компликација у униваријантном моделу. Значајно снижење дијастолног крвног притиска може имати врло негативан утицај на исход код болесника са ИМ који имају компромитовану коронарну резерву.²⁵¹ Показано је да је пад крвног притиска чешћи код

захватања инфарктом инфериорног зида са или без захватања десне коморе, што је у складу са нашим резултатима. Управо су то били болесници који су због спроводних сметњи често захтевали имплантацију сталног пејсмејкера.

У мултиваријантном моделу је показано да је ризик од реинфаркта услед ин-стент тромбозе био удружен са повишеним UACR нивоима. Добијени резултати су у складу са онима из Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 (PROVE IT-TIMI 22) подстудије који су показали да је код болесника са АКС патолошка албуминурија удружена са повишеним ризиком од срчане слабости, реинфаркта, CVI и повишеним ризиком од морталитета.²⁵² Снижен ВМІ је такође у регресионој анализи био независан предиктор ин-стент тромбозе. Иако није било значајних разлика у вредностима ВМІ клиничке и контролне групе, у мултиваријантном моделу се показало да су болесници са сниженим вредностима овог индекса имали лошију прогнозу од оних са вишим вредностима ВМІ. Показано је и од стране других аутора да болесници са коронарном болешћу и умерено повишеним ВМІ или чак гојазни, имају бољу краткорочну и дугорочну прогнозу.^{253, 254}

6.13. БИОМАРКЕРИ И МОРТАЛИТЕТ У АИМ

Код болесника који су умрли током две године праћења вредности ЕТ-1 су биле значајно повишене, што је у складу са наводима из литературе да одржавање високих вредности ЕТ-1 у циркулацији, након АИМ, јесте удружено са појавом интрахоспиталних компликација и лошом једногодишњом прогнозом.¹¹⁶ Према објављеним подацима, највиши ниво ЕТ-1 је измерен код болесника са кардиогеним шоком.^{255, 256} Вредности ЕТ-1 > 3,81 pg/mL у ROC анализи су имале најбољу сензитивност и специфичност за двогодишњи морталитет у нашем истраживању. Концентрације ЕТ-1 испод 75. перцентила (ЕТ-1 < 3,77 pg/mL) су биле удружене са повољном прогнозом, односно, двогодишњим преживљавањем без рехоспитализација, као и са интрахоспиталним преживљавањем без интрахоспиталних компликација. Ови налази потврђују да одређивање ЕТ-1 у АИМ има велики значај у стратификацији ризика у интрахоспиталној и дугорочној прогнози.

Различита су мишљења о пореклу повишеног нивоа плазма ЕТ-1 након АИМ. Постоје докази да се ЕТ-1, у *in vitro* условима, ослобађа из исхемијског миокарда. Са друге стране, у срчаној слабости је нађено да смањен плућни клиренс ЕТ-1 доприноси порасту овог пептида у плазми.^{118, 257} Watanabe и сар.²⁵⁸ су нашли на анималном моделу

да је рани постинфарктни ниво ET-1 у срцу значајно повишен. Један сат након лигатуре коронарне артерије, садржај ET-1 у миокарду расте неколико пута. Студије на анималним моделима су потврдиле да постоји рана и значајана ET-1 активација у некротичној зони, са пиком седам дана након АИМ. Нивои mРНК за ET-1 су били седам пута већи у некротичном, него у вијабилном делу миокарда, а у поређењу са здравим срцем, његови нивои су били повишени педесет пута. Механизам тако брзе активације ET-1 након исхемије је недовољно јасан. Главни стимулус за ET-1 активацију је свакако исхемија, *per se*, делујући преко повећаног ослобађања транскрипционог фактора, односно, хипоксијом-индукованог фактора 1-алфа. Под утицајем овог фактора долази до директне активације генске транскрипције ендотелина-1 у кардиомиоцитима. Не може се заобићи и улога ангиотензина II, који у условима исхемије, доводи до стимулације секреције ET-1. У условима *in vitro*, показано је да је ефекат ангиотензина II на хипертрофију у миокарду и систему малих артерија, бар делом посредован ET-1.^{145, 259, 260}

Повишен UACR однос је био удружен са повишеним ризиком од дугорочног морталитета, а у мултиваријантној логистичкој регресионој анализи, се издвојио као једини независни предиктор интрахоспиталног морталитета. Овај налаз је у складу и са ранијим студијама. Пораст овог маркера показује да код болесника са АИМ постоји повишена пермеабилност васкулатуре, повишена активност инфламаторних фактора, а свакако важне су и измене у хемодинамици.²⁶¹

Доказано је да код болесника са АИМ постоји дисбаланс у про- и антиоксидативној активности. Најзначајније промене нађене су у антиоксидативној активности, где је доказано да активност SOD значајно расте трећег дана од иницијалног догађаја, код болесника који су умрли током две године праћења. Резултати других аутора су указали на постојање повишеног оксидативног стреса и код болесника са стабилном коронарном болешћу, без обзира на терапијски третман. Углавном су налазили да су повећане концентрације oxLDL и да су његове вредности корелисале са повишеном активношћу SOD и GPx, као антиоксидативних ензима. Сматра се да је иницијално смањење активности антиоксидативних ензима, након исхемија-реперфузије, праћено повећањем њихове активности. Индукција активности ових ензима може бити значајан механизам којим се штите кардиомиоцити након инфаркта миокарда.²⁴⁷ Према томе, интензивнија продукција ROS код болесника на повишеном ризику од смртног исхода, води до израженије експресије SOD активности.

Супротно од пораста активности SOD, концентрација тиолних група је била значајно снижена трећег дана од инфаркта миокарда, код оних болесника који су умрли

током две године праћења. Снижење антиоксидативног капацитета тиолних група, као не-ензимских антиоксиданаса, може се објаснити повећаном потрошњом ових компоненти у току прва три дана, када је највећа експресија нитрозативног стреса.

Као маркер од значаја за двогодишњи mortalитет, издвојио се и D-димер, што је у складу са подацима из литературе да су повишени маркери формирања тромбина, у које спада и овај маркер, фактори ризика за будуће кардиоваскуларне догађаје и код здравих испитаника.²⁶² Повишен D-димер је био повезан са повећаним дугорочним mortalитетом (29 месеци) код болесника са NSTEMI или нестабилном ангином пекторис.²⁶³ Међутим, има и супротних мишљења, као у студији Tello-Montoliu и сар.²⁶⁴ који нису нашли повезаност D-димера са прогнозом код NSTEMI болесника. Аутори су сматрали да је рано узорковање крви за D-димер (првих 36h) један од разлога за такве налазе, јер у то време многи пацијенти добијају терапију која утиче на вредност D-димера (хепарин, антиромботска терапија).

У мултиваријантној анализи своју предиктивну независност за двогодишњи mortalитет задржало је постојање ангине пекторис у анамнези. Болесници са ангином пекторис очекивано имају и већу вероватноћу за двогодишњи mortalитет. Подаци из европских регистара указују на то да је код болесника са стабилном коронарном болешћу годишњи mortalитет између 1,2-2,4%, од чега на кардиоваскуларни mortalитет отпада 0,6 до 1,4%.²⁶⁵

Од посебног значаја у овој студији је налаз снижене вредности серумског калијума, за који се показало у униваријантном моделу, да је фактор удружен са повећаним интрахоспиталним mortalитетом. Мали је број литературних података који су обрађивали проблем хипокалијемije у АИМ, али се сви слажу, да хипокалијемija повећава ризик од морбидитета и mortalитета код болесника са овом болешћу.

Измене у интра- и екстраћелијској концентрацији калијума, свакако, модификују електрофизиолошка својства мембране и значајно доприносе појави вентрикуларних аритмија. Стога, савремени водичи саветују да се ниво калијума у серуму одржава на >4 mEq/L или чак >4,5 mEq/L, код болесника са АИМ. Постоје саопштења да су концентрације калијумових јона до 5 mmol/L удружене са најнижом стопом mortalитета код болесника са АИМ.²⁶⁶

6.14. БИОМАРКЕР И РЕХОСПИТАЛИЗАЦИЈЕ ТОКОМ ДВЕ ГОДИНЕ ПРАЋЕЊА

Од праћених параметара, као зависни предиктор рехоспитализација, издвојила се снижена концентрација NOx. Азот-моноксид има значајну улогу у модулацији васкуларног тонуса и миокардне функције. У нормалним околностима мале количине NO су довољне да уклоне супероксидне радикале продуковане у миокарду. Међутим, у патолошким стањима, супероксид анјон је способен да реагује са већим делом или са целом количином продукованог NO, доводећи до формирања реактивних нитрогених интермедијерних једињења. То за последицу има смањење биорасположивости NO и истовремено доводи до оштећења процеса ендотел-зависне вазодилатације. Поједини аутори су саопштили да се пораст активности NAD(P)H оксидазе налази код болесника са АИМ, као и да је њена активност важна у повећаној продукцији супероксида, али и у активацији ангиотензин-алдостерон система.²⁶⁷ Може се претпоставити да код болесника са лошом прогнозом, који ће бити касније рехоспитализовани, долази брже до снижења нивоа азот-моноксида, услед перзистирања израженог про-оксидантног окружења, три дана након иницијалног догађаја.

Као независни предиктор рехоспитализација током две године праћења, издвојило се се постојање претходног инфаркта у анамнези, као и снижена ејекциона фракција леве коморе, што је у складу са саопштењима из претходних студија.^{211, 268}

6.15. КОРЕЛАЦИЈА МАРКЕРА ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА, ИНФЛАМАЦИЈЕ, ЕНДОТЕЛНЕ ДИСФУНКЦИЈЕ, МИОКАРДНЕ НЕКРОЗЕ И ХЕМОДИНАМСКИХ ПОРЕМЕЋАЈА - МУЛТИМАРКЕР ПРИСТУП

Мултимаркер стратегија која је примењена у овој студији, показала је своју оправданост, имајући у виду то да је комбинација маркера некрозе, као најчешће одређиваних, показала висок степен корелације са маркерима инфламације и маркерима процене хемодинамског оштећења. Посебан значај у овој обради пацијената има проширење батерије коришћених маркера (ендотелне дисфункције, оксидативног стреса и хемостазе) који су показали високи степен позитивне корелације са маркерима некрозе, инфламације и хемодинамског оштећења. До данас је у већини студија испитивана комбинација Tn I са још једним маркером, као што је CRP или BNP/NT-proBNP, те је указано на то да повишене вредности CRP и BNP/NT-proBNP на пријему у болницу, идентификују пацијенте који имају висок ризик од морталитета, независно од тога да

ли је тропонин повишен у том тренутку. То јасно указује да одређивање маркера инфламације и хемодинамских поремећаја, значајно побољшава стратификацију ризика.^{25, 269-272} Неки аутори сматрају да би одређивање сва три поменути маркера издвојило болеснике са високим ризиком од морталитета. Високо сензитивни CRP, у нашој студији, корелисао је са hsTnI, BNP, али и са D-димером и vWF. Од великог значаја је и позитивна корелација ET-1 са концентрацијама TnI, BNP и бројем леукоцита. Постојала је позитивна корелација тиолних група и продуката оксидативног стреса, што је свакако везано за промене механизма оксидативне и антиоксидативне активности у условима акутног инфаркта миокарда. Сваки од поменутих маркера је имао улогу у прогнози ових болесника. Њихова корелација може указивати на сличне етиопатогенетске механизме у настанку самог АИМ, односно његових последица.

7. ЗАКЉУЧЦИ

Анализом добијених података могу се извести следећи закључци:

- Акутни инфаркт миокарда је патолошко стање у чијој етиопатогенези учествују бројни механизми, почев од исхемије и некрозе, инфламације, ендотелне дисфункције, оксидативног стреса до поремећаја хемостазе и хемодинамике. Одређивање биомаркера је од директне помоћи у бољем сагледавању, како краткорочне тако и дугорочне прогнозе, код болесника са акутним инфарктом.
- Од маркера ендотелне дисфункције, ендотелин-1 је имао највећи предиктивни значај и показивао је највећу сензитивност и специфичност, не само у предикцији двогодишњег морталитета, него и у предикцији интрахоспиталних компликација и интрахоспиталног морталитета.
- Деградациони продукти азот-моноксида показивали су значајне промене код болесника са инфарктом миокарда, а снижене вредности су биле директно удружене са ризиком од рехоспитализација, током две године праћења.
- Повишене вредности уринарног албумин-креатинин односа су биле удружене, не само са већим ризиком од интрахоспиталног и двогодишњег морталитета, него и са повећаним ризиком од развоја реинфаркта услед ин-стент тромбозе.
- Антиоксидативна активност не-ензимског и ензимског типа је добар показатељ дисбаланса оксидативне и антиоксидативне активности у болесника са акутним инфарктом миокарда, и у прилог овоме говори повишена активност супероксиддизмутазе и њена удруженост са повећаним ризиком од двогодишњег морталитета. Значајно снижење антиоксидативног потенцијала плазме је било удружено са повишеним ризиком од двогодишњег морталитета након акутног инфаркта миокарда.

- Укупном оксидативном стресу доприносио је и значајан пораст концентрације малондиалдехида, код болесника са акутним инфарктом миокарда, мада је постојала значајна разлика у вредности овог маркера код болесника са повишеним ризиком од механичких и ехокардиографски уочљивих компликација.
- Узнапредовали оксидациони продукти протеина показивали су ниже вредности код болесника који су умрли током две године праћења, као и код оних на ризику од настанка интрахоспиталних компликација.
- Снижене вредности серумског калијума су биле удржене са повишеним ризиком од настанка интрахоспиталних компликација, у униваријантном моделу. Одржавање адекватног електролитног баланса, у акутном инфаркту миокарда, може утицати на прогнозу у овој болести.

8. ЛИТЕРАТУРА

1. Townsend N, Nichols M, Scarborough P, Rayner M. Cardiovascular disease in Europe 2015: epidemiological update. *Eur Heart J* 2015;36(40):2673-4.
2. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;92:657-71.
3. Little WC, Constantinescu M, Applegate RJ, Kutcher MA, Burrows MT, Kahl FR, Santamore WP. Can coronary angiography predict the site of a subsequent myocardial infarction in patients with mild-to-moderate coronary artery disease? *Circulation* 1988;78:1157-66.
4. Ambrose JA, Tannenbaum MA, Alexopoulos D, Hjemdahl-Monsen CE, Leavy J, Weiss M, Borricco S, Gorlin R, Fuster V. Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1988;12:56-62.
5. Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, Weber DK, Malcom GT, Smialek J, Virmani R. Healed plaque ruptures and sudden coronary death: evidence that subclinical rupture has a role in plaque progression. *Circulation* 2001;103:934-40.
6. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995;92:1355-74.
7. Tuzcu EM, Kapadia SR, Tutar E, Ziada KM, Hobbs RE, McCarthy PM, Young JB, Nissen SE. High prevalence of coronary atherosclerosis in asymptomatic teenagers and young adults: evidence from intravascular ultrasound. *Circulation* 2001;103:2705-10.
8. McGill HC Jr, McMahan CA, Zieske AW, Tracy RE, Malcom GT, Herderick EE, Strong JP. Association of Coronary Heart Disease Risk Factors with microscopic qualities of coronary atherosclerosis in youth. *Circulation* 2000;102:374-9.
9. Davies MJ, Woolf N, Rowles PM, Pepper J. Morphology of the endothelium over atherosclerotic plaques in human coronary arteries. *Br Heart J* 1988;60:459-64.
10. Sata M, Saiura A, Kunisato A, Tojo A, Okada S, Tokuhisa T, Hirai H, Makuuchi M, Hirata Y, Nagai R.. Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis. *Nat Med* 2002;8:403-9.
11. O'Brien KD, Olin KL, Alpers CE, Chiu W, Ferguson M, Hudkins K, Wight TN, Chait A. Comparison of apolipoprotein and proteoglycan deposits in human coronary atherosclerotic plaques: colocalization of biglycan with apolipoproteins. *Circulation* 1998;98:519-27.
12. Kockx MM, De Meyer GR, Muhring J, Jacob W, Bult H, Herman AG. Apoptosis and related proteins in different stages of human atherosclerotic plaques. *Circulation* 1998;97:2307-15.
13. Schoenhagen P, Ziada KM, Vince DG, Nissen SE, Tuzcu EM. Arterial remodeling and coronary artery disease: the concept of "dilated" versus "obstructive" coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:297-306.
14. Schoenhagen P, Ziada KM, Kapadia SR, Crowe TD, Nissen SE, Tuzcu EM. Extent and direction of arterial remodeling in stable versus unstable coronary syndromes: an intravascular ultrasound study. *Circulation* 2000;101:598-603.
15. Kitta Y, Obata JE, Nakamura T, Hirano M, Kodama Y, Fujioka D, Saito Y, Kawabata K, Sano K, Kobayashi T, Yano T, Nakamura K, Kugiyama K. Persistent impairment of endothelial vasomotor function has a negative impact on outcome in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:323-30.
16. Ihling C, Szombathy T, Bohrmann B, Brockhaus M, Schaefer HE, Loeffler BM. Coexpression of endothelin-converting enzyme-1 and endothelin-1 in different stages of human atherosclerosis. *Circulation* 2001;104:864-9.
17. Mathew V, Cannan CR, Miller VM, Barber DA, Hasdai D, Schwartz RS, Holmes DR Jr, Lerman A. Enhanced endothelin-mediated coronary vasoconstriction and attenuated basal nitric oxide activity in experimental hypercholesterolemia. *Circulation* 1997;96:1930-6.

18. Paoletti R, Gotto AM Jr, Hajjar DP. Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy. *Circulation* 2004;109:III20-26.
19. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352:1685-95.
20. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol* 2009;54(23):2129-38.
21. Weber C, Noels H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med* 2011;17:1410-22.
22. Zhang Z, Yang Y, Hill MA, Wu J. Does C-reactive protein contribute to atherothrombosis via oxidant-mediated release of pro-thrombotic factors and activation of platelets? *Front Physiol* 2012;3:433.
23. Chan D, Ng LL. Biomarkers in acute myocardial infarction. *BMC Med* 2010;8:34.
24. Tsimikas S, Willerson JT, Ridker PM. C-reactive protein and other emerging blood biomarkers to optimize risk stratification of vulnerable patients. *J Am Coll Cardiol* 2006;47(8 Suppl):C19-31.
25. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, Gibson CM, Murphy SA, Rifai N, McCabe C, Antman EM, Cannon CP, Braunwald E. Multimarker approach to risk stratification in non-ST elevation acute coronary syndromes: simultaneous assessment of troponin I, C-reactive protein, and B-type natriuretic peptide. *Circulation* 2002;105:1760-3.
26. Hasin Y, Biasucci LM, Giannitsis E, Lindahl B, Koenig W, Tubaro M, Collinson P, Katus H, Galvani M, Venge P, Alpert JS, Hamm C, Jaffe AS. Recommendations for the use of natriuretic peptides in acute cardiac care: a position statement from the Study Group on Biomarkers in Cardiology of the ESC Working Group on Acute Cardiac Care. *Eur Heart J* 2011;10.1093/eurheartj/ehq509.
27. Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, Venge P, Wallentin L. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* 2000;343:1139-47.
28. Jaffe EA. Cell biology of endothelial cells. *Hum Pathol* 1987;18:234-9.
29. Diaz M, Frei B, Vita JA, Keaney JF Jr. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *N Engl J Med* 1997;337:408-16.
30. Gross PL, Aird WC. The endothelium and thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2000;26:463-78.
31. Yano K, Gale D, Massberg S, Cheruvu PK, Monahan-Earley R, Morgan ES, Haig D, von Andrian UH, Dvorak AM, Aird WC. Phenotypic heterogeneity is an evolutionarily conserved feature of the endothelium. *Blood* 2007;109:613-5.
32. Weninger W, Ulfman LH, Cheng G, Souchkova N, Quackenbush EJ, Lowe JB, von Andrian UH. Specialized contributions by alpha(1,3) fucosyltransferase-IV and FucT-VII during leukocyte rolling in dermal microvessels. *Immunity* 2000;12:665-76.
33. Florey L. The endothelial cell. *Br Med J* 1966;2:487-90.
34. Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science* 1973;180:1332-9.
35. Gimbrone MA Jr. Endothelial Dysfunction and the Pathogenesis of Atherosclerosis. In: Gimbrone MA Jr (Ed), Smith LC, Allen B. Atherosclerosis V. New York: Springer-Verlag; 1980: 415-25.
36. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, Ganz P. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986;315:1046-51.
37. Janssens SP, Shimouchi A, Quertermous T, Bloch DB, Bloch KD. Cloning and expression of a cDNA encoding human endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 1992;267:14519-22.
38. Förstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, Kleinert H. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension* 1994;23:1121-31.

39. Reis SE, Holubkov R, Lee JS, Sharaf B, Reichek N, Rogers WJ, et al. Coronary flow velocity response to adenosine characterizes coronary microvascular function in women with chest pain and no obstructive coronary disease. Results from the pilot phase of the Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) study. *J Am Coll Cardiol* 1999;33:1469-75.
40. Siekmeier R, Grammer T, März W. Roles of oxidants, nitric oxide, and asymmetric dimethylarginine in endothelial function. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2008;13(4):279-97.
41. Moroi M, Zhang L, Yasuda T, Virmani R, Gold HK, Fishman MC, Huang PL. Interaction of genetic deficiency of endothelial nitric oxide, gender, and pregnancy in vascular response to injury in mice. *J Clin Invest* 1998;101:1225-32.
42. von der Leyen HE, Gibbons GH, Morishita R, Lewis NP, Zhang L, Nakajima M, Kaneda Y, Cooke JP, Dzau VJ. Gene therapy inhibiting neointimal vascular lesion: in vivo transfer of endothelial cell nitric oxide synthase gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:1137-41.
43. Vergnani L, Hatric S, Ricci F, Passaro A, Manzoli N, Zuliani G, Brovkovych V, Fellin R, Malinski T. Effect of native and oxidized low-density lipoprotein on endothelial nitric oxide and superoxide production: key role of L-arginine availability. *Circulation* 2000;101:1261-6.
44. Landmesser U, Spiekermann S, Dikalov S, Tatge H, Wilke R, Kohler C, Harrison DG, Hornig B, Drexler H. Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: role of xanthine-oxidase and extracellular superoxide dismutase. *Circulation* 2002;106:3073-8.
45. Li L, Chen W, Rezvan A, Jo H, Harrison DG. Tetrahydrobiopterin deficiency and nitric oxide synthase uncoupling contribute to atherosclerosis induced by disturbed flow. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:1547-54.
46. Tiefenbacher CP, Bleeke T, Vahl C, Amann K, Vogt A, Kübler W. Endothelial dysfunction of coronary resistance arteries is improved by tetrahydrobiopterin in atherosclerosis. *Circulation* 2000;102:2172-9.
47. Hein TW, Zhang C, Wang W, Chang CI, Thengchaisri N, Kuo L. Ischemia-reperfusion selectively impairs nitric oxide-mediated dilation in coronary arterioles: counteracting role of arginase. *FASEB J* 2003;17:2328-30.
48. Bonomini F, Tengattini S, Fabiano A, Bianchi R, Rezzani R. Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol Histopathol* 2008;23(3):381-90.
49. Schulze F, Lenzen H, Hanefeld C, Bartling A, Osterziel KJ, Goudeva L, Schmidt-Lucke C, Kusus M, Maas R, Schwedhelm E, Strödter D, Simon BC, Mügge A, Daniel WG, Tillmanns H, Maisch B, Streichert T, Böger RH. Asymmetric dimethylarginine is an independent risk factor for coronary heart disease: results from the multicenter Coronary Artery Risk Determination investigating the Influence of ADMA Concentration (CARDIAC) study. *Am Heart J* 2006;152:493.e1-8.
50. Böger RH, Lentz SR, Bode-Böger SM, Knapp HR, Haynes WG. Elevation of asymmetrical dimethylarginine may mediate endothelial dysfunction during experimental hyperhomocyst(e)inaemia in humans. *Clin Sci (Lond)* 2001;100:161-7.
51. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332(6163):411-5.
52. Komuro I, Kurihara H, Sugiyama T, Yoshizumi M, Takaku F, Yazaki Y. Endothelin stimulates c-fos and c-myc expression and proliferation of vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1988;238:249-52.
53. Fukuroda T, Fujikawa T, Ozaki S, Ishikawa K, Yano M, Nishikibe M. Clearance of circulating endothelin-1 by ETB receptors in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;199:1461-5.
54. Bhandari SS, Davies JE, Struck J, Ng LL. Plasma C-terminal proEndothelin-1 (CTproET-1) is affected by age, renal function, left atrial size and diastolic blood pressure in healthy subjects. *Peptides* 2014;52:53-7.
55. Charron P, Tesson F, Poirier O, Nicaud V, Peuchmaurd M, Tiret L, Cambien F, Amouyel P, Dubourg O, Bouhour J, Millaire A, Juilliere Y, Bareiss P, André-Fouët X, Pouillart F, Arveiler D, Ferrières J, Dorent R, Roizès G, Schwartz K, Desnos M, Komajda M. Identification of a genetic risk factor for idiopathic dilated cardiomyopathy. Involvement of a poly-

- morphism in the endothelin receptor type A gene. CARDIGENE group. *Eur Heart J* 1999; 20:1587-91.
56. Colucci WS. Myocardial endothelin. Does it play a role in myocardial failure? *Circulation* 1996;93:1069-72.
 57. Karne S, Jayawickreme CK, Lerner MR. Cloning and characterization of an endothelin-3 specific receptor (ETC receptor) from *Xenopus laevis* dermal melanophores. *J Biol Chem* 1993; 268:19126-33.
 58. Bialecki RA, Fisher CS, Murdoch WW, Barthlow HG, Bertelsen DL. Functional comparison of endothelin receptors in human and rat pulmonary artery smooth muscle. *Am J Physiol* 1997 ;272:L211-L218.
 59. de Nucci G, Thomas R, D'Orleans-Juste P, Antunes E, Walder C, Warner TD, Vane JR. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:9797-800.
 60. Kinlay S, Behrendt D, Wainstein M, Beltrame J, Fang JC, Creager MA, Selwyn AP, Ganz P. Role of endothelin-1 in the active constriction of human atherosclerotic coronary arteries. *Circulation* 2001;104:1114-18.
 61. Teerlink JR. Endothelins: pathophysiology and treatment implications in chronic heart failure. *Curr Heart Fail Rep* 2005;2:191-7.
 62. Pieske B, Beyersmann B, Breu V, Löffler BM, Schlotthauer K, Maier LS, Schmidt-Schweda S, Just H, Hasenfuss G. Functional effects of endothelin and regulation of endothelin receptors in isolated human nonfailing and failing myocardium. *Circulation* 1999;99:1802-9.
 63. MacCarthy PA, Grocott-Mason R, Prendergast BD, Shah AM. Contrasting inotropic effects of endogenous endothelin in the normal and failing human heart: studies with an intracoronary ET(A) receptor antagonist. *Circulation* 2000;101:142-7.
 64. Aronson D, Burger AJ. Neurohumoral activation and ventricular arrhythmias in patients with decompensated congestive heart failure: role of endothelin. *Pacing Clin Electrophysiol* 2003; 26:703-10.
 65. McCabe C, Hicks MN, Kane KA, Wainwright CL. Electrophysiological and haemodynamic effects of endothelin ETA and ETB receptors in normal and ischaemic working rabbit hearts. *Br J Pharmacol* 2005;146(1):118-28.
 66. Noll G, Wenzel RR, Lüscher TF. Endothelin and endothelin antagonists: potential role in cardiovascular and renal disease. *Mol Cell Biochem* 1996;157:259-67.
 67. Yang LL, Gros R, Kabir MG, Sadi A, Gotlieb AI, Husain M, Stewart D. Conditional cardiac overexpression of endothelin-1 induces inflammation and dilated cardiomyopathy in mice. *Circulation* 2004;109:255-61.
 68. Ding SS, Qiu C, Hess P, Xi JF, Clozel JP, Clozel M. Chronic endothelin receptor blockade prevents renal vasoconstriction and sodium retention in rats with chronic heart failure. *Cardio-vasc Res* 2002;53:963-70.
 69. Wong NL, Sonntag M, Tsui JK. Attenuation of renal vasopressin V2 receptor upregulation by bosentan, an ETA/ETB receptor antagonist. *Metabolism* 2003;52:1141-6.
 70. Schneider M, Ge Y, Pollock D, Pollock J, Kohan D. Collecting duct-derived endothelin regulates arterial pressure and Na excretion via nitric oxide. *Hypertension* 2008;51:1605-10.
 71. Herizi A, Jover B, Bouriquet N, Mimran A. Prevention of the cardiovascular and renal effects of angiotensin II by endothelin blockade. *Hypertension* 1998;31(1):10-14.
 72. Ertl G, Bauersachs J. Endothelin receptor antagonists in heart failure: current status and future directions. *Drugs* 2004;64(10):1029-40.
 73. Barton M, Yanagisawa M. Endothelin: 20 years from discovery to therapy. *Can J Physiol Pharmacol* 2008;86:485-8.
 74. Zanatta CM, Gerchman F, Burtet L, Nabinger G, Jacques-Silva MC, Canani LH, Gross JL. Endothelin-1 levels and albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2008;80:299-304.
 75. Clavell AL, Mattingly MT, Stevens TL, Nir A, Wright S, Aarhus LL, Heublein DM, Burnett JC Jr. Angiotensin converting enzyme inhibition modulates endogenous endothelin in chronic canine thoracic inferior vena caval constriction. *J Clin Invest* 1996;97:1286-92.

76. Stangl K, Dschietzig T, Richter C, Laule M, Stangl V, Tanis E, Baumann G, Felix SB. Pulmonary release and coronary and peripheral consumption of big endothelin and endothelin-1 in severe heart failure: acute effects of vasodilator therapy. *Circulation* 2000;102:1132-8.
77. Sakai S, Miyauchi T, Kobayashi M, Yamaguchi I, Goto K, Sugishita Y. Inhibition of myocardial endothelin pathway improves long-term survival in heart failure. *Nature* 1996;384:353-5.
78. Wei CM, Lerman A, Rodeheffer RJ, McGregor CG, Brandt RR, Wright S, Heublein DM, Kao PC, Edwards WD, Burnett JC Jr. Endothelin in human congestive heart failure. *Circulation* 1994;89:1580-6.
79. Pousset F, Isnard R, Lechat P, Kalotka H, Carayon A, Maistre G, Escolano S, Thomas D, Komajda M. Prognostic value of plasma endothelin-1 in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* 1997;18:254-8.
80. Ertl G, Bauersachs J. Endothelin receptor antagonists in heart failure: current status and future directions. *Drugs* 2004;64(10):1029-40.
81. Hefke T, Zittermann A, Fuchs U, Schulte-Eistrup S, Gummert JF, Schulz U. Bosentan effects on hemodynamics and clinical outcome in heart failure patients with pulmonary hypertension awaiting cardiac transplantation. *Thorac Cardiovasc Surg* 2012;60:26-34.
82. Kelly JJ, Whitworth JA. Endothelin-1 as a mediator in cardiovascular disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999;26(2):158-61.
83. Battistini B, Daull P, Jeng AY. CGS 35601, a triple inhibitor of angiotensin converting enzyme, neutral endopeptidase and endothelin converting enzyme. *Cardiovasc Drug Rev* 2005;23:317-30.
84. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001;104(22):2673-8.
85. Budas GR, Churchill EN, Mochly-Rosen D. Cardioprotective mechanisms of PKC isozyme-selective activators and inhibitors in the treatment of ischemia-reperfusion injury. *Pharmacol Res* 2007;55(6):523-36.
86. Kajstura J, Cheng W, Reiss K, Clark WA, Sonnenblick EH, Krajewski S, Reed JC, Olivetti G, Anversa P. Apoptotic and necrotic myocyte cell deaths are independent contributing variables of infarct size in rats. *Lab Invest* 1996;74(1):86-107.
87. Maulik N, Yoshida T, Engelman RM, Deaton D, Flack JE 3rd, Rousou JA, Das DK. Ischemic preconditioning attenuates apoptotic cell death associated with ischemia/reperfusion. *Mol Cell Biochem* 1998;186(1-2):139-45.
88. Misra MK, Sarwat M, Bhakuni P, Tuteja R, Tuteja N. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes. *Med Sci Monit* 2009;15(10):RA209-19.
89. Matés JM, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 1999;32(8):595-603.
90. Horiuchi M, Tsutsui M, Tasaki H, Morishita T, Suda O, Nakata S, Nihei S, Miyamoto M, Kouzuma R, Okazaki M, Yanagihara N, Adachi T, Nakashima Y. Upregulation of vascular extracellular superoxide dismutase in patients with acute coronary syndromes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24(1):106-111.
91. Misra MK, Sarwat M, Bhakuni P, Tuteja R, Tuteja N. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes. *Med Sci Monit* 2009;15(10):RA209-219.
92. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996;49:1304-13.
93. Skvarilová M, Bulava A, Stejskal D, Adamovská S, Bartek J. Increased level of advanced oxidation products (AOPP) as a marker of oxidative stress in patients with acute coronary syndrome. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2005;149:83-7.
94. Liu SX, Hou FF, Guo ZJ, Nagai R, Zhang WR, Liu ZQ, Zhou ZM, Zhou M, Xie D, Wang GB, Zhang X. Advanced oxidation protein products accelerate atherosclerosis through promotion of oxidative stress and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1156-62.

95. Barsotti A, Fabbi P, Fedele M, Garibaldi S, Balbi M, Bezante GP, Risso D, Indiveri F, Ghigliotti G, Brunelli C. Role of advanced oxidation protein products and Thiol ratio in patients with acute coronary syndromes. *Clin Biochem* 2011;44(8-9):605-11.
96. Selmeçci L. Advanced oxidation protein products (AOPP): novel uremic toxins, or components of the non-enzymatic antioxidant system of the plasma proteome? *Free Rad Res* 2011;45(10):1115-23.
97. Uchida K. 4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress. *Prog Lipid Res* 2003;42(4):318-43.
98. Tanrıverdi F, Kavaklı HS, Çelik GK, İçme F, Şener A, Karakayalı O, Vural S. Evaluation of serum thiol levels in patients with non ST elevation acute coronary syndrome. *J Exp Clin Med* 2013;30:295-9.
99. Berndt C, Lillig CH, Holmgren A. Thiol-based mechanisms of the thioredoxin and glutaredoxin systems: implications for diseases in the cardiovascular system. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;292(3):H1227-36.
100. Đorđević V, Pavlović D, Kocić G. Antioksidativna zaštita. In: Đorđević V, Pavlović D, Kocić G, editors. Biohemija slobodnih radikala. Niš: Medicinski fakultet Niš; 2000. p. 88-135.
101. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Torzewski M, Hafner G, Tiret L, Smieja M, Cambien F, Meyer J, Lackner KJ; AtheroGene Investigators. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2003;349(17):1605-13.
102. Lubos E, Loscalzo J, Handy DE. Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 2011;15(7):1957-97.
103. Shingu M, Yoshioka K, Nobunaga M, Yoshida K. Human vascular smooth muscle cells and endothelial cells lack catalase activity and are susceptible to hydrogen peroxide. *Inflammation* 1985;9:309-20.
104. Vanhoutte PM, Gao Y. Beta blockers, nitric oxide, and cardiovascular disease. *Curr Opin Pharmacol* 2013;13(2):265-73.
105. Li H, Horke S, Förstermann U. Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention. *Trends Pharmacol Sci* 2013;34(6):313-9.
106. Rafiq K, Sherajee SJ, Hitomi H, Nakano D, Kobori H, Ohmori K, Mori H, Kobara H, Masaki T, Kohno M, Nishiyama A. Calcium channel blocker enhances beneficial effects of an angiotensin II AT1 receptor blocker against cerebrovascular-renal injury in type 2 diabetic mice. *PLoS One* 2013;8(12):e82082.
107. Rochette L, Ghibu S, Richard C, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Direct and indirect antioxidant properties of α -lipoic acid and therapeutic potential. *Mol Nutr Food Res* 2013;57(1):114-25.
108. Ceconi C, Boraso A, Cargnoni A, Ferrari R. Oxidative stress in cardiovascular disease: myth or fact? *Arch Biochem Biophys* 2003;420(2):217-21.
109. Dogru-Abbasoglu S, Kanbagli O, Bulur H, Babalik E, Oztürk S, Aykaç-Toker G, Uysal M. Lipid peroxides and antioxidant status in serum of patients with angiographically defined coronary atherosclerosis. *Clin Biochem* 1999;32:671-2.
110. Nojiri S, Daida H, Mokuno H, Iwama Y, Mae K, Ushio F, Ueki T. Association of serum antioxidant capacity with coronary artery disease in middle-aged men. *Jpn Heart J* 2001;42:677-90.
111. Nikolic-Heitzler V, Rabuzin F, Tatzber F, Vrkic N, Bulj N, Borovic S, Wonisch W, Sunko BM, Zarkovic N. Persistent oxidative stress after myocardial infarction treated by percutaneous coronary intervention. *Tohoku J Exp Med* 2006;210:247-55.
112. Walter MF, Jacob RF, Jeffers B, Ghanfar MM, Preston GM, Buch J, Mason RP; PREVENT study. Serum levels of thiobarbituric acid reactive substances predict cardiovascular events in patients with stable coronary artery disease: a longitudinal analysis of the PREVENT study. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1996-2002.
113. Vassalle C, Petrozzi L, Botto N, Andreassi MG, Zucchelli GC. Oxidative stress and its association with coronary artery disease and different atherogenic risk factors. *J Intern Med* 2004;256(4):308-15.

114. LoPresti R, Catania A, D'Amico T, Montana M, Caruso M, Caimi G. Oxidative stress in young subjects with acute myocardial infarction: evaluation at the initial stage and after 12 months. *Clin Appl Thromb Hemost* 2008;14(4):421-7.
115. Bolli R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research. *J Mol Cell Cardiol* 2001;33(11):1897-918.
116. Sharif I, Kane KA, Wainwright CL. Endothelin and ischaemic arrhythmias-antiarrhythmic or arrhythmogenic? *Cardiovasc Res* 1998;39:625-32.
117. Woodcock EA, Reyes N, Jacobsen AN, Du XJ. Inhibition of inositol(1,4,5) trisphosphate generation by endothelin-1 during postischemic reperfusion. A novel antiarrhythmic mechanism. *Circulation* 1999;99:823-8.
118. Cernacek P, Stewart GJ, Monge JC, JL Rouleau. The endothelin system and its role in acute myocardial infarction. *Can J Physiol Pharmacol* 2003;81:598-606.
119. Omland T, Lie RT, Aakvaag A, Aarsland T, Dickstein K. Plasma endothelin determination as a prognostic indicator of 1- year mortality after acute myocardial infarction. *Circulation* 1994; 89(4):1573-1579.
120. Emori T, Hirata Y, Ohta K, Kanno K, Eguchi S, Imai T, Shichiri M, Marumo F. Cellular mechanism of endothelin-1 release by angiotensin and vasopressin. *Hypertension* 1991;18: 165-70.
121. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, Basta L, Brown EJ Jr, Cuddy TE, Davis BR, Geltman EM, Goldman S, Flaker GC, et al. On behalf of the SAVE investigators. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. *N Engl J Med* 1992;327:669-77.
122. Tomoda H. Plasma endothelin-1 in acute myocardial infarction with heart failure. *Am Heart J* 1993;125:667-72.
123. Davenport AP, Barton M. Themed section: endothelin. *Br J Pharmacol* 2013;168(2):279-82.
124. Kakinuma Y, Miyauchi T, Kobayashi T, Yuki K, Maeda S, Sakai S, et al. Myocardial expression of endothelin-2 is altered reciprocally to that of endothelin-1 during ischemia of cardiomyocytes in vitro and during heart failure in vivo. *Life Sci* 1999;65(16):1671-83.
125. Brinkhous KM, Sandberg H, Garris JB, Mattsson C, Palm M, Griggs T, Read MS. Purified human factor VIII procoagulant protein: comparative hemostatic response after infusions into hemophilic and von Willebrand disease dogs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82:8752-6.
126. De Meyer SF, Deckmyn H, Vanhoorelbeke K. von Willebrand factor to the rescue. *Blood* 2009;113:5049-57.
127. Rodeghiero F, Castaman G, Dini E. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. *Blood* 1987;69:454-9.
128. Sadler JE, Mannucci PM, Berntorp E, Bochkov N, Boulyjenkov V, Ginsburg D, Meyer D, Peake I, Rodeghiero F, Srivastava A. Impact, diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2000;84:160-74.
129. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med* 1995;332(10):635-641.
130. Lip GY, Blann A. von Willebrand factor: a marker of endothelial dysfunction in vascular disorders? *Cardiovasc Res* 1997;34(2):255-65.
131. Manucci PM. Von Willebrand factor. A marker for endothelial damage? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1359-62.
132. Folsom AR, Wu KK, Rosamond WD, Sharrett AR, Chambless LE. Prospective study of hemostatic factors and incidence of coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 1997;96:1102-8.
133. Hawkins BM, Abu-Fadel M, Vesely SK, George JN. Clinical cardiac involvement in thrombotic thrombocytopenic purpura: a systematic review. *Transfusion* 2008;48:382-92.

134. Patschan D, Witzke O, Duhrsen U, Erbel R, Philipp T, Herget-Rosenthal S. Acute myocardial infarction in thrombotic microangiopathies: clinical characteristics, risk factors and outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:1549-54.
135. Spiel AO, Gilbert JC, Jilma B. Von Willebrand factor in cardiovascular disease: focus on acute coronary syndromes. *Circulation* 2008;117(11):1449-59.
136. Lee AJ, Fowkes GR, Lowe GD, Rumley A. Determinants of fibrin D-dimer in the Edinburgh Artery Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15(8):1094-7.
137. Smith A, Patterson C, Yarnell J, Rumley A, Ben-Shlomo Y, Lowe G. Which hemostatic markers add to the predictive value of conventional risk factors for coronary heart disease and ischemic stroke? The Caerphilly Study. *Circulation* 2005;112(20):3080-7.
138. Griffin JH, Zlokovic BV, Mosnier LO. Protein C anticoagulant and cytoprotective pathways. *Int J Hematol* 2012;95(4):333-45.
139. Folsom AR, Ohira T, Yamagishi K, Cushman M. Low protein C and incidence of ischemic stroke and coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *J Thromb Haemost* 2009;7(11):1774-8.
140. Haywood S, Liesner R, Pindora S, Ganesan V. Thrombophilia and first arterial ischaemic stroke: a systematic review. *Arch Dis Child* 2005;90:402-5.
141. Boekholdt SM, Kramer MHH. Arterial thrombosis and the role of thrombophilia. *Semin Thromb Hemost* 2007;33:588-96.
142. Mahmoodi BK, Brouwer J-LP, Veeger NJGM, van der Meer J. Hereditary deficiency of protein C or protein S confers increased risk of arterial thromboembolic events at a young age: Results from a large family cohort study. *Circulation* 2008;118:1659-67.
143. Samani NJ, Lodwick D, Martin D, Kimber P. Resistance to activated protein C and risk of premature myocardial infarction. *Lancet* 1994;344:1709-10.
144. Wang J, Li J. Activated protein C: a potential cardioprotective factor against ischemic injury during ischemia/reperfusion. *Am J Transl Res* 2009;1(4):381-92.
145. Costa R, Morrison A, Wang J, Manithody C, Li J, Rezaie AR. Activated protein C modulates cardiac metabolism and augments autophagy in the ischemic heart. *J Thromb Haemost* 2012;10(9):1736-44.
146. [No authors listed] Chapter 1: Definition and classification of CKD. *Kidney Int Suppl* (2011) 2013;(1):19-62
147. Stevens PE, Levin A, Kidney Disease: Improving Global Outcomes Chronic Kidney Disease Guideline Development Work Group Members. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. *Ann Intern Med* 2013;158:825-30.
148. K/DOQI clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for diabetes and chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2007;49(2 Suppl 2):S12/154.
149. De Jong PE, Curhan GC. Screening, Monitoring, and Treatment of Albuminuria: Public Health Perspectives. *J Am Nephrol* 2006;17:2120-26.
150. Gerstein HC, Mann JF, Yi Q, Zinman B, Dinneen SF, Hoogwerf B, Hallé JP, Young J, Rashkow A, Joyce C, Nawaz S, Yusuf S; HOPE Study Investigators. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals. *JAMA* 2001;286:421-6.
151. Ibsen H, Olsen MH, Wachtell K, Borch-Johnsen K, Lindholm LH, Mogensen CE, Dahlöf B, Devereux RB, de Faire U, Fyhrquist F, Julius S, Kjeldsen SE, Lederballe-Pedersen O, Nieminen MS, Omvik P, Oparil S, Wan Y. Reduction in albuminuria translates to reduction in cardiovascular events in hypertensive patients: losartan intervention for endpoint reduction in hypertension study. *Hypertension* 2005;45:198-202.
152. Hillege HL, Fidler V, Diercks GF, van Gilst WH, de Zeeuw D, van Veldhuisen DJ, Gans RO, Janssen WM, Grobbee DE, de Jong PE; Prevention of Renal and Vascular End Stage Disease (PREVEND) Study Group. Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. *Circulation* 2002;106:1777-82.
153. Roest M, Banga JD, Janssen WM, Grobbee DE, Sixma JJ, de Jong PE, de Zeeuw D, van Der Schouw YT. Excessive urinary albumin levels are associated with future cardiovascular mortality in postmenopausal women. *Circulation* 2001;103:3057-61.

154. McCullough PA, Jurkovitz CT, Pergola PE, McGill JB, Brown WW, Collins AJ, Chen SC, Li S, Singh A, Norris KC, Klag MJ, Bakris GL; KEEP Investigators. Independent components of chronic kidney disease as a cardiovascular risk state: results from the Kidney Early Evaluation Program (KEEP). *Arch Intern Med* 2007;167:1122-9.
155. Klausen K, Borch-Johnsen K, Feldt-Rasmussen B, Jensen G, Clausen P, Scharling H, Apple- yard M, Jensen JS. Very low levels of microalbuminuria are associated with increased risk of coronary heart disease and death independently of renal function, hypertension, and diabetes. *Circulation* 2004;110:32-5.
156. Diercks GF, Hillege HL, van Boven AJ, Kors JA, Crijs HJ, Grobbee DE, de Jong PE, van Gilst WH. Microalbuminuria modifies the mortality risk associated with electrocardiographic ST-T segment changes. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1401.
157. Clausen P, Jensen JS, Jensen G, Borch-Johnsen K, Feldt-Rasmussen B. Elevated urinary albu- min excretion is associated with impaired arterial dilatory capacity in clinically healthy sub- jects. *Circulation* 2001;103:1869-74.
158. Pedrinelli R, Giampietro O, Carmassi F, Melillo E, Dell'Omo G, Catapano G, Matteucci E, Talarico L, Morale M, De Negri F, et al. Microalbuminuria and endothelial dysfunction in essential hypertension. *Lancet* 1994;344:14-18.
159. Pedrinelli R, Penno G, dellomo G, Bandinelli S, Giorgi D, Di Bello V, Navalesi R, Mariani M. Microalbuminuria and transcapillary albumin leakage in essential hypertension. *Hypertension* 1999;34:491-5.
160. Taddei S, Virdis A, Mattei P, Ghiadoni L, Sudano I, Arrighi P, Salvetti A. Lack of correlation between microalbuminuria and endothelial function in essential hypertensive patients. *J Hypertens* 1995;13:1003-8.
161. Schitz A. Microalbuminuria, blood pressure, metabolic control, and renal involvement: longitudinal studies in white non-insulin-dependent diabetic patients. *Am J Hypertens* 1997; 10:189-97.
162. Glosing P. Microalbuminuria: a marker of systemic disease. *Br J Hosp Med* 1995; 54:285-90.
163. Jensen JS. Renal and systemic transvascular albumin leakage in severe atherosclerosis. *Arte- rioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1324-9.
164. Bigazzi R, Biauchi S. Microalbuminuria as a marker of cardiovascular and renal disease in essential hypertension. *Nephrol Dial Transpl* 1995;10:10-14.
165. Panayioton BN. Microalbuminuria: pathogenesis, prognosis and management. *J Intern Med Res* 1994;22:181-201.
166. Stehouwer CD, Lambert J, Donker AJ, van Hinsbergh VW. Endothelial dysfunction and patho- genesis of diabetic angiopathy. *Cardiovasc Res* 1997;34:55-68.
167. Gosling P, Hughes EA, Regnolds TM, Fox JP. Microalbuminuria is an early response follo- wing acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 1991;12:508-13.
168. Hickey NC, Shearman CP, Gosling P, Simms MH. Assessment of intermittent claudication by quantitation of exercise-induced microalbuminuria. *Eur J Vasc Surg* 1990;4:603-6.
169. Klansen K, Barch-Johnsen K, Feldt-Rasmussen B, Jensen G, Clausen P, Scharling H, Apple- yard M, Jensen JS. Very low levels of micrialbuminuria are associated with increased risk of coronary of heart disease and death independently of renal function, hypertension, and diabe- tes. *Circulation* 2004;110:32-5.
170. Al-Saffar HB, Nassir H, Mitchell A, Philipp S. Microalbuminuria in non-diabetic patients with unstable angina/non ST-segment elevation myocardial infarction. *BMC Res Notes* 2015;8: 371.
171. Chen JW, Wang YL, Li HW. Elevated admission microalbuminuria predicts poor myocardial blood flow and 6-month mortality in ST-segmentelevation myocardial infarction patients undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Clin Cardiol* 2012;35(4):219-24.
172. Suleiman M, Khatib R, Agmon Y, Mahamid R, Boulous M, Kapeliovich M, Levy Y, Beyar R, Markiewicz W, Hammerman H, Aronson D. Early inflammation and risk of long-term development of heart failure and mortality in survivors of acute myocardial infarction: pre- dictive role of Creactive protein. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:962-8.
173. Weber M, Hamm C. Redefinition of myocardial infarction: relevance of biomarkers. *Herz* 2008;33:115-121.

174. Guan H, Wang P, Hui R, Edin ML, Zeldin DC, Wang DW. Adeno-associated virus-mediated human C-reactive protein gene delivery causes endothelial dysfunction and hypertension in rats. *Clin Chem* 2009;55:274-84.
175. Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV, Dhillon B, Weisel RD, Li RK, Mickle DA, Stewart DJ. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation* 2002;106:913-9.
176. Horii Y, Iwano M, Hirata E, Shiiki M, Fujii Y, Dohi K, Ishikawa D. Role of interleukin-6 in the progression of mesangial proliferative glomerulonephritis. *Kidney Int Suppl* 1993;39:S71-S75.
177. Weir MR. Microalbuminuria and cardiovascular disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007;2:581-90.
178. Kocsis E, Pacher P, P'osa I, Nieszner E, Pogátsa G, Koltai MZ. Hyperglycaemia alters the endothelium-dependent relaxation of canine coronary arteries. *Acta Physiol Scand* 2000;169:183-7.
179. Ito H, Maruyama A, Iwakura T, Takiuchi S, Masuyama T, Hori M, Higashino Y, Fujii K, Minamino T. Clinical implication of the "no-reflow" phenomenon: a predictor of complication and left ventricular remodeling in reperfused anterior wall myocardial infarction. *Circulation* 1996;93:223-8.
180. Ito H, Tomooka T, Sakai N, Yu H, Higashino Y, Fujii K, Masuyama T, Kitabatake A, Minamino T. Lack of myocardial perfusion immediately after successful thrombolysis: a predictor of poor recovery of left ventricular function in anterior myocardial infarction. *Circulation* 1992;85:1699-705.
181. Halkin A, Singh M, Nikolsky E, Grines CL, Tchong JE, Garcia E, Cox DA, Turco M, Stuckey TD, Na Y, Lansky AJ, Gersh BJ, O'Neill WW, Mehran R, Stone GW. Prediction of mortality after primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: the CADI-LLAC risk score. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1397-405.
182. Suenari K, Shiode N, Shirota K, Ishii H, Goto K, Sairaku A, Mikami S, Nakano Y, Chayama K. Predictors and longterm prognostic implications of angiographic slow/no-flow during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction. *Intern Med* 2008;47:899-906.
183. Ma XL, Tsao PS, Viehman GE, Lefler AM. Neutrophil-mediated vasoconstriction and endothelial dysfunction in low-flow perfusion reperfused cat coronary artery. *Circ Res* 1991;69:95-106.
184. Gibson CM, Murphy SA, Kirtane AJ, Giugliano RP, Cannon CP, Antman EM, Braunwald E; TIMI Study Group. Association of duration of symptoms at presentation with angiographic and clinical outcomes after fibrinolytic therapy in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:980-7.
185. Ping L, Yu L, Jianjun Y. Relationship between microalbuminuria and endothelium-dependent vasodilation in type 2 diabetes mellitus. *Chin J Misdiagnostics* 2004;4:1640-41.
186. Yibin Y, Zhongxia C, Kun X. Measurement of the marker for endothelial damages and their links with urinary protein in patients with diabetes mellitus. *J Postgrad Med* 2005;28:21-3.
187. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, et al. the Writing Group on behalf of the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction. Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2012;33(20):2551-67.
188. Roffi M, Patrono C, Collet JP, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2016;37(3):267-315.
189. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969;244:6049-55.
190. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70:158-69.

191. Prohaska JR, Oh S-H, Hockstra WG, Ganther HE. Glutathione peroxidase: inhibition by cyanide and release of selenium. *Biochem Biophys Res Comm* 1977;74:64-71.
192. Beutler, E. Catalase. In E. Beutler (Ed.), Red Cell Metabolism. A manual of biochemical methods. New York: Grune and Straton, 1975:89-90.
193. Drapper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peoxidation. *Methods in Enzymology* 1990;186:421-31.
194. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, Jungers P, Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996;49:1304-13.
195. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968;25:192-205.
196. Navaro-Gonzalvez JA, Garcia-Benayas M, Arenas I. Semiautomated measurement of nitrate in biological fluids. *Clin Chem* 1998;44:679-81.
197. Newman DJ, Henneberry H, Price CP. Particle enhanced light scattering immunoassay. *Ann Clin Biochem* 1992;29:22-42.
198. Schmidt M, Jacobsen JB, Lash TL, Bøtker HE, Sørensen HT. 25 year trends in first time hospitalisation for acute myocardial infarction, subsequent short and long term mortality, and the prognostic impact of sex and comorbidity: a Danish nationwide cohort study. *BMJ* 2012; 344:e356.
199. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren WM, Albus C, Benlian P, Boysen G, Cifkova R, Deaton C, Ebrahim S, Fisher M, Germano G, Hobbs R, Hoes A, Karadeniz S, Mezzani A, Prescott E, Ryden L, Scherer M, Syvänne M, Op Reimer WJ, Vrints C, Wood D, Zamorano JL, Zannad F; European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012):the fifth joint task force of the European society of cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Int J Behav Med* 2012;19(4):403-88.
200. Marik PE, Bellomo R. Stress hyperglycemia: an essential survival response! *Crit Care* 2013; 17(2):305.
201. Suleiman M, Hammerman H, Boulos M, Kapeliovich MR, Suleiman A, Agmon Y, Markiewicz W, Aronson D. Fasting glucose is an important independent risk factor for 30-day mortality in patients with acute myocardial infarction: a prospective study. *Circulation* 2005; 111:754-60.
202. Currie CJ, Poole CD, Conway P. Evaluation of the association between the first observation and the longitudinal change in C-reactive protein, and all-cause mortality. *Heart* 2008;94: 457-62.
203. Aronson D, Hammerman H, Suleiman M, Markiewicz W. Usefulness of changes in fasting glucose during hospitalization to predict long-term mortality in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2009;104:1013-17.
204. Gore MO, Patel MJ, Kosiborod M, Parsons LS, Khera A, de Lemos JA, Rogers WJ, Peterson ED, Canto JC, McGuire DK; National Registry of Myocardial Infarction Investigators. Diabetes mellitus and trends in hospital survival after myocardial infarction, 1994 to 2006: data from the national registry of myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2012 ;5(6):791-7.
205. Prescott E, Hippe M, Schnohr P, Hein HO, Vestbo J. Smoking and risk of myocardial infarction in women and men: longitudinal population study. *BMJ* 1998;316(7137):1043-7.
206. Cao L, Zhang Y, Cao YX, Edvinsson L, Xu CB. Cigarette smoke upregulates rat coronary artery endothelin receptors in vivo. *PLoS One* 2012;7(3):e33008.
207. Surekha RH, Srikanth BBMV, Jharna P, Ramachandra RV, Dayasagar RV, Jyothy A. Oxidative stress and total antioxidant status in myocardial infarction. *Singapore Med J* 2007;48: 137-42.
208. Vincent HK, Powers SK, Stewart DJ, Shanely RA, Demirel H, Naito H. Obesity is associated with increased myocardial oxidative stress. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23(1):67-74.
209. Dutta P, Courties G, Wei Y, Leuschner F, Gorbato R, Robbins CS, Iwamoto Y, Thompson B, Carlson AL, Heidt T, Majumdar MD, Lasitschka F, Etzrodt M, Waterman P, Waring MT,

- Chicoine AT, van der Laan AM, Niessen HW, Piek JJ, Rubin BB, Butany J, Stone JR, Katus HA, Murphy SA, Morrow DA, Sabatine MS, Vinegoni C, Moskowitz MA, Pittet MJ, Libby P, Lin CP, Swirski FK, Weissleder R, Nahrendorf M. Myocardial infarction accelerates atherosclerosis. *Nature* 2012;487(7407):325-9.
210. Windecker S, Kolh P, Alfonso F, Collet JP, Cremer J, Falk V, Filippatos G, Hamm C, Head SJ, Juni P, Kappetein AP, Kastrati A, Knuuti J, Landmesser U, Laufer G, Neumann FJ, Richter DJ, Schauerte P, Sousa Uva M, Stefanini GG, Taggart DP, Torracca L, Valgimigli M, Wijns W, Witkowski A. The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) 2014 ESC/EACTS guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J* 2014;35:2541-619.
 211. Detre KM, Lombardero MS, Brooks MM, Hardison RM, Holubkov R, Sopko G, Frye RL, Chaitman BR. The effect of previous coronary-artery bypass surgery on the prognosis of patients with diabetes who have acute myocardial infarction. Bypass Angioplasty Revascularization Investigation Investigators. *N Engl J Med* 2000;342(14):989-97.
 212. Garlichs CD, Zhang H, Mügge A, Daniel WG. Beta-blockers reduce the release and synthesis of endothelin-1 in human endothelial cells. *Eur J Clin Invest* 1999;29(1):12-16.
 213. Brehm BR, Bertsch D, von Fallois J, Wolf SC. Beta-blockers of the third generation inhibit endothelin-1 liberation, mRNA production and proliferation of human coronary smooth muscle and endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;36(5 Suppl 1):S401-3.
 214. Yada T, Kaji S, Akasaka T, Mochizuki S, Ogasawara Y, Tanemoto K, Yoshida K, Kajiyama F. Changes of asymmetric dimethylarginine, nitric oxide, tetrahydrobiopterin, and oxidative stress in patients with acute myocardial infarction by medical treatments. *Clin Hemorheol Microcirc* 2007;37(3):269-76.
 215. Bagatini MD, Martins CC, Battisti V, Gasparetto D, da Rosa CS, Spanevello RM, Ahmed M, Schmatz R, Schetinger MR, Morsch VM. Oxidative stress versus antioxidant defenses in patients with acute myocardial infarction. *Heart Vessels* 2011;26(1):55-63.
 216. Noichri Y, Chalghoum A, Chkioua L, Baudin B, Ernez S, Ferchichi S, Miled A. Low erythrocyte catalase enzyme activity is correlated with high serum total homocysteine levels in Tunisian patients with acute myocardial infarction. *Diagn Pathol* 2013;8:68.
 217. Sani M, Sebaï H, Gadacha W, Boughattas NA, Reinberg A, Mossadok BA. Catalase activity and rhythmic patterns in mouse brain, kidney and liver. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2006;145(3-4):331-7.
 218. Senthil S, Veerappan RM, Ramakrishna Rao M, Pugalendi KV. Oxidative stress and antioxidants in patients with cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 2004;348(1-2):131-7.
 219. Flores-Mateo G, Carrillo-Santistevan P, Elosua R, Guallar E, Marrugat J, Bleyers J, Covas MI. Antioxidant Enzyme Activity and Coronary Heart Disease: Meta-analyses of Observational Studies. *Am J Epidemiol* 2009;170(2):135-47.
 220. Cheng ML, Chen CM, Ho HY, Li JM, Chiu DT. Effect of acute myocardial infarction on erythrocytic glutathione peroxidase 1 activity and plasma vitamin e levels. *Am J Cardiol* 2009;103(4):471-5.
 221. Nojiri S, Diada H, Mukono H, Iwana Y, Mae K, Ushio F, Ueki T. Association of serum antioxidant capacity with coronary artery disease in middle-aged men. *Jpn Heart J* 2001;42:677-90.
 222. Pandey KB, Mehdi MM, Maurya PK, Rizvi SI. Plasma protein oxidation and its correlation with antioxidant potential during human aging. *Dis Markers* 2010;29(1):31-6.
 223. Kaneda H, Taguchi J, Ogasawara K, Aizawa T, Ohno M. Increased level of advanced oxidation protein products in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2002;162(1):221-5.
 224. Libby P, Tabas I, Fredman G, Fisher EA. Inflammation and its resolution as determinants of acute coronary syndromes. *Circ Res* 2014;114(12):1867-79.
 225. Seropian IM, Toldo S, Van Tassell BW, Abbate A. Anti-inflammatory strategies for ventricular remodeling following ST-segment elevation acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2014;63(16):1593-603.

226. Lewicki L, Siebert J, Marek-Trzonkowska N, Masiewicz E, Kolinski T, Reiwer-Gostomska M, Targonski R, Trzonkowski P. Elevated serum tryptase and endothelin in patients with ST segment elevation myocardial infarction: Preliminary Report. *Mediators Inflamm* 2015;2015: 395173.
227. Lekatsas I, Koulouris S, Triantafyllou K, Chrisanthopoulou G, Moutsatsou-Ladikou P, Ioannidis G, et al. Prognostic significance of microalbuminuria in non-diabetic patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2006;106:218-23.
228. Blann AD. Plasma von Willebrand factor, thrombosis, and the endothelium: the first 30 years. *Thromb Haemost* 2006;95:49-55.
229. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, Mclenacham JM, Fish RD, Yeung AC, Vekshtein VI, Selwyn AP, Ganz P. Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation* 1990;81:491-7.
230. Bayes-Genis A, Mateo J, Santaló M, Oliver A, Guindo J, Badimon L, Martínez-Rubio A, Fontcuberta J, Schwartz RS, De Luna AB. D-Dimer is an early diagnostic marker of coronary ischemia in patients with chest pain. *Am Heart J* 2000;140(3):379-84.
231. Yegin A, Yegin H, Aliciguzel Y, Deger N, Semiz E. Erythrocyte selenium-glutathione peroxidase activity is lower in patients with coronary atherosclerosis. *Jpn Heart J* 1997;38: 793-8.
232. KM, James S, Venge P, Lindahl B. Prognostic implications of changes in cardiac troponin I levels in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome. *Biomarkers* 2013;18(8): 668-72.
233. Mayyas F, Al-Jarrah M, Ibrahim K, Mfady D, Van Wagoner DR. The significance of circulating endothelin-1 as a predictor of coronary artery disease status and clinical outcomes following coronary artery catheterization. *Cardiovasc Pathol* 2015;24(1):19-25.
234. De Chiara B, Mafri A, Campolo J, Famoso G, Sedda V, Parolini M, Cighetti G, Lualdi A, Fiorentini C, Parodi O. Low plasma glutathione levels after reperfused acute myocardial infarction are associated with late cardiac events. *Coron Artery Dis* 2007;18(2):77-82.
235. Adlbrecht C, Andreas M, Redwan B, Distelmaier K, Mascherbauer J, Kaider A, Wolzt M, Tilea IA, Neunteufl T, Delle-Karth G, Maurer G, Lang IM. Systemic endothelin receptor blockade in ST-segment elevation acute coronary syndrome protects the microvasculature: a randomised pilot study. *EuroIntervention* 2012;7(12):1386-95.
236. Cuculi F, Lim CC, van Gaal W, Testa L, Westaby S, Arnold JR, Neubauer S, Banning AP. Systemic levels of endothelin correlate with systemic inflammation and not with myocardial injury or left ventricular ejection fraction in patients undergoing percutaneous coronary intervention and on-pump coronary artery bypass grafting. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2011;13(6):585-9.
237. Mega JL, Morrow DA, De Lemos JA, Sabatine MS, Murphy SA, Rifai N, Gibson CM, Antman EM, Braunwald E. B-type natriuretic peptide at presentation and prognosis in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: an ENTIRE-TIMI-23 substudy. *J Am Coll Cardiol* 2001;44(2):335-9.
238. Kikkert WJ, Claessen BE, Stone GW, Mehran R, Witzenbichler B, Brodie BR, Wöhrle J, Witkowski A, Guagliumi G, Zmudka K, Henriques JP, Tijssen JG, Sanidas EA, Chantziara V, Xu K, Dangas GD. D-dimer levels predict ischemic and hemorrhagic outcomes after acute myocardial infarction: a HORIZONS-AMI biomarker substudy. *J Thromb Thrombolysis* 2014;37(2):155-64.
239. Celik T, Iyisoy A, Kursaklioglu H, Turhan H, Kilic S, Kose S, Amasyali B, Isik E. The impact of admission C-reactive protein levels on the development of poor myocardial perfusion after primary percutaneous intervention in patients with acute myocardial infarction. *Coron Artery Dis* 2005;16(5):293-9.
240. Ferraro S, Biganzoli E, Marano G, Santagostino M, Boracchi P, Panteghini M, Bongo AS. New insights in the pathophysiology of acute myocardial infarction detectable by a contemporary troponin assay. *Clin Biochem* 2013;46(12):999-1006.
241. Prasad A, Gersh BJ. Management of microvascular dysfunction and reperfusion injury. *Heart* 2005;91(12):1530-2.

242. Yip HK, Hang CL, Fang CY, Hsieh YK, Yang CH, Hung WC, Wu CJ. Level of high-sensitivity C-reactive protein is predictive of 30-day outcomes in patients with acute myocardial-infarction undergoing primary coronary intervention. *Chest* 2005;127(3):803-8.
243. Khan SQ, Dhillon O, Struck J, Quinn P, Morgenthaler NG, Squire IB, Davies JE, Bergmann A, Ng LL. C-terminal pro-endothelin-1 offers additional prognostic information in patients after acute myocardial infarction: Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide (LAMP) Study. *Am Heart J* 2007;154(4):736-42.
244. Feng Y, Shen C, Ma G, Wang J, Chen Z, Dai Q, Zhi H, Yang C, Fu Q, Shang G, Guan Y. Prolonged pain to hospital time is associated with increased plasma advanced oxidation protein products and poor prognosis in patients with percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction. *Heart Vessels* 2010;25(5):374-8.
245. Liang X, Chen Y, Zhuang J, Zhang M, Xiong W, Guo H, Jiang F, Hu P, Guo D, Shi W. Advanced oxidation protein products as prognostic biomarkers for recovery from acute kidney injury after coronary artery bypass grafting. *Biomarkers* 2012;17(6):507-512.
246. Desborough JP. The stress response to trauma and surgery. *Br J Anaesth* 2000;85(1):109-17.
247. Weinbrenner T, Cladellas M, Isabel Covas M, Fitó M, Tomás M, Sentí M, Bruguera J, Marrugat J. High oxidative stress in patients with stable coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2003;168(1):99-106.
248. Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Bickel C, Schnabel R, Genth-Zotz S, Torzewski M, Lackner K, Munzel T, Blankenberg S; AtheroGene Investigators. Glutathione Peroxidase-1 Activity, Atherosclerotic Burden, and Cardiovascular Prognosis. *Am J Cardiol* 2007;99(6):808-12.
249. Havráněk Š, Bělohávek J, Škulec R, Kovárník T, Dytrych V, Linhart A. Long-term prognostic impact of hyponatremia in the ST-elevation myocardial infarction. *Scand J Clin Lab Invest* 2011;71(1):38-44.
250. Yang H, Xu JX, Kong XZ, Ren ZG, Xia ZY, Qu HQ, Wang LX. Relations between plasma von Willebrand factor or endothelin-1 and restenosis following carotid artery stenting. *Med Princ Pract* 2012;21(6):538-542.
251. Cruickshank JM. Coronary flow reserve and the J curve relation between diastolic blood pressure and myocardial infarction. *BMJ* 1988;297(6658):1227-30.
252. Nazer B, Ray KK, Murphy SA, Gibson CM, Cannon CP. Urinary albumin concentration and long-term cardiovascular risk in acute coronary syndrome patients: a PROVE IT-TIMI 22 sub-study. *J Thromb Thrombolysis* 2013;36(3):233-9.
253. Mehta L, Devlin W, McCullough PA, O'Neill WW, Skelding KA, Stone GW, Boura JA, Grines CL. Impact of body mass index on outcomes after percutaneous coronary intervention in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2007;99(7):906-10.
254. Romero-Corral A, Montori VM, Somers VK, Korinek J, Thomas RJ, Allison TG, Mookadam F, Lopez-Jimenez F. Association of bodyweight with total mortality and with cardiovascular events in coronary artery disease: a systematic review of cohort studies. *Lancet* 2006;368(9536):666-78.
255. Stewart DJ, Kubac G, Costello KB, Cernacek P. Increased plasma endothelin 1 during early hours of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1991;18:38-43.
256. Cernacek P, Stewart DJ. Immunoreactive endothelin in human plasma: marked elevations in patients with cardiogenic shock. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;161:562-7.
257. Dupuis J, Rouleau JL, Cernacek P. Reduced pulmonary clearance of endothelin-1 contributes to the increase of circulating levels in heart failure secondary to myocardial infarction. *Circulation* 1998;98(16):1684-7.
258. Watanabe T, Suzuki N, Shimamoto N, Fujino M, Imada A. Contribution of endogenous endothelin to the extension of myocardial infarct size in rats. *Circ Res* 1991;69(2):370-7.
259. Tønnessen T, Lunde PK, Giaid A, Sejersted OM, Christensen G. Pulmonary and cardiac expression of preproendothelin-1 mRNA are increased in heart failure after myocardial infarction in rats. Localization of preproendothelin-1 mRNA and endothelin peptide. *Cardiovasc Res* 1998;39(3):633-643.
260. Oie E, Vinge LE, Tønnessen T, Grøgaard HK, Kjekshus H, Christensen G, Smiseth OA, Attramadal H. Transient, isopeptide-specific induction of myocardial endothelin-1 mRNA in congestive heart failure in rats. *Am J Physiol* 1997;273(4 Pt 2):H1727-36.

261. Apostolovic S, Stanojevic D, Djordjevic V, Tomasevic RJ, Martinovic SS, Radojkovic DD, Koracevic G, Stojanovic I, Pavlovic M. Prognostic significance of microalbuminuria in patients with acute myocardial infarction. *Clin Lab* 2011;57(3-4):229-35.
262. Oldgren J, Linder R, Grip L, Siegbahn A, Wallentin L. Coagulation activity and clinical outcome in unstable coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21(6):1059-64.
263. Ottani F, Galvani M. Prognostic role of hemostatic markers in acute coronary syndromes patients. *Clin Chim Acta* 2001;311(1):33-9.
264. Tello-Montoliu A, Marín F, Roldán V, Mainar L, López MT, Sogorb F, Vicente V, Lip GY. A multimarker risk stratification approach to non-ST elevation acute coronary syndrome: implications of troponinT, CRP, NT pro-BNP and fibrin D-dimer levels. *J Intern Med* 2007;262(6):651-8.
265. Task Force Members, Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, Budaj A, et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2013;34(38):2949-3003.
266. Choi JS, Kim YA, Kim HY, Oak CY, Kang YU, Kim CS, Bae EH, Ma SK, Ahn YK, Jeong MH, Kim SW. Relation of serum potassium level to long-term outcomes in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2014;113(8):1285-90.
267. Berges A, Van Nassauw L, Timmermans JP, Vrints C. Role of nitric oxide during coronary endothelial dysfunction after myocardial infarction. *Eur J Pharmacol* 2005;516(1):60-70.
268. Richards AM, Nicholls MG, Espiner EA, Lainchbury JG, Troughton RW, Elliott J, Frampton C, Turner J, Crozier IG, Yandle TG. B-type natriuretic peptides and ejection fraction for prognosis after myocardial infarction. *Circulation* 2003;107(22):2786-92.
269. Toth M, Vuorinen KH, Vuolteenaho O, Hassinen IE, Uusimaa PA, Leppälüoto J, Ruskoaho H. Hypoxia stimulates release of ANP and BNP from perfused rat ventricular myocardium. *Am J Physiol* 1994;266:H1572-80.
270. Arakawa N, Nakamura M, Aoki H, Hiramori K. Relationship between plasma level of brain natriuretic peptide and myocardial infarct size. *Cardiology* 1994;85:334-40.
271. Richards AM, Nicholls MG, Espiner EA, Lainchbury JG, Troughton RW, Elliott J, Frampton C, Turner J, Crozier IG, Yandle TG. B-type natriuretic peptides and ejection fraction for prognosis after myocardial infarction. *Circulation* 2003;107:2786-92.
272. Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, Newby LK, Ravkilde J, Storrow AB, Wu AH, Christenson RH; National Academy of Clinical Biochemistry. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Circulation* 2007;115(13):e356-75.

Биографија

Др Драгна Станојевић рођена је у Крупњу 21.12.1977. године. Основну школу и гимназију „Бора Станковић“ завршила је у Нишу са одличним успехом, као носилац Вукове дипломе.

Медицински факултет у Нишу уписала је 1996./1997. године и дипломирала 2005. године са просечном оценом 9,92 и оценом 10 на дипломском испиту одбрањеном на тему „Реноваскуларна хипертензија“.

У току студирања била је аутор више научних радова са којима је учествовала на конгресима студената медицине и стоматологије. У току студирања била је стпендиста владе Норвешке.

Последипломске студије из области кардиологије уписала је 2005. године на Медицинском факултету Универзитета у Нишу, а магистарску тезу под називом „Учесталост и прогностички значај микроалбуминурије код пацијената са акутним инфарктом миокарда“ одбранила је 2010. године у Нишу.

Од 2006. год у сталном је радном односу на Клиници за кардиоваскуларне болести, КЦ Ниш. Аутор је више научних радова из области кардиологије, учествовала је на више националних конгреса из области кардиологије.

2009. године уписала је специјалистичке студије из области интерне медицине, а 2014. године положила је специјалистички испит из интерне медицине са оценом одличан и стекла звање специјалисте интерне медицине.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

ЗНАЧАЈ МАРКЕРА ЕНДОТЕЛНЕ ДИСФУНКЦИЈЕ, ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА И ИНФЛАМАЦИЈЕ У ДВОГОДИШЊОЈ ПРОГНОЗИ КОД БОЛЕСНИКА СА АКУТНИМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

која је одбрањена на Медицинском факултету Универзитета у Нишу:

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, _____

Потпис аутора дисертације:

(Име, средње слово и презиме)

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ЕЛЕКТРОНСКОГ И ШТАМПАНОГ ОБЛИКА
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Наслов дисертације:

**ЗНАЧАЈ МАРКЕРА ЕНДОТЕЛНЕ ДИСФУНКЦИЈЕ, ОКСИДАТИВНОГ
СТРЕСА И ИНФЛАМАЦИЈЕ У ДВОГОДИШЊОЈ ПРОГНОЗИ КОД БОЛЕСНИ-
КА СА АКУТНИМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА**

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предао/ла за уношење у **Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу**, истоветан штампаном облику.

У Нишу, _____

Потпис аутора дисертације:

(Име, средње слово и презиме)

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

ЗНАЧАЈ МАРКЕРА ЕНДОТЕЛНЕ ДИСФУНКЦИЈЕ, ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА И ИНФЛАМАЦИЈЕ У ДВОГОДИШЊОЈ ПРОГНОЗИ КОД БОЛЕСНИКА СА АКУТНИМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прераде (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

У Нишу, _____

Потпис аутора дисертације:

(Име, средње слово и презиме)