

Biokemijski pokazatelji sistemskog upalnog odgovora stresa i srčane nekroze u kardiokirurških bolesnika

Saračević, Andrea

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:166350>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Andrea Saračević

**BIOKEMIJSKI POKAZATELJI
SISTEMSKOG UPALNOG ODGOVORA,
STRESA I SRČANE NEKROZE U
KARDIOKIRURŠKIH BOLESNIKA**

DOKTORSKI RAD

Mentor:

prof. dr. sc. Ana-Maria Šimundić

Zagreb, 2021.



University of Zagreb

Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Andrea Saračević

**BIOCHEMICAL MARKERS OF
SYSTEMIC INFLAMMATORY
RESPONSE, STRESS AND CARDIAC
NECROSIS IN PATIENTS UNDERGOING
CARDIAC SURGERY**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor:

Professor Ana-Maria Šimundić, Ph.D.

Zagreb, 2021

Rad je predan na ocjenu Fakultetskom vijeću Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja akademskog stupnja doktora znanosti u znanstvenom području Biomedicina i zdravstvo, polje Farmacija, grana Medicinska biokemija.

Doktorski rad je izrađen u Zavodu za kardiorakalnu kirurgiju Kliničkog bolničkog centra "Rijeka" u suradnji sa Zavodom za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice "Sveti Duh", Kliničkim zavodom za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra "Rijeka" i Odjelom za laboratorijsku imunologiju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra "Zagreb" pod mentorstvom prof. dr. sc. Ana-Marie Šimundić u sklopu projekta "Upala i udio farmakogenetike u razvoju i ishodu akutnih i kroničnih bolesti" (MB 134-1340227-020).

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Ana-Marii Šimundić na pruženim savjetima i nesebičnoj podršci.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Lidiji Bilić-Zulle, prof. dr. sc. Igoru Medvedu, mag. Snježani Hrabrić Vlah, prof. dr. sc. Dunji Rogić i dr. sc. Ani Kozmar na iznimnoj suradnji koja je omogućila izradu ovog doktorskog rada.

Zahvaljujem svojoj obitelji na bezuvjetnoj ljubavi, pomoći i podršci.

Sažetak

Ciljevi istraživanja bili su ispitati promjenu sistemskog upalnog odgovora, biokemijskih i hematoloških parametara te biljega stresa i srčane nekroze u periodu do 5 dana nakon operativnog zahvata aortokoronarnog premoštenja sa i bez izvantjelesnog krvotoka (ITK) i zamjene aortalnog zaliska; povezanost biljega sistemskog upalnog odgovora sa biljezima stresa i srčane nekroze; te može li koncentracija ili intenzitet promjene pojedinih biljega tijekom perioperativnog perioda predvidjeti ishod bolesnika i nastanak komplikacija.

U istraživanje je uključeno 90 ispitanika, podijeljenih u 3 skupine po 30 ispitanika - revaskularizacija miokarda sa i bez upotrebe ITK te zamjena aortalnog zaliska. Svim ispitanicima je određivana kompletna krvna slika, koncentracija CRP-a, albumina, glukoze, laktata, mokraćne kiseline, ioniziranog kalcija, IL-6 i IL-10, leptina, rezistina, monocitnog kemotaktičnog proteina – 1 (MCP-1), kortizola i troponina T (*hsTnT*), aktivnost CK i CK-MB te parametri acidobazičnog statusa u 5 točaka.

Kardiokirurški postupci uzrokovali su porast aktivnosti CK i izoezima CK-MB, koncentracije CRP-a, kortizola, *hsTnT*, IL-6, IL-10, rezistina, MCP-1, broja leukocita i postotka granulocita, te pad koncentracije albumina, mokraćne kiseline, broja eritrocita, koncentracije hemoglobina, vrijednosti MCV-a i pH u sve tri ispitivane skupine. Pronađena je slaba korelacija između IL-6 s *hsTnT*. Razlika u koncentraciji leptina i rezistina prije i nakon operativnog zahvata te razlika rezistina na kraju i 24 sata nakon operacije pokazao značajnu ulogu u predviđanju potreba za transfuzijom. Razlika u koncentracijama rezistina prije i nakon operativnog zahvata te i kortizola neposredno nakon i 24 sata poslije operacije mogu doprinijeti u predviđanju postoperativne količine izgubljene krvi. Od biokemijskih biljega aktivnost CK, broj leukocita, pH vrijednost i koncentracije ioniziranog kalcija u pojedinim točkama mjerenjasu ukazivale na duljinu hospitalizacije, boravka u jedinici intenzivne skrbi i mehaničke ventilacije te gubitak krvi.

Kardiokirurški zahvati uzrokuju snažnu reakciju organizma uz oslobađanje upalnih biljega te biljega stresa i srčane nekroze u cirkulaciju. Od upalnih biljega samo je IL-6 korelirao s jačinom srčane nekroze. Koncentracije pojedinih biokemijskih biljega te promjene u koncentracijama leptina, rezistina i kortizola mogu predvidjeti ishode bolesnika podvrgnutih kardiokirurškom zahvatu.

Ključne riječi: operativni zahvat aortokoronarnog premoštenja, operativni zahvat aortalnog zaliska, upala, stres, ishemija miokarda

Summary

The aims of the study were to examine the change in the systemic inflammatory response, biochemical, hematological parameters, stress and cardiac markers in the period up to 5 days after coronary artery bypass graft surgery using on-pump and off-pump technique and aortic valve replacement surgery; the association of inflammatory markers with markers of stress and cardiac necrosis; and whether concentration or the change in concentration certain markers during the perioperative period can predict patient outcome and occurrence of complications.

The study included 90 subjects, divided into 3 groups, 30 participants each – on-pump and off-pump coronary bypass surgery and aortic valve replacement. The following parameters were measured: complete blood count, CRP, CK, CK-MB, albumin, glucose, lactate, uric acid, acid-base status, ionized calcium, IL-6, IL-10, leptin, resistin, monocyte chemotactic protein - 1 (MCP-1), cortisol and troponin T (*hsTnT*) at 5 points.

Cardiac surgery caused an increase in CK and CK-MB isoenzyme activity, CRP, cortisol and *hsTnT*, IL-6, IL-10, resistin and MCP-1 concentration, and leukocytes and granulocytes count. On the other hand, surgery caused a decrease in albumin, uric acid, hemoglobin concentration erythrocyte count, MCV and pH values in all three study groups. A weak correlation was found between IL-6 with *hsTnT*. The difference in leptin and resistin concentrations before and after surgery and the difference in resistin at the end and 24 hours after surgery significantly predicted transfusion needs. The difference between resistin before and after surgery, together with the difference in cortisol at the end and 24 hours after surgery predicted the amount of blood loss. CK activity, leukocyte count, pH and ionized calcium concentration in different time points significantly predicted hospitalization, intensive care and mechanical ventilation duration as well as blood loss.

Cardiac surgery causes a strong response together with a release of inflammatory, stress and cardiac necrosis markers into the circulation. Interleukin 6 correlated weakly with cardiac necrosis. Concentration of certain biochemical markers as well as changes in leptin, resistin and cortisol concentrations predicted patients' outcome.

Keywords: Coronary artery bypass surgery, heart valve surgery, inflammation, stress, myocardial ischemia

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 Građa srca	1
1.2 Kardiovaskularne bolesti	3
1.3 Koronarna bolest srca	4
1.3.1 Liječenje koronarne bolesti srca	6
1.3.1.1 Medikamentozna terapija	6
1.3.1.2 Angioplastika	6
1.3.1.3 Kirurško liječenje	7
1.4 Patofiziološke promjene u organizmu uslijed revaskularizacije miokarda	10
1.4.1 Upalni odgovor	10
1.4.1.1 Medijatori upale	11
1.4.1.1.1 Interleukin 6	12
1.4.1.1.2 Interleukin 10	13
1.4.1.1.3 Monocitni kemotaktični protein-1	14
1.4.1.1.4 Leptin	14
1.4.1.1.5 Rezistin	15
1.4.2 Stres	16
1.4.2.1 Kortizol	16
1.4.3 Ishemija i reperfuzija miokarda	17
1.4.3.1 Troponin	19
2. HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA	21
2.1 Hipoteza istraživanja	21
2.2 Ciljevi istraživanja	21
3. MATERIJALI I METODE	22
3.1 Ispitanici	22
3.2 Operativni zahvati	23
3.2.1 Operacija aortokoronarnog premoštenja upotrebom izvantjelesog krvotoka	23
3.2.2 Operacija aortokoronarnog premoštenja bez upotrebe izvantjelesog krvotoka	23
3.2.3 Operacija zamjene aortalnog zaliska	24
3.3 Laboratorijska obrada	24
3.3.1 Uzorkovanje	25

3.3.2	Određivanje rutinskih biokemijskih biljega te biljega stresa i srčane nekroze iz uzoraka seruma	26
3.3.3	Određivanje rutinskih hematoloških biljega i biljega sistemskog upalnog odgovora iz uzoraka pune krvi i EDTA plazme	27
3.3.4	Određivanje rutinskih biokemijskih biljega iz hepariniziranih štrcaljki	30
3.4	Statistička obrada podataka	30
4.	REZULTATI	32
4.1	Demografski podaci	32
4.2	Rezultati laboratorijske obrade	35
4.2.1	Biokemijski biljezi	35
4.2.2	Biljezi stresa i srčane nekroze	39
4.2.3	Hematološki biljezi	41
4.2.4	Biljezi sistemskog upalnog odgovora	48
4.2.5	Biljezi acidobazične ravnoteže, ionizirani kalcij, glukoza i laktat	51
4.3	Povezanost biljega sistemskog upalnog odgovora sa biljezima stresa i srčane nekroze	58
4.4	Predviđanje ishoda bolesnika i postoperativnih komplikacija pomoću intenziteta promjene biljega sistemske upale, stresa i srčane nekroze	60
4.5	Predviđanje ishoda bolesnika i komplikacija pomoću koncentracije ispitivanih biljega u prve tri točke mjerenja	66
5.	RASPRAVA	79
6.	ZAKLJUČCI	92
7.	POPIS LITERATURE	93
8.	POPIS KRATICA	102
9.	ŽIVOTOPIS	105
10.	POPIS RADOVA	106

1. UVOD

1.1 Građa srca

Srce je šuplji mišićni organ smješten u prednjem dijelu prsne šupljine, iza prsne kosti, između dva plućna krila i iznad dijafragme. Veličine je stisnute šake i teži otprilike 275 g u žena i 325 g u muškaraca (1). Srce se sastoji od tri stijenke - vanjska (epikard), srednja (miokard) i unutarnja (endokard) te 4 šupljine - 2 atrijske i 2 ventrikulske. Izvana ga obavija srčana ovojnica - perikard. Između atrijske i ventrikulske se nalaze srčani zalisci - mitralni zalistak između lijeve atrijske i ventrikulske, te trikuspidalni zalistak između desne atrijske i ventrikulske. Desni ventrikul pumpa krv u plućnu arteriju preko pulmonarnog zaliska, dok lijevi ventrikul pumpa krv u aortu preko aortalnog zaliska.

Iako je srce ispunjeno krvlju, ona pruža vrlo malo nutritivnih tvari i kisika srčanom tkivu. Srčano tkivo potrebnim nutrijentima i kisikom opskrbljuje zasebna struktura krvnih žila - koronarne arterije (2). Glavne koronarne arterije su promjera 3-5 mm te se postepeno sužavaju do malih arterijskih promjera i muskularnih arteriola promjera 150-300 μm , odnosno 20-150 μm i konačno do prekapilarnih arteriola promjera 10-20 μm (3).

Iz aorte se prema srcu granaju dvije koronarne arterije - lijeva i desna koronarna arterija. Lijeve koronarne arterije (engl. *left coronary artery*, LCA) polazi uz aortu, između glavne plućne arterije i lijeve atrijske. Usmjerena je prema lijevo i prema stražnjoj strani. Grana se na dva veća ogranka - lijevu prednju silaznu arteriju (engl. *left anterior descending artery*, LAD) te lijevu cirkumfleksnu arteriju (engl. *left circumflex artery*, LCX). Uz navedene glavne ogranke, arterija ima i manje marginalne ogranke.

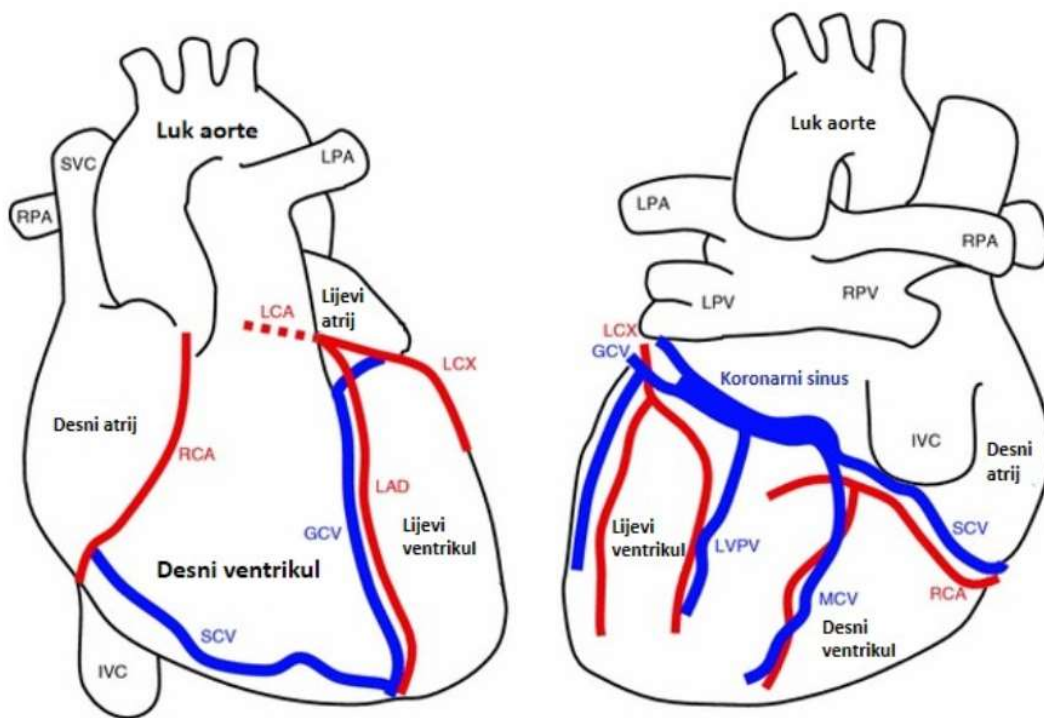
Desna koronarna arterija (engl. *right coronary artery*, RCA) polazi iz desne aortalne sinusa, slijedi koronarni žlijeb na desno te završava na stražnjoj strani srca. Od nje se odvaja nekoliko ogranaka od kojih su najznačajniji marginalni ogranak te stražnji silazni ogranak. Ostali manji ogranaci su atrijski i nodalni.

Nasuprot arterijama, odvod krvi bogate ugljičnim dioksidom i otpadnim tvarima osiguravaju koronarne vene. Venski sustav započinje postkapilarnim venulama promjera 10-50 μm , nakon kojih se postepeno šire do malih i muskularnih vena promjera 50-300 μm , odnosno $>300 \mu\text{m}$. Muskularne vene se šire u velike koronarne vene promjera 1-7 mm koje se slijevaju u najveću venu srca - koronarni sinus promjera $\sim 10 \text{ mm}$ (3).

Najznačajniji venski sustavi srca su:

- 1) sustav koronarnog sinusa - čine ga koronarni sinus (najveći venski sabirni kanal srca) i njegove pritoke - velika, srednja i mala koronarna vena;
- 2) prednje koronarne vene;
- 3) najmanje vene srca (*vv. cardiaca minima*).

Glavne krvne žile srca prikazan je na slici 1.



Slika 1. Prikaz glavnih krvnih žila srca. Crveno su označene koronarne arterije: LCA - lijeva koronarna arterija, LCX - lijeva cirkumfleksna arterija, LAD - lijeva prednja silazna arterija i RCA - desna koronarna arterija. Plavo su označene koronarne vene: koronarni sinus, GCV - velika koronarna vena, MCV - srednja koronarna vena, SCV - mala koronarna vena, LVPV - lijeva ventrikularna stražnja vena.

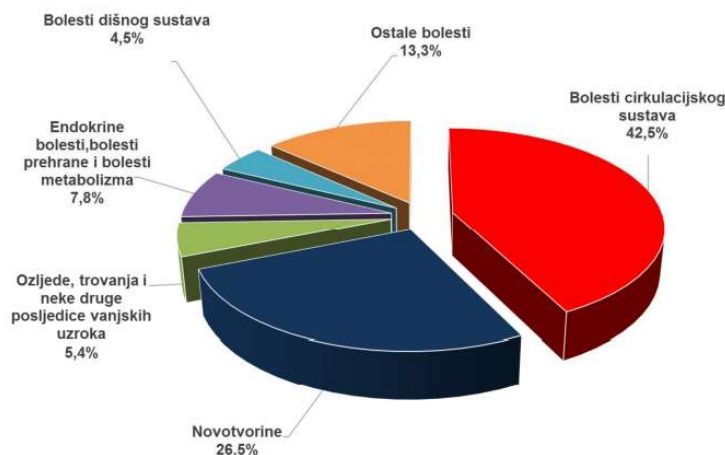
LPA/RPA - lijeva/desna plućna arterija, LPV/RPV - lijeva/desna plućna vena SVC - gornja šuplja vena, IVC - donja šuplja vena. Preuzeto i prilagođeno prema (3).

1.2 Kardiovaskularne bolesti

Kardiovaskularne bolesti predstavljaju široku lepezu oboljenja koje, kako sam naziv kaže, obuhvaćaju srce i krvne žile, a koje prema Međunarodnoj klasifikaciji bolesti, povreda i uzroka smrti uključuju: akutnu reumatsku groznicu, kronične reumatske srčane bolesti, hipertenzivne bolesti, ishemične (koronarne) bolesti srca, plućnu bolest srca i bolesti plućne cirkulacije, ostale oblike srčanih bolesti, cerebrovaskularne bolesti, bolesti arterija, arteriola i kapilara, bolesti vena, limfnih žila i limfnih čvorova, nesvrstane drugamo te ostale i nespecificirane bolesti cirkulacijskog sustava (4).

Kardiovaskularne bolesti predstavljaju značajan javnozdravstveni problem u cijelome svijetu, što zorno prikazuje incidencija i smrtnost od navedenih bolesti. Naime, tijekom 2017. godine zabilježeno je 19.900.000 novih slučajeva kardiovaskularnih bolesti u 54 zemlje članice Europskog društva za kardiologiju (5). Pri tome se incidencija u pojedinim zemljama članicama kretala od nešto manje od 900 do preko 1400 oboljelih na 100.000 stanovnika. U Republici Hrvatskoj je 2017. godine zabilježena incidencija od 1309 oboljelih, što ju svrstava u zemlje s visokom stopom oboljenja.

Uz veliku stopu oboljenja, kardiovaskularne bolesti zajedno s novotvorinama, čine vodeći uzrok smrtnosti u Republici Hrvatskoj u 2019. godini (6). Skoro jednu polovinu svih uzroka smrti u Republici Hrvatskoj čine upravo kardiovaskularne bolesti, kako je prikazano na slici 2. Od njih je umrlo ukupno 20.020 osoba, s time da je najviše osoba umrlo od ishemijske bolesti srca (7.965) i cerebrovaskularnih bolesti (5.180). Uz navedene bolesti, u vodećih deset uzroka smrtnosti u Republici Hrvatskoj, ubrajaju se i hipertenzija (3.789 umrlih) i ateroskleroza (1.180 umrlih).

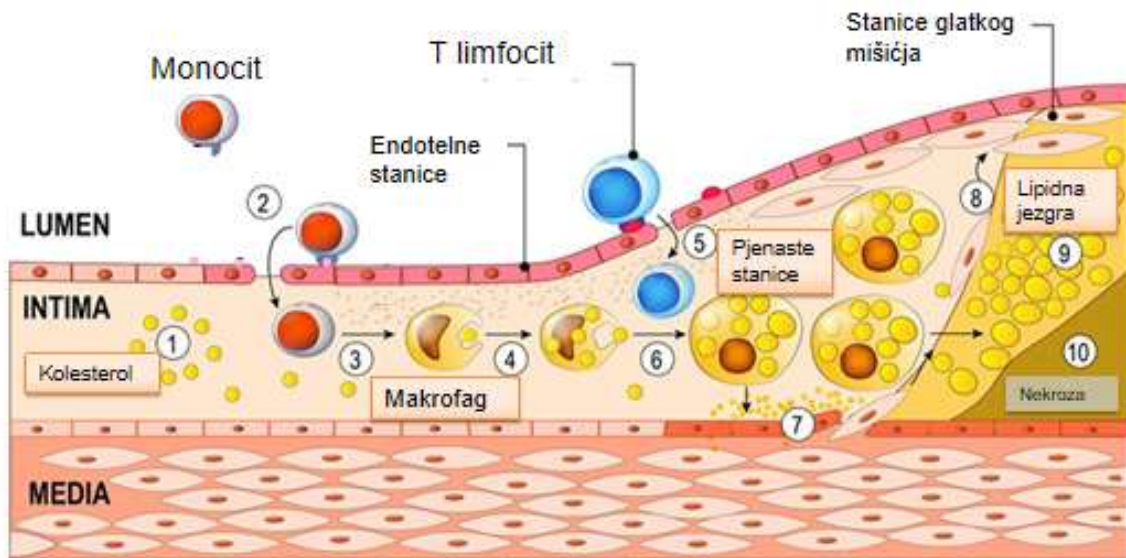


Slika 2. Prikaz uzroka smrtnosti u Republici Hrvatskoj u 2019. godini. Preuzeto iz (6).

1.3 Koronarna bolest srca

Koronarna bolest srca (bolest koronarnih arterija, ishemijska bolest srca) je kardiovaskularna bolest koja nastaje kao posljedica aterosklerotske okluzije koronarnih arterija, a može se klinički manifestirati kao stabilna angina, nestabilna angina, infarkt miokarda ili iznenadna srčana smrt (7).

Aterosklerotske promjene krvnih žila srca, od najranije lezije - masne pruge, do formiranog plaka koji može dalje progredirati u nestabilan plak, formiraju se godinama prije same pojave simptoma. Slika 3. ukratko prikazuje proces formiranja aterosklerotskog plaka u stijenci krvne žile.



Slika 3. Razvoj aterosklerotskog plaka u stijenci krvne žile. Brojevi 1-10 prikazuju korake nastanka aterosklerotskog plaka; od početne infiltracije lipoproteinskih čestica u stijenu krvnih žila, posljedične infiltracije upalnih stanica od kojih monociti prelaze u pjenaste stanice tvoreći masnu prugu. Pjenaste stanice sa infiltriranim stanicama glatkog mišićja tvore fibrozni plak sa lipidnom jezgrom ispod koje se nalazi nekrotizirajuće tkivo. Preuzeto i prilagođeno iz (8).

Pri dugotrajnom stanju povišene koncentracije kolesterola u krvi, lipoproteinske čestice niske gustoće (engl. *low density lipoproteins*, LDL), infiltriraju se i nakupljaju u stijenci krvnih žila. Tako nakupljene LDL čestice pomoću reaktivnih oksidativnih čestica (engl. *reactive oxidative species*, ROS) postepeno prelaze u oksidirane LDL čestice koje oštećuju stijenke krvnih žila, što posljedično dovodi do oslobađanja fosfolipida i aktivacije endotelne stanice pri čemu

dolazi do pojačane ekspresije gena za adhezijske i proupalne molekule (9, 10). Kao posljedica navedenih procesa, dolazi do infiltracije monocita u stijenke krvnih žila koji se potom aktiviraju i diferenciraju u makrofage. Makrofagi fagocitiraju nakupljene oksidirane LDL čestice te postaju tzv. pjenaste stanice (engl. *foam cells*). Postepenim nakupljanjem pjenastih stanica formira se lezija koja se u početku naziva masnom prugom. Takve lezije okidaju signalne putove koji dovode do nakupljanja stanica glatkog mišićja koje zatim potiču stvaranje izvanstaničnog matriksa te dolazi do progresije lezije u fibrozni plak. Uz sve navedeno, signalne molekule dovode do infiltracije i T limfocita u stijenke arterija pri čemu dolazi do njihove aktivacije i pojačavanja upale na mjestu stvaranja plaka. Tijekom vremena dolazi i do kalcifikacije plaka, te se u konačnici može stvoriti i kompleksna lezija koja sužava lumen zahvaćenog dijela arterije i koje se sastoji od fibrozne površine ispod koje se nalazi nekrotizirajuće tkivo bogato lipidima.

Nastalo suženje arterije dovodi do nesrazmjera između potreba i opskrbe srčanog mišića kisikom i hranjivim tvarima uslijed čega se javljaju simptomi koronarne bolesti srca poput nelagode, pritiska ili boli koja se širi u čeljust, leđa, rame ili ruku i sl. Navedeni simptomi se najčešće javljaju nakon obilnijeg obroka, napornijeg fizičkog rada ili emotivnog stresa te prolaze nakon odmora ili uz terapiju nitroglicerinom (11).

Kako se ateroskleroza razvija godinama, postoje brojni čimbenici koji doprinose njenom razvoju kao i progresiji. Čimbenici rizika za razvoj koronarne bolesti srca se mogu razvrstati u nepromjenjive - koje čine dob, spol (muški), etnička pripadnost i genetsko nasljeđe; te promjenjive - koje čine prehrana, pretilost, pušenje, nedostatak fizičke aktivnosti, dislipidemija, hipertenzija, hiperuricemija, hiperhomocisteinemija i dr. (7, 12). Budući da se promjene koje dovode do razvoja koronarne bolesti srca razvijaju godinama, a mnogi čimbenici rizika su ipak podložni promjenama, danas mnoge smjernice predlažu promjene u stilu života s ciljem prevencije razvoja bolesti (5, 13). Pri tome preporuke za opću populaciju se odnose prvenstveno na:

1. Prehranu - koja bi trebala biti bogata voćem, povrćem, orašastim plodovima, cjelovitim žitaricama i plodovima mora. Također se savjetuje zamjenu zasićenih masti, monozasićenim i polinezasićenim mastima, izbjegavati prehranu bogatu kolesterolom i solima, rafinirane mesne proizvode i unos *trans* masnih kiselina.
2. Tjelovježbu - preporuča se smanjenje sjedilačkog načina života i uvođenje umjerene tjelovježbe od 150 minuta tjedno ili intenzivne aerobne tjelovježbe od 75 minuta tjedno.

1.3.1 Liječenje koronarne bolesti srca

Koronarna bolest srca se može liječiti:

1. medikamentoznom terapijom;
2. angioplastikom ili perkutanom koronarnom intervencijom (engl. *percutaneous coronary intervention*, PCI);
3. Kirurškim liječenjem.

1.3.1.1 Medikamentozna terapija

Terapija koronarne bolesti srca lijekovima se provodi anti-ishemijskim lijekovima, anti-agregacijskim lijekovima, inhibitorima protonske pumpe i hipolipemicima (7, 14).

Anti-agregacijski lijekovi (aspirin, oralni inhibitori P2Y₁₂ trombocitnog receptora, rivaroksaban) su ključni u sekundarnoj prevenciji pojedinaca sa kroničnom koronarnom bolesti srca. Osobito su važni u pojedinaca koji su preboljeli infarkt miokarda, a koji imaju visoki rizik za ponovljene ishemijske događaje i niski rizik od krvarenja, budući da se kod njih propisuje dugotrajna dualna anti-agregacijska terapija.

Anti-ishemijski lijekovi preveniraju ishemiju miokarda i posljedične simptome, a uključuju beta blokatore, antagoniste kalcija, nitrate, ranolazin i dr.

Inhibitori protonske pumpe, poput omeprazola i esomeprazola, smanjuju rizik gastrointestinalnog krvarenja u pojedinaca na anti-agregacijskim lijekovima.

Hipolipemici (statini, fibrati i dr.) se koriste za liječenje dislipidemije u slučaju da promjena prehranbenih navika ne pokaže pomake u snižavanju koncentracije lipida i u krvi.

1.3.1.2 Angioplastika

Perkutana koronarna intervencija je minimalno invazivni postupak kojim se odblokira začepljena koronarna arterija. Postupak se provodi tako da se u arteriju umetne balon koji se potom napuše i na mjesto suženja se postavlja mrežica (stent) koji onemogućuje ponovno suženje arterije na zahvaćenom mjestu. PCI se koristi u svrhu uklanjanja simptoma angine i produljenja života bolesnika s koronarnom bolešću srca (15).

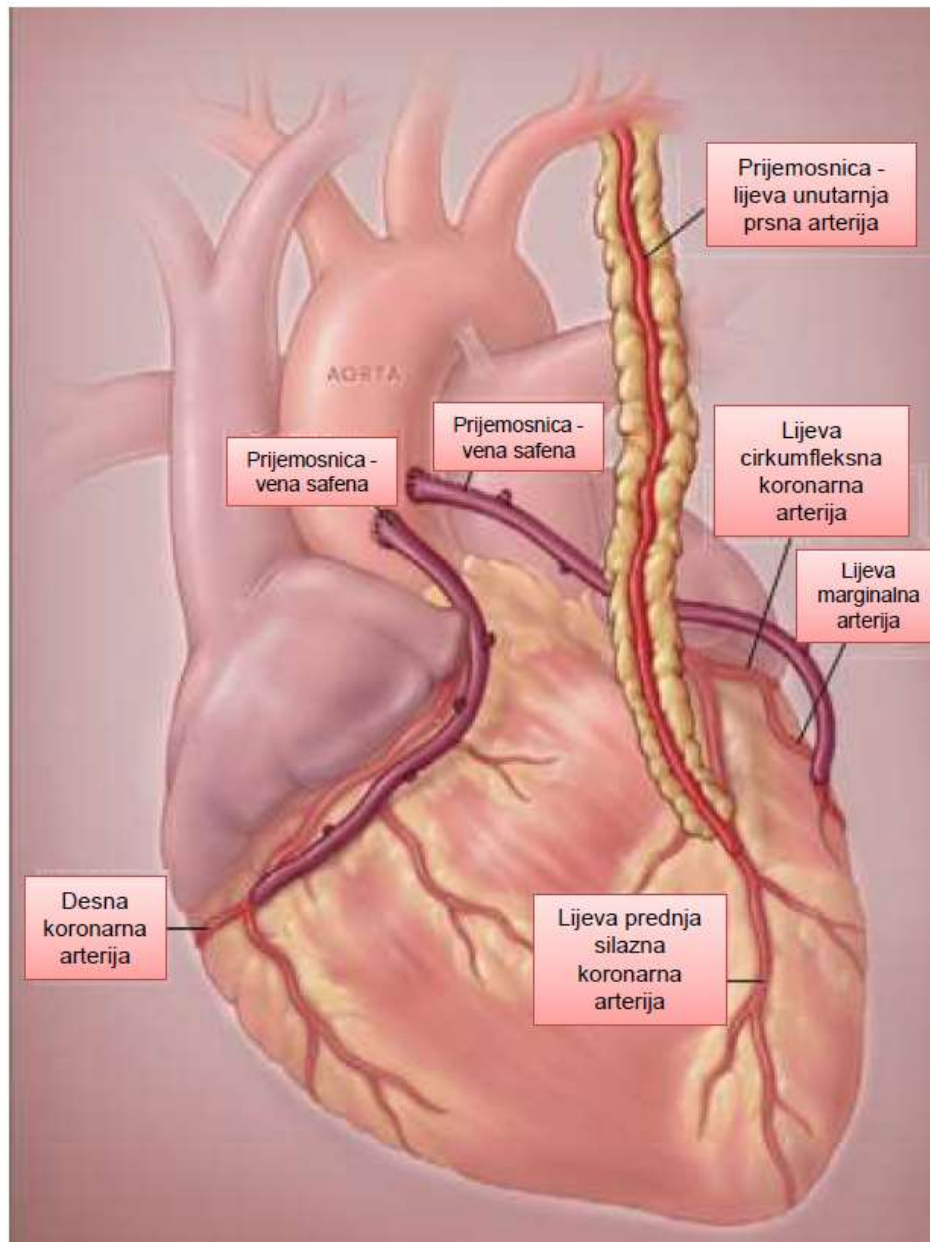
1.3.1.3 Kirurško liječenje

Prema smjernicama Američkog udruženja bolesti srca (engl. *American Heart Association*, AHA) i Američke udruge kardioloških fondacija (engl. *American College of Cardiology Foundation*, ACCF) indikacije za kirurško liječenje koronarne bolesti srca - revaskularizaciju miokarda su sljedeće:

- 1) stenozna glavnog debla lijeve koronarne arterije veća od 50%;
- 2) stenozna LAD i proksimalne LCX veće od 70%;
- 3) trožilna bolest kod asimptomatskih pojedinaca ili pojedinaca sa blagom ili stabilnom anginom;
- 4) trožilna bolest i stenozna proksimalne LAD kod pojedinaca sa slabom funkcijom lijevog ventrikula;
- 5) jednožilna ili dvožilna bolest i velika površina vijabilnog miokarda u području visokog pojedinaca sa stabilnom anginom;
- 6) stenozna proksimalne LAD veća od 70% uz ejijsku frakciju manju od 50% ili dokazanom ishemijom neinvazivnim testovima (16).

Ostale indikacije uključuju i nestabilnu anginu, ishemiju uz infarkt miokarda bez ST elevacije (engl. *non-ST segment elevation myocardial infarction*, NSTEMI) koja ne pokazuje odgovor na terapiju, slabu funkciju lijevog ventrikula, ali sa viabilnim nefunkcionalnim miokardom koji se može revaskularizirati.

Za prenosnice se mogu odabrati bilo arterije (unutarnja prsna, radijalna, gastroepiploična ili donja epigastrična) ili vene (safena) samog bolesnika (16). Shematski izgled srca nakon operacije revaskularizacije trožilne koronarne bolesti srca prikazan je na slici 4.



Slika 4. Shematski prikaz srca nakon operacije revaskularizacije trožilne koronarne bolesti srca u kojoj su korištene prenosnice vene safene na desnu koronarnu i lijevu marginalnu arteriju te lijeva prsna arterija na lijevu cirkumfleksnu arteriju. Preuzeto i prilagođeno iz (17).

Dugi niz godina zlatni standard za izvođenje revaskularizacije miokarda bila je upotreba izvantjelesnog krvotoka (ITK), tzv. *on-pump* tehnika. Izvantjelesni krvotok zapravo podrazumijeva metodu kojom se pomoću stroja krv izvan tijela pumpa i oksigenira. Njegove glavne funkcije su cirkulacija krvi, oksigenacija, ventilacija, sustavno hlađenje i ponovno zagrijavanje te osiguravanje bezkrvnog srčanog tkiva na kojem se može izvoditi operacija (18). Osnovni dijelovi stroja za ITK uključuju sustav pumpi, kanila, cijevi, rezervoara,

oksigenatora, izmjenjivača topline i filtera arterijske linije (19). Tijekom ITK, venska se krv pasivno drenira iz desnog atrija u venski rezervoar. Arterijska pumpa potom tjera krv kroz oksigenator, izmjenjivač topline i filter arterijske linije. Takva, oksigenirana, topla krv se vraća u tijelo bolesnika obično kroz uzlaznu aortu.

Unatoč tome što se ovakvim pristupom postigne srčano tkivo bez krvnog protoka na kojem se u miru može obaviti operativni zahvat, upotreba stroja za ITK i manipulacija uzlaznom aortom sa sobom nosi određene komplikacije poput mionekroze koja nastaje tijekom okluzije aorte, cerebrovaskularnih incidenata, neurokognitivne i bubrežne disfunkcije te sindroma sustavnog upalnog odgovora (engl. *Systemic inflammatory response syndrome*, SIRS) (16). Kako bi se smanjile neželjene komplikacije ITK, razvijena je metoda revaskularizacije na kucajućem srcu, tzv. *off-pump* revaskularizacija. Kod ove metode se ne koristi ITK, već se koriste stabilizirajući uređaji koji smanjuju pokrete srca za vrijeme zahvata kako bi se lakše mogle ugraditi prenosnice. Budući da krv kod ovakvog zahvata i dalje cirkulira srcem, smanjuje se srčana ishemija te manipulacija krvlju kroz sustav ITK. Osnovne razlike između dvije navedene operativne tehnike su prikazane u tablici 1.

Tablica 1. Prikaz osnovnih razlika između *on-pump* i *off-pump* tehnika revaskularizacije miokarda

Značajka	<i>on-pump</i> revaskularizacija	<i>off-pump</i> revaskularizacija
Upotreba stroja za izvantjelesnu cirkulaciju	DA	NE
Kontakt krvi sa stranim površinama/membranama	DA	NE
Pulsirajuće srce tijekom zahvata	NE	DA
Ishemija miokarda	Kompletna	Djelomična
Rizik od razvoja embolije	Značajan	Minimalan
Tkivo na kojem se izvodi operativni zahvat	Beskrvno, mirno, stabilno	Prokrvljeno, u pokretu

1.4 Patofiziološke promjene u organizmu uslijed revaskularizacije miokarda

Operacija revaskularizacije miokarda, bilo sa upotrebom izvantjelesnog krvotoka ili bez njega, kao mnogi drugi zahtjevni operativni zahvati u organizmu uzrokuju niz patofizioloških promjena od kojih su najznačajniji upalni odgovor, stres te ishemija i naknadna reperfuzija miokarda.

1.4.1 Upalni odgovor

Upala je odgovor organizma na ozljedu koja može biti uzrokovana fizičkim, kemijskim ili biološkim čimbenicima. Svrha upale je uklanjanje štetnih čimbenika, kako bi započela regeneracija ozlijeđenog tkiva. Upalu karakteriziraju crvenilo, otok, toplina, bol te gubitak funkcije zahvaćenog tkiva koji je posljedica oslobađanja medijatora upale, aktivacije staničnog imuniteta i povećane permeabilnosti krvnih žila.

Upalni odgovor karakterizira nekoliko koraka koji uključuju prepoznavanje uzročnika površinskim receptorima, aktivacija upalnih puteva, oslobađanje medijatora upale te regrutiranje upalnih stanica (20).

Prepoznavanje uzročnika upale se odvija pomoću receptora za prepoznavanje uzorka (engl. *pattern recognition receptor*, PRR) koji prepoznaju i infektivne uzročnike, kao i endogene molekule koje nastaju uslijed oštećenja tkiva (20). Navedeni receptori su prisutni na površini makrofaga, dendritičkih stanica, epitelnih i endotelnih stanica te fibroblasta (21). Jednom kada je uzročnik prepoznat, slijedi aktivacija upale koja se može odviti pomoću nekoliko signalnih puteva: mitogenom aktivirana protein kinaza (engl. *mitogen-activated protein kinase*, MAPK), neuklearni faktor kappa-B (engl. *nuclear factor kappa-B*, NF-κB) te JAK-STAT signalni put (engl. *janus kinase - signal transducer and activator of transcription*, JAK-STAT) (20). Disregulacija u bilo koja od tri navedena signalna puta može se povezati s upalnim, metaboličkim, autoimunim ili zloćudnim bolestima (22). Krajnji rezultat signalne kaskade navedenih puteva je oslobađanje medijatora upale koji potom dovode do regrutiranja upalnih stanica. Prve stanice koje dolaze na mjesto upale su neutrofilni, zatim slijede monociti, limfociti te mastociti. Neutrofilni su ključni u upalnoj reakciji jer osim što fagocitiraju infektivne mikroorganizme, prezentiraju antigene aktiviranim T limfocitima te oslobađaju kemotaktične čimbenike koji privlače makrofage i dendritične stanice (23). Makrofazi fagocitiraju antigene, djeluju kao antigen prezentirajuće stanice te moduliraju upalu, kao i mastociti, oslobađanjem medijatora upale. Limfociti imaju brojne uloge u upalnim

reakcijama, uključujući oslobađanje medijatora upale, sinteza imunoglobulina, citotoksično i memorijsko djelovanje itd. (24).

Kako bi se spriječilo da akutna upala prijeđe u kroničnu, aktiviraju se brojni protuupalni mehanizmi koji postepeno dovode do smanjenja koncentracije medijatora upale, smanjene infiltracije upalnih stanica kako bi mogla započeti regeneracija tkiva sa svrhom ponovnog uspostavljanja homeostaze inicijalno zahvaćenog područja (20).

1.4.1.1 Medijatori upale

Medijatori upale su velika skupina biološki različitih regulatornih molekula koji imaju važne funkcije u svim fazama upalne reakcije, uključujući povećanje permeabilnosti krvnih žila, regrutiranju i aktivaciji leukocita itd. (25). U njih ubrajamo vazoaktivne amine, metabolite arahidonske kiseline, čimbenik koji aktivira trombocite (engl. *platelet-activating factor*, PAF), ROS, dušikov oksid (NO), kemokine, citokine, a u novije vrijeme i adipokine (25, 26).

Citokini su skupina polipeptida koji imaju važnu funkciju u moduliranju upalnog odgovora. Oslobađaju se na poticaj različitih čimbenika poput infekcije mikroorganizmima, prepoznavanje putem PRR-a ili drugih citokina (25). Citokini imaju brojne različite funkcije u upalnom odgovoru i posljedično postoje njihove različite podjele. Primjerice citokini se mogu podijeliti ovisno o njihovoj ulozi u imunološkom odgovoru na citokine stečenog imunološkog sustava (obitelj citokina koja posjeduje zajednički γ lanac, engl. *common γ -chain family*), proupalne (interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), interleukin 17 (IL-17), čimbenik nekroze tumora (engl. *tumor necrosis factor*, TNF) te obitelj interferona tipa I, II i III) i protuupalne (IL-6, interleukin 12 (IL-12) i interleukin 10 (IL-10)) citokine, dok se prema vrsti mogu podijeliti na intereukine, interferone, čimbenike nekroze tumora, čimbenike stimulacije kolonija (engl. *colony stimulating factors*, CSF) i dr. (25, 27). Citokini mogu djelovati samostalno ili češće kao kompleksna mreža bioaktivnih molekula u sklopu koje djeluju sinergistički ili antagonistički sve u svrhu postizanja optimalnog i pravovremenog imunološkog odgovora

Kemokini su skupina malih proteina veličine 8-14 kDa koji reguliraju migraciju (kemotaksiju) stanica aktivacijom G proteinom udruženih receptora (engl. *G-protein-coupled receptors*, GPCR) (25, 28, 29). Vezanje kemokina na stanične receptore aktivira unutarstaničnu signalnu kaskadnu reakciju koja dovodi do migracije prema izvoru kemokina. Postoje 4 glavne skupine kemokina ovisno o rasporedu cisteinskih ostataka na N-terminalnom kraju molekule: C-, CC-,

CXC i CX3C kemokini (28). U upalnoj reakciji, njihova je glavna funkcija privlačenje leukocita, prvenstveno neutrofila i monocita, na mjesto upale (25).

Adipokini je zajednički naziv za polipeptidne molekule koje luče adipociti, tj. stanice bijelog masnog tkiva. Razjašnjavanje uloge masnog tkiva kao aktivnog sustava koji doprinosi homeostazi organizma započeo je 1994. godine otkrićem molekule leptina (30). Od tada su otkriveni mnogi adipokini i njihova uključenost u brojne fiziološke i patofiziološke procese poput regulacije apetita (unosa hrane), inzulinske rezistencije, ateroskleroze, upale i imunološke reakcije (26, 31). U skupinu adipokina se ubrajaju brojne proupalne molekule od kojih su najznačajniji leptin, rezistin, kemerin i dr. te protuupalne molekule od kojih na najznačajniji adiponektin, omentin-1 i apelin (32). Adipokini, poput citokina, djeluju kao mreža bioaktivnih molekula te kao spona koja povezuje endokrini, imununološki i živčani sustav (26).

1.4.1.1.1 Interleukin 6

Interleukin 6 je jedan od najvažnijih citokina koji pokazuje i proupalni i protuupalni učinak. Po strukturi je jednolančani glikoprotein koji je izražen u velikom broju stanica uključujući mononeklearne fagocite, T i B limfocite, fibroblaste, endotelne stanice, keratinocite, hepatocite i stanice koštane srži (33, 34). Svoje djelovanje ispoljava putem vezanja na IL-6 receptor čime se mogu aktivirati jedno od 3 mogućih signalnih puteva: JAK-STAT3, JAK-MAPK ili JAK-fosfoinozitol-3 kinaza - protein kinaza B/Akt signalni put (engl. *phosphoinositol-3 kinase*, PI3K – *protein kinase B*, PKB/Akt *pathway*) koji dalje djeluje na aktivaciju NFκB signalnog puta (33). Ovisno o tome koji se signalni put aktivira, razlikovat će se i (pato)fiziološka uloga IL-6, pri se čemu aktivacija STAT3, MAPK, PKB/ Akt signalnih puteva i dalje NF-κB povezuje s patološkim stanjima poput karcinoma, multiple skleroze, Alzeimerove bolesti i dr.

IL-6 ima ulogu u brojnim fiziološkim procesima. Primjerice, u reproduktivnom sustavu ima utjecaj na menstrualni ciklus i spermatogenezu, u koštanom tkivu djeluje na aktivaciju osteoklasta, u jetri potiče regeneraciju oštećenog tkiva. Uz navedene organske sustave, istraživanja su pokazala i ulogu IL-6 u proliferaciji kože, megakariocitopoezi, diferencijaciji makrofaga te diferencijaciji i proliferaciji živčanih stanica.

U imunološkom odgovoru IL-6 djeluje na brojne načine:

- 1) Stimulira stvaranje antigen prezentirajućih stanica;
- 2) Pomaže u sazrijevanju B limfocita;

- 3) Stimulira sintezu i sekreciju imunoglobulina;
- 4) Inducira proliferaciju T limfocita;
- 5) U kombinaciji s IL-1 djeluje na diferencijaciju T limfocita u citolitične T stanice koje dalje aktiviraju citotoksične stanice prirodne ubojice (engl. *natural killer cell*, NK) stanice (33).

Koncentracija IL-6 u krvi u normalnim, fiziološkim uvjetima su vrlo niske, međutim u upalnim stanjima njegova koncentracija može višestruko narasti zbog čega je ovaj citokin našao mjesto i u kliničkoj praksi kao dijagnostički i prognostički biljeg raznih bolesti (35, 36, 37).

1.4.1.1.2 Interleukin 10

Interleukin 10 je prvotno otkriven u miševa kao protein koji inhibira sintezu citokina te stoga nazvan inhibicijskim čimbenikom sinteze citokina (engl. *cytokine synthesis inhibitory factor*, CSIF) (38). IL-10 je protein sastavljen od 178 aminokiselina, a kodiran je genom koji je lociran na kromosomu 1. Svoje djelovanje ispoljava putem vezanja na receptor IL-10R koji je sastavljen od 2 lanca IL-10R1 i IL-10-R2 i JAK-STAT signalnog puta (38).

IL-10 je protuupalni citokin kojeg izlučuju stanice imunološkog sustava - T i B limfociti, dendritične stanice, monociti, makrofagi, eozinofili i mastociti, te druge vrste stanica poput keratinocita, epitelnih stanica i tumorskih stanica (39).

IL-10 u imunološkom odgovoru djeluje tako da:

- 1) Inhibira diferencijaciju i sazrijevanje dendritičnih stanica;
- 2) Inhibira ekspresiju molekula glavnog sustava tkivne podudarnosti klase II (engl. *major histocompatibility complex*, MHC) na dendritičnim stanicama i makrofagima;
- 3) Inhibira sekreciju IL-2, IL-4 i IL-5 antigen prezentirajućih stanica;
- 4) Inhibira sekreciju glavnih proupalnih citokina poput IL-1, IL-6, IL-12, i TNF makrofaga i dendritičnih stanica;
- 5) Inhibira sekreciju određenih kemokina i metaloproteinaza (39).

Uz navedene protuupalne učinke, IL-10 posjeduje i neke propupalne učinke poput stimulacije aktivnosti i produljenje preživljenja te stimulacija proliferacije NK stanica i njihova sinteza citokina (39).

1.4.1.1.3 Monocitni kemotaktični protein-1

Monocitni kemotaktični protein-1 (MCP-1) je kemokin iz skupine CC- kemokina, veličine 13 kDa kodiran genom lokaliziranim na dugom kraku kromosoma 17 (28). MCP-1 secerniraju brojne stanice i to prvenstveno monociti i makrofagi, zatim epitelne stanice, stanice glatkog mišićja, fibroblasti, astrociti, mikroglija i dr. (28). MCP-1 ispoljava svoje djelovanje putem GPCR-a nakon čega se aktiviraju unutarstanični signalni putevi. Do sada su istraživanja pokazala da u djelovanju MCP-1 sudjeluju razni signalni putevi - MAP kinaze ERK1 i ERK2, Janus kinaza JAK2, stresom aktivirane kinaze JNK1 i p38, fosfolipaza C i dvije izoforme PI3-kinaze (p85/p110 and C2 α) (28).

MCP-1 ima jednu od glavnih uloga u odgovoru na upalni podražaj. Naime pravovremena migracija imunoloških stanica na mjesto infekcije ili ozljede omogućava uklanjanje štetnog podražaja i njegove štetne učinke koji mogu rezultirati tkivnom ozljedom. U neupalnim uvjetima, MCP-1 potiče homeostatsku migraciju monocita iz koštane srži u krvotok (28).

Iako je bitan sudionik u zdravoj reakciji na upalni podražaj, promjena u njegovoj ekspresiji može dovesti do kronične upale i posljedičnih patoloških promjena u organizmu poput alergija, autoimunih poremećaja, kardiovaskularnih i neoplastičnih promjena i dr. (28).

1.4.1.1.4 Leptin

Leptin je ne-glikozilirani polipeptid veličine 16 kDa koji je otkriven 1994. kloniranjem *ob/ob* miševa, kao produkt *ob* gena (engl. *obese*) (27). Prvenstveno ga luče adipociti, a njegova koncentracija u krvi značajno korelira postotkom masnog tkiva pojedinca (40). Sekretacija leptina pokazuje diurnalnu varijaciju sa povišenim koncentracijama u večernjim i ranojutarnjim satima.

Leptin iskazuje svoje djelovanje vezanjem na specifične tzv. ObR receptore te prvenstveno putem JAK-STAT unutarstaničnog signalnog puta (41).

Leptin ima brojne funkcije u organizmu među kojima su najznačajnije održavanje energetske homeostaze i apetita, neuroendokrino djelovanje te regulacija imunološkog sustava.

Na održavanje energetske homeostaze i apetit leptin djeluje putem svojih ObRb receptora u hipotalamusu čime potiče lučenje anoreksigenih i oreksigenih peptida, tj. peptida koji inhibiraju, odnosno stimuliraju apetit, i time regulira unos hrane u organizam.

Gladovanje uzrokuje pad koncentracije leptina, čime se aktivira neuroendokrini sustav, kao odgovor na smanjen unos energije (41). Navedena aktivacija uključuje pad koncentracije

reproduktivnih hormona kako bi se spriječila potrošnja energije uslijed trudnoće, pad koncentracije hormona štitnjače, porast koncentracije hormona rasta koji uzrokuje mobilizaciju energetske skladišta i pad koncentracije inzulina sličnom čimbeniku rasta 1 (engl. *insulin-like growth factor-1*, IGF-1) koji usporava procese vezane uz rast.

Leptin ima važnu ulogu u imunološkom sustavu, što djelomično može objasniti i činjenicu smanjenog imunološkog odgovora u miševa tijekom gladovanja i pri niskim koncentracijama leptina, te povratu normalnoj funkciji imuniteta primjenom egzogenog leptina (42). Leptin djeluje kao proupalni adipokin, a do sada poznati izravni učinci leptina na imunološki sustav uključuju:

- 1) poticanje fagocitoze neutrofila i monocita te njihovu sekreciju eikozanoida, NO, i proupalnih citokina;
- 2) poticanje kemotaksije i oslobađanje ROS iz neutrofila;
- 3) utjecaj na proliferaciju, diferencijaciju i aktivaciju citotoksičnih NK stanica;
- 4) zaštita dendritičnih stanica od apoptoze i djelovanje na njihovo sazrijevanje te sekreciju citokina;
- 5) aktivacija T limfocita te modulacija T staničnog odgovora (26).

Obzirom na brojne učinke leptina na imunološki sustav, poremećaj u njegovoj homeostazi povezuje se s mnogim bolestima poput inzulinske rezistencije i šećerne bolesti, kardiovaskularnih bolesti, upalnih bolesti crijeva, zglobova i brojnih drugih.

1.4.1.1.5 Rezistin

Rezistin je cisteinom bogati protein veličine 12,5 kDa koji se sastoji od 108 aminokiselina. Kodira ga gen koji se nalazi na 19. kromosomu. U krvi cirkulira u obliku trimera veličine 45 kDa i oligomera veličine >660 kDa, pri čemu su oligomerne forme biološki aktivnije.

Prvotno je otkriven kod miševa 2001. godine te je ime dobio prema svojstvu rezistencije na inzulin (43). Iako je u miševima otkriven kao spona koja povezuje masno tkivo i šećernu bolest, navedena povezanost kod ljudi nije toliko jasna. Razlog tome može biti činjenica da se kod miševa rezistin prvenstveno izlučuje u adipocitima, dok se kod ljudi tek vrlo mali postotak rezistina izlučuje u navedenim stanicama. Naime, rezistin je prvenstveno izražen u monocitima i makrofagima bijelog masnog tkiva, potom u koštanoj srži i drugim tkivima poput trofoblasta placente, sinovijalnoj tekućini (43).

Rezistin djeluje endokrino, autokrino i parakrino na brojne vrste stanice i tkiva. Dosadašnja istraživanja su pokazala kako rezistin ima različita imunomodulatorna djelovanja:

- 1) Potiče makrofage, mononuklearne stanice krvi te zvjezdaste stanice jetre na sekreciju TNF-a, IL-6, IL-12, i MCP-1 putem NFκB signalnog puta;
- 2) Suprimira proupalno stanje u dendritičnim stanicama;
- 3) Smanjuje T stanični odgovor;
- 4) Potiče transkripciju i stabilizira glasničku ribonukleinsku kiselinu (engl. *messenger ribonucleic acid*, mRNA) sintetiziranih citokina te tako pojačava njihovu sekreciju (44).

1.4.2 Stres

Stres se definira kao stanje unutarnje neravnoteže, tj. narušene homeostaze organizma (45). Osovina hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda je neuroendokrini sustav koji regulira koncentraciju glukokortikoida u krvi, hormona koji su među najznačajnijima u odgovoru organizma na stres. Hipotalamus, kao odgovor na stresni stimulus, oslobađa kortikotropin oslobađajući hormon (engl. *corticotropin releasing hormone*, CRH) u portalnu cirkulaciju hipotalamusa i hipofize, te u hipofizi potiče lučenje adrenokortikotropnog hormona (engl. *adrenocortic hormone*, ACTH). Povećanje koncentracije ACTH u krvi uzrokuje oslobađanje kortizola iz nadbubrežne žlijezde. Kortizol dalje negativnom povratnom spregom smanjuje sekreciju ACTH iz hipofize i CRH u hipotalamusu.

Operacija revaskularizacije miokarda uzrokuje veliki odmak od homeostaze organizma. Posljedično dolazi do upalne reakcije te aktivacije autonomnog i neuroendokrinog sustava. Oslobađanje prouplanih citokina poput IL-1, IL-6 i TNF-α djeluje direktno na hipotalamus i hipofizu uzrokujući oslobađanje CRH i ACTH što za posljedicu ima porast koncentracije kortizola (46). Pri tome IL-6 i TNF djeluje direktno na navedena tkiva putem receptora, dok IL-1 djeluje posredno preko prostaglandina čije oslobađanje potiče na lokalnoj razini (46). Zaključno, oslobađanje kortizola iz nadbubrežne žlijezde djeluje kao protektivni mehanizam koji smanjuje snažnu upalnu reakciju uzrokovanu traumom uslijed operativnog zahvata.

1.4.2.1 Kortizol

Kortizol je glavni glukokortikoid koji se sintetizira od kolesterola u nadbubrežnoj žlijezdi. Kortizol ispoljava svoje djelovanje na razne organske sustave u tijelu uključujući kardiovaskularni, reproduktivni i imunološki sustav, štitnjaču, jetru, mozak, mišiće, kožu i dr. Kortizol je, poput drugih glukokortikoida, hormon topiv u mastima te stoga lako prolazi lipidni dvosloj stanične membrane i veže se za unutarstanični receptor kojeg stabiliziraju

protein toplinskog stresa 90 (engl. *heat shock protein 90*, hsp 90) i p23. Nakon vezanja kortizola na receptor hsp90 i p23 disociraju i nastali kompleks hormona i receptora se transportira u jezgru gdje se veže za dio deoksiribonukleinske kiseline zvan elementi glukokortikoidnog odgovora (engl. *glucocorticoid response elements*, GREs) te uzrokuju aktivaciju ili inhibiciju transkripcije gena (46).

Na biokemijskoj razini kortizol djeluje na metabolizam ugljikohidrata i lipida. Kortizol potiče glukoneogenezu (djelovanjem na ključne enzime poput fosfoenolpiruvat karboksilaze i glukoza-6-fosfataze), povećanjem skladištenja glikogena u jetri (aktivirajući enzim glikogen sintazu i inhibirajući glikogen fosforilazu) te smanjuje unos glukoze u periferna tkiva poput mišića i masnog tkiva. Nadalje, kortizol djeluje na metabolizam masti potičući lipolizu i posljedično oslobađanje slobodnih masnih kiselina u cirkulaciju.

Jedno od značajnijih djelovanja kortizola u slučaju stresa je ono na imunološki sustav. Kortizol, kao i drugi glukokortikoidi, posjeduje protuupalno i imunosupresivno djelovanje inhibiranjem ekspresije NF- κ B. NF- κ B regulira prirodni i stečeni imunološki sustav aktivirajući transkripciju brojnih gena (uključujući i one koje kodiraju citokine) te regulira preživljenje, aktivaciju i diferencijaciju imunoloških stanica (47). Inhibicijom ovog faktora, kortizol smanjuje koncentraciju proupalnih citokina i aktivaciju imunoloških stanica čime zaštitnim mehanizmom smanjuje upalnu reakciju koja može dovesti do eventualnog oštećenja tkiva.

1.4.3 Ishemija miokarda

Ishemija miokarda uzrokuje oštećenje tkiva uslijed nedovoljne opskrbe tkiva kisikom i hranjivim tvarima. Koronarna bolest srca je posljedica ateroskleroze koronarnih arterija, te zbog nastalog suženja arterija dolazi do ishemije uslijed nesrazmjera u potrebama miokarda za navedenim tvarima i opskrbe zahvaćenog dijela tkiva oštećenim arterijama; dok je u kardiokirurškim zahvatima ishemija neophodna radi stvaranja anastomoza i stabilizacije srca kako bi se u miru i dovoljno precizno mogao izvesti kirurški zahvat. Povrat cirkulacije kroz koronarne arterije, tj. reperfuzija je nužna kako ne bi došlo do nekroze te bi se miokard ponovno mogao opskrbljivati kisikom i hranjivim tvarima za normalno funkcioniranje. Međutim, ponovna uspostava koronarnog krvotoka može dovesti i do naglih unutarstaničnih promjena miocita poput promjene permeabilnosti mitohondrijske membrane, povećanog stvaranja ROS-a, promjene u biodostupnosti NO te poremećene unutarstanične distribucije Ca^{2+} i Na^{+} iona (48). Suprotno očekivanom, ponovna uspostava krvotoka može dovesti do

nekroze miocita te čak i do ireverzibilne ozljede miokarda što se naziva ishemijsko-reperfuzijskom ozljedom.

Citoplazma miocita je iznimno bogata mitohondrijima koji procesom oksidativne fosforilacije osiguravaju veliku količinu energije neophodne za njihovo normalno funkcioniranje. U fiziološkim uvjetima unutarnja membrana mitohondrija je nepropusna, međutim u stanju ishemije u kojem nedostaje hranjivih tvari za energiju i kisika, dolazi do neselektivnog otvaranja mitohondrijskih pora što uzrokuje depolarizaciju membrane i do poremećaja oksidativne fosforilacije te manjak adenozin-trifosfata (ATP) kao dostupnog oblika energije. Nadalje, uslijed nedovoljne količine kisika pojačava se anaerobna glikoliza i raste unutastanična koncentracija laktata. Uslijed acidoze i povećane koncentracije H^+ iona dolazi do njihovog izbacivanja iz stanice u zamjenu za Na^+ iona izvanstaničnog matriksa, čime se akumulira Na^+ unutar stanice. Akumulacija je dodatno povećana uslijed nedostatka ATP-a jer Na^+-K^+ izmjenjivač uslijed manjka dostupne energije nije u stanju izbaciti nakupljene ione izvan stanice u zamjenu za K^+ ione. Posljedično se Na^+ iona izbacuju iz stanice preko Na^+-Ca^{2+} izmjenjivača, zbog čega dolazi do akumulacije Ca^{2+} iona unutar stanice (48, 49). Nedostatak ATP-a i porast unutarstaničnog Ca^{2+} favorizira otvaranje mitohondrijskih pora, međutim kiseli pH uslijed anaerobnog mehanizma to otvaranje sprječava. Ponovna uspostava krvotoka dovodi do naglog porasta, odnosno normaliziranja unutarstaničnog pH čime se potiče otvaranje mitohondrijskih membrana i dolazi do naglog protoka patološki nakupljenih elektrona čime se oštećuju mitohondriji, a uz sve navedeno i normalizacija dotoka kisika uzrokuje pojačanu produkciju ROS-a (48). Takva pojačana i nagla produkcija nadmašuje protektivne mehanizme stanice (katalaza, glutation peroksidaza, superoksid dizmutaza) te dovodi oštećenja važnih unutastaničnih proteina uslijed oksidacije, oštećenja stanične mebrane kao posljedice lipidne peroksidacije i posljedične stanične smrti (48).

Naposljetku, tijekom ishemije je smanjena biodostupnost NO zbog smanjene sinteze uslijed nedostatka kisika. NO ima kardioprotektivno djelovanje brojnim mehanizmima koji između ostalog uključuju inhibiciju ulaska Ca^{2+} u mitohondrije i aktivaciju mitohondrijskih K^+ ATP kanala (48). Međutim, tijekom reperfuzije se biodostupnost NO izrazito povećava, te on poprima štetna svojstva uslijed reakcije sa superoksidnim anionom kao jednim od glavnih predstavnika ROS-a pri čemu nastaje peroksinitrit koji pojačava oštećenja stanica i dovodi do njihove nekroze.

1.4.3.1 Troponin

Troponini su skupina regulatornih proteina koji su dio kontraktilnog aparata miocita. Osnovna kontraktilna jedinica poprečno-prugastih, pa tako i srčanog mišića je sarkomera koja se sastoji od debljih i tanjih proteinskih vlakana. Debeli vlakna čine miozin, a tanka vlakna čine aktinske niti građene od aktina, tropomiozina i troponina. Troponin je kompleks koji služi kao regulatorno mjesto na molekuli aktina za kontrakciju mišića koja započinje depolarizacijom membrane i porastom unutarstanične koncentracije Ca^{2+} iona. Građen je od 3 podjedinice: troponina T veličine 37 kDa koji se veže za tropomiozin, troponina C veličine 20 kDa koji veže Ca^{2+} ione te troponina I veličine 24 kDa koji inhibira aktivnost Mg^{2+} ovisne aktomiozin ATPaze u odsustvu Ca^{2+} iona te na taj način sprječava interakcije aktina i miozina (50). Sve tri podjedinice troponinskog kompleksa dolaze u više različitih izoformi. Izoforme troponina kodiraju različiti geni te se razlikuju u slijedu aminokiselina, a neke od izoformi su eksprimirane specifično u srčanom mišiću. Tako troponin T i I imaju specifične srčane izoforme (cTnT i cTnI), dok troponin C ima samo dvije različite izoforme koje se mogu pronaći i u srčanom i u skeletnom mišiću (1, 50). Iz tog razloga se cTnT i cTnI danas u kliničkoj praksi koriste kao vrlo osjetljivi biljezi oštećenja srca. Naime, nekroza miocita nastupa unutar 15 minuta od nastupa ishemije, dok histološke promjene postaju vidljive nakon 4-6 sati (51). Troponinski kompleks se oslobađa u cirkulaciju uslijed proteolize enzimima poput kalpaina 1 - kalcij ovisna cistein proteaza, kaspaze - cisteinska proteaza i matriks metaloproteinaze 2 - cink ovisna endopeptidaza (52). Nakon oslobađanja, u cirkulaciji se troponinski kompleks može pronaći u različitim oblicima - kao slobodni cTnT i njegovi fragmenti (veličine 39 kDa), slobodni cTnI i njegovi fragmenti (veličine 22,4 kDa), I:C binarni kompleks (veličine 40,4 kDa) te T:I:C ternarni kompleks (veličine 77,5 kDa) (50). Budući da su cTnT i cTnI kompleksi mjerljivi u perifernoj cirkulaciji nekoliko sati nakon nekroze miokarda te da su specifični za srčano tkivo i uz to imaju visoku dijagnostičku osjetljivost, oni se danas koriste kao biljezi izbora u dijagnostici akutnog koronarnog sindroma (53, 54). Pri tome se u dijagnostici prati porast ili pad koncentracije, uz barem jednu vrijednost iznad 99-te percentile poželjno visoko osjetljivog cTnI ili cTnT (engl. *high sensitive*, hs) unutar određenog vremenskog okvira te se prate i klinički pokazatelji poput: simptoma ishemije, promjene ST segmenta ili poremećaj provođenja, pojava Q valova na elektrokardiogramu, dokaz gubitka funkcionalnog miokarda slikovnim tehnikama te dokaz intrakoronarnog tromba angiografijom ili autopsijom (53, 54).

Prve generacije cTn testova nisu bile analitički značajno osjetljive; međutim, razvojem *in vitro* dijagnostike, analitička osjetljivost testova je znatno porasla te je cTn postao mjerljiv i u zdravoj populaciji. Stoga je na referentnoj populaciji definirana 99-ta percentila kao granična vrijednost koja služi u dijagnozi akutnog infarkta miokarda (50). Visoko osjetljivi testovi za mjerenje koncentracije troponina definiraju se kao testovi koji mogu mjeriti vrlo niske koncentracije troponina i imaju analitičku preciznost, tj. koeficijent varijacije (engl. *coefficient of variation*, CV) <10% na 99-oj percentili te mogu izmjeriti koncentraciju troponina u $\geq 50\%$ referentne populacije iznad granice detekcije (engl. *limit of detection*, LoD) (55, 56, 57, 58).

Osim u akutnim stanjima, novija istraživanja upućuju na moguću prognostičku vrijednost cTn u kroničnim stanjima poput kroničnog zatajenja srca, šećerne bolesti, plućne hipertenzije, stabilne bolesti koronarnih arterija te kronične bubrežne bolesti u kojima bi niže koncentracije *hscTn* biljega bile povezane sa smanjenom smrtnošću i boljom prognozom (50).

2 HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

2.1 Hipoteza istraživanja

Hipoteza: Kardiokirurški zahvati uzrokuju sistemski upalni odgovor, koji je u bolesnika na izvantjelesnom krvotoku snažniji u usporedbi s bolesnicima koji nisu podvrgnuti izvantjelesnom krvotoku, te je posljedično koncentracija biljega upale, stresa i srčane nekroze viša u bolesnika na izvantjelesnom krvotoku. Također, intenzitet sistemskog upalnog odgovora tijekom operacije je proporcionalna stresu i opsegu srčane nekroze i može predvidjeti ishod bolesnika i nastanak komplikacija.

2.2 Ciljevi istraživanja

Ciljevi istraživanja bili su ispitati:

- 1) Promjenu sistemskog upalnog odgovora, biokemijskih i hematoloških parametara te biljega stresa i srčane nekroze tijekom i do 5 dana nakon operativnog zahvata aortokoronarnog premoštenja sa i bez izvantjelesnog krvotoka te nakon operacije zamjene aortalnog zaliska;
- 2) Povezanost biljega sistemskog upalnog odgovora sa biljezima stresa i srčane nekroze;
- 3) Može li intenzitet promjene upalnih biljega te biljega stresa i srčane nekroze tijekom perioperativnog perioda predvidjeti ishod bolesnika i nastanak komplikacija.
- 4) Može li koncentracija pojedinih ispitivanih biljega prije ili nakon operativnog zahvata predvidjeti ishod bolesnika i nastanak komplikacija.

3. MATERIJALI I METODE

3.1 Ispitanici

Istraživanje je provedeno u Zavodu za kardiotorakalnu kirurgiju Kliničkog bolničkog centra “Rijeka” u suradnji sa Zavodom za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice “Sveti Duh”, Kliničkim zavodom za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra “Rijeka” i Odjelom za laboratorijsku imunologiju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra “Zagreb”.

U istraživanje su uključeni elektivni bolesnici s višežilnom koronarnom bolesti srca i/ili stenozom glavnog stabla lijeve koronarne arterije kod kojih je bio predviđen operativni zahvat revaskularizacije miokarda i elektivni bolesnici kod kojih je bila predviđena zamjena aortalnog zaliska. Ukupno je 90 ispitanika sudjelovalo u istraživanju, te su oni podijeljeni u 3 skupine kako slijedi: skupina u kojoj se revaskularizacija miokarda izvodila sa izvantjelesnim krvotokom, tzv. *on-pump tehnikom* (CABG skupina), ona u kojoj se zahvat izvodio bez izvantjelesnog krvotoka ili *off-pump tehnikom* (OPCAB skupina) i skupina zamjene aortalnog zaliska (AVRS skupina). Svaka skupina je sadržavala po 30 ispitanika. Kriteriji isključenja su bili: hitni bolesnici, bolesnici kod kojih se uz operaciju revaskularizacije miokarda ili zamjene aortalnog zaliska predviđao i pridruženi operativni zahvat (npr. operacija karotide, operacija drugog zaliska i sl.) te bolesnici kod kojih je tijekom operacijskog zahvata došlo do promjene plana operacije (konverzija iz tehnike bez izvantjelesnog krvotoka u zahvat sa upotrebom stroja za izvantjelesni krvotok).

Prije operativnog zahvata, ispitanicima su uzeti sljedeći anamnestički podaci: dob, spol, visina, težina, hipertenzija, šećerna bolest (tip), pušenje.

Tijekom operativnih zahvata bilježilo se trajanje operacije i broj učinjenih anastomoza, a tijekom hospitalizacije sljedeći klinički ishodi: vrijeme boravka u intenzivnoj jedinici, vrijeme do otpusta iz bolnice, trajanje mehaničke ventilacije, gubitak krvi u mL, potrebe za transfuzijom, upotreba inotropnih agensa ili vazopresora, elektrokardiografske promjene, fibrilacija atrijska, rekurentna angina, postoperativni infarkt miokarda, moždani udar, disfunkcija bubrega, duboka infekcija sternalne kosti, reoperacija i smrtnost unutar 30 dana od operacije.

Istraživanje je provedeno u skladu sa Helsinškom deklaracijom nakon što su ga odobrila Etička povjerenstva Kliničkog bolničkog centra “Rijeka” i Farmaceutsko-biokemijskog

fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Svi ispitanici su upoznati sa istraživanjem i osobno su potpisali informirani pristanak.

3.2 Operativni zahvati

Svi operativni zahvati su rađeni pomoću medijane sternotomije i perikardiotomije.

3.2.1 Operacija aortokoronarnog premoštenja upotrebom izvantjelesog krvotoka

Operacija revaskularizacije miokarda sa upotrebom izvantjelesnog krvotoka odvijala su u uvjetima blage hipotermije.

Za premošćenje suženih dijelova koronarnih arterija korištene su dijelovi unutarnje grudne arterije i dijelovi vene s nogu (*vena safena*). Svim ispitanicima je sistemski iniciran heparin u dozi od 300 IU/kg kako bi se postiglo aktivirano vrijeme zgrušavanja (engl. *activated clotting time*, ACT) od 480 sekundi. Nakon toga se uspostavio izvantjelesni krvotok te primijenila topla kardioplegija.

Postavila se stezaljka na aortu (engl. *cross-clamping*) i napravljene su distalne anastomoze prijemnica. Tijekom postepenog zagrijavanja i retrogradne reperfuzije srca, kreirane su proksimalne anastomoze do uzlazne aorte. Pred kraj zahvata, postavljena su dva drena u perikard, po jedan u svaku pleuralnu šupljinu te su epikardijalno postavljene elektrode privremenog elektrostimulatora srca. Sternum je zatvoren žičanim šavovima u obliku osmice nakon čega je uslijedilo šivanje rane po slojevima.

Na kraju operativnog zahvata, ispitanicima je iniciran protamin kako bi se poništio učinak heparina.

3.2.2 Operacija aortokoronarnog premoštenja bez upotrebe izvantjelesog krvotoka

Operativni zahvat revaskularizacije bez upotrebe izvantjelesnog krvotoka odvijala se u normotermiji. Za premošćenje suženih dijelova koronarnih arterija korištene su dijelovi unutarnje prsne arterije i dijelovi vene s nogu (*vena safena*).

Sisitemska heparinizacija bolesnika postigla se dozom heparina od 150 IU/kg kako bi se postiglo ACT od 300 sekundi.

Koronarne anastomoze su se radile pomoću vakuumskih stabilizatora na kucajućem srcu te uz upotrebu intrakoronarnih šantova. Prvo su rađene distalne anastomoze, a nakon njih su se

radila proksimalne anastomoze do uzlazne aorte s djelomičnim stezanjem (engl. *cross-clamping*) aorte. Na kraju zahvata, ispitanicima je iniciran protamin kako bi se poništio sistemski učinak heparina. U prsni koš su umetnute dvije perikardijalne cijevčice za drenažu. Sternum je zatvoren sa 4 žičana šava u obliku osmice. Rane prsnog koša su sašivene u slojevima.

Uzorci krvi koronarnog sinusa za potrebe istraživanja su uzeti nakon završenih napravljenih prijemnica, a prije administracije protamina.

3.2.3 Operacija zamjene aortalnog zaliska

Operacija zamjene aortalnog zaliska odvijala su u uvjetima blage hipotermije i uz upotrebu izvantjelesnog krvotoka.

Svim ispitanicima je sistemski iniciran heparin u dozi od 300 IU/kg kako bi se postiglo ACT od 480 sekundi. Potom je uspostavljen izvantjelesni krvotok te se primijenila topla kardioplegija. Uslijedila je poprečna aortotomija i ekscizija aortalnog zaliska uz detaljnu dekalifikaciju anulusa. Zatim je implantirana biološki aortalni zalistak pojedinačnim "U" šavovima. Slijedilo je šivanje aortotomije produžnim šavom uz odzračivanje srca i reperfuziju. Nakon uspostave dobrih hemodinamskih vrijednosti, postupno se obustavio izvantjelesni krvotok. Postavljen je jedan dren u lijevo prsište, dva u perikard epikardijalno su se postavile elektrode privremenog elektrostimulatora srca.

Uslijedilo je zatvaranje sternuma sa 4 žičana šava u obliku osmice te šivanje rana po slojevima.

Na kraju operativnog zahvata, ispitanicima je iniciran protamin kako bi se poništio učinak heparina.

3.3 Laboratorijska obrada

U sklopu laboratorijske obrade, svim ispitanicima su se određivali:

A) Biljezi sistemskog upalnog odgovora, odgovora na stres i srčane nekroze: koncentracija IL-6 i IL-10, MCP-1, leptin, rezistin, kortizol i *hsTnT*;

B) Rutinske pretrage: kompletna krvna slika (KKS), diferencijalna krvna slika (DKS), koncentracija hemoglobina, hematokrit, koncentracija C-reaktivnog proteina (CRP), aktivnost kreatin kinaze (CK), izoenzima CK-MB, koncentracija albumina, glukoze, laktata, mokraćne kiseline, ioniziranog kalcija te određivanje parametara acidobazičnog statusa.

Hitne pretrage koje si bile dio rutinske obrade elektivnih bolesnika su odrađene u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra “Rijeka”. Koncentracije CRP-a, mokraćne kiseline, albumina, kortizola i *hsTnT* te aktivnosti CK i CK-MB su određivane u Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice “Sveti Duh”, dok su koncentracije leptina, rezistina, MCP-1 i IL-6 i IL-10 mjerene u Odjelu za laboratorijsku imunologiju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku, Kliničkog bolničkog centra “Zagreb”.

3.3.1 Uzorkovanje

Svim ispitanicima se uzorkovanje vršilo prema shemi prikazanoj u tablici 2.

Tablica 2. Shema uzorkovanja krvi

Redni broj uzorka	Vremenska točka	Vrsta uzorka	Biljezi
1	Prije operativnog zahvata	venska i arterijska krv	A i B
2	Neposredno nakon operativnog zahvata	krv koronarnog sinusa	A
		venska i arterijska krv	B
3	24 sata nakon operativnog zahvata	venska i arterijska krv	A i B
4	3 dana nakon operativnog zahvata	venska i arterijska krv	A
5	5 dana nakon operativnog zahvata	venska i arterijska krv	A

U istraživanju su se tijekom uzorkovanja koristili sljedeći spremnici:

1. epruvete bez antikoagulansa - Z Serum Sep Clot Activator serum epruvete, 3,5 mL proizvođača Greiner Bio-one GmbH, Kremsmunster, Austria za određivanje kortizola, CRP-a, CK, CK-MB, troponina T, albumina, glukoze i mokraćne kiseline;
2. epruvete s antikoagulansom EDTA (engl. *Ethylene-diamine-tetra-acetic-acid*, etilendiaminotetraoctena kiselina) - K₃EDTA epruvete, 3 mL proizvođača Becton Dickinson, Plymouth, Ujedinjeno Kraljevstvo za određivanje IL-6 i IL-10, leptina, rezistina, MCP-1 te KKS i DKS.
3. heparinizirane štrcaljke za određivanje laktata, ioniziranog kalcija i acidobaznog statusa

Uzorci krvi iz koronarnog sinusa su uzeti neposredno nakon završetka operativnog zahvata, prije primjene protamina. U tu svrhu korištena je 18G venska kanila i ne-heparinizirana štrcaljka, a mjesto punkcije zatvoreno je jednim jednovlaknastim šavom.

3.3.2 Određivanje rutinskih biokemijskih biljega te biljega stresa i srčane nekroze iz uzoraka seruma

Uzorci izvađeni u epruvete bez antikoagulansa su se nakon uzorkovanja ostavili u uspravnom položaju na sobnoj temperaturi tijekom 30 minuta kako bi se krv kompletno zgrušala. Nakon toga, uzorci su centrifugirani pomoću centrifuge Megafuge 1.0R (Kendro Laboratory products, Osterode, Njemačka) na 1800 x g tijekom 10 minuta. Po završetku centrifugiranja, iz uzorka su odvojena po 2 alikvota od 500 µL seruma, po jedan za određivanje CRP, CK, CK-MB, albumina i mokraćne kiseline i jedan za određivanje koncentracije kortizola i *hsTnT*. Alikvoti seruma su se pohranili u ledenicu na -80°C do izvršenja analize.

Koncentracije CRP, albumina, mokraćne kiseline te aktivnosti CK i CK-MB su određivanje na analizatoru AU400 (Beckman Coulter, Brea, Kalifornija, SAD) originalnim reagensima tvrtke Beckman Coulter. Metode određivanja navedenih analita navedene su u tablici 3.

Tablica 3. Metode određivanja analita na analizatoru AU400

Analit (jedinica)	Metoda
Mokraćna kiselina (mmol/L)	Fotometrija s urikazom i peroksidazom
Albumin (g/L)	Fotometrija s bromkrezol zelenilom
C-reaktivni protein (mg/L)	Lateks imunoturbidimetrija
Kreatin kinaza (IU/L)	Fotometrija, IFCC preporučena metoda na 37°C
Izoenzim MB kreatin kinaze (IU/L)	Imunoinhibicija M podjedinice, Fotometrija, IFCC preporučena metoda na 37°C

Koncentracije kortizola i *hsTnT* su određivane na analizatoru Cobas e411 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka) originalnim reagensima tvrtke Roche metodom elektrokemiluminescencije.

3.3.3 Određivanje rutinskih hematoloških biljega i biljega sistemskog upalnog odgovora iz uzoraka pune krvi i EDTA plazme

Uzorci krvi izvađeni u spremnike s EDTA, namijenjeni za određivanje kompletne krvne slike, su se odmah po uzorkovanju obradili na hematološkom analizatoru Cell-Dyn CD-1800 (Abbott Diagnostics, Chicago, IL, SAD) metodom impedancije. Mjereni parametri su bili sljedeći: broj eritrocita, koncentracija hemoglobina, hematokrit, srednji volumen eritrocita (engl. *mean corpuscular volume*, MCV), broj leukocita, postotak granulocita, limfocita i tzv. MID stanica (engl. *mid range*) koje uključuju monocite, euzinofile, bazofile, blaste i druge prekursorske stanice te broj trombocita.

Nakon određivanja krvne slike, epruvete s EDTA antikoagulansom su se centrifugirale u centrifugi Megafuge 1.0R (Kendro Laboratory products, Osterode, Njemačka) na 1000 x g tijekom 15 minuta. Iz centrifugiranih uzoraka, odvojio se alikvot od 1 mL plazme za određivanje koncentracije interleukina 6 i 10, leptina, rezistina i MCP-1. Navedeni alikvoti su se pohranili u ledenicu na -80°C do izvršenja analize.

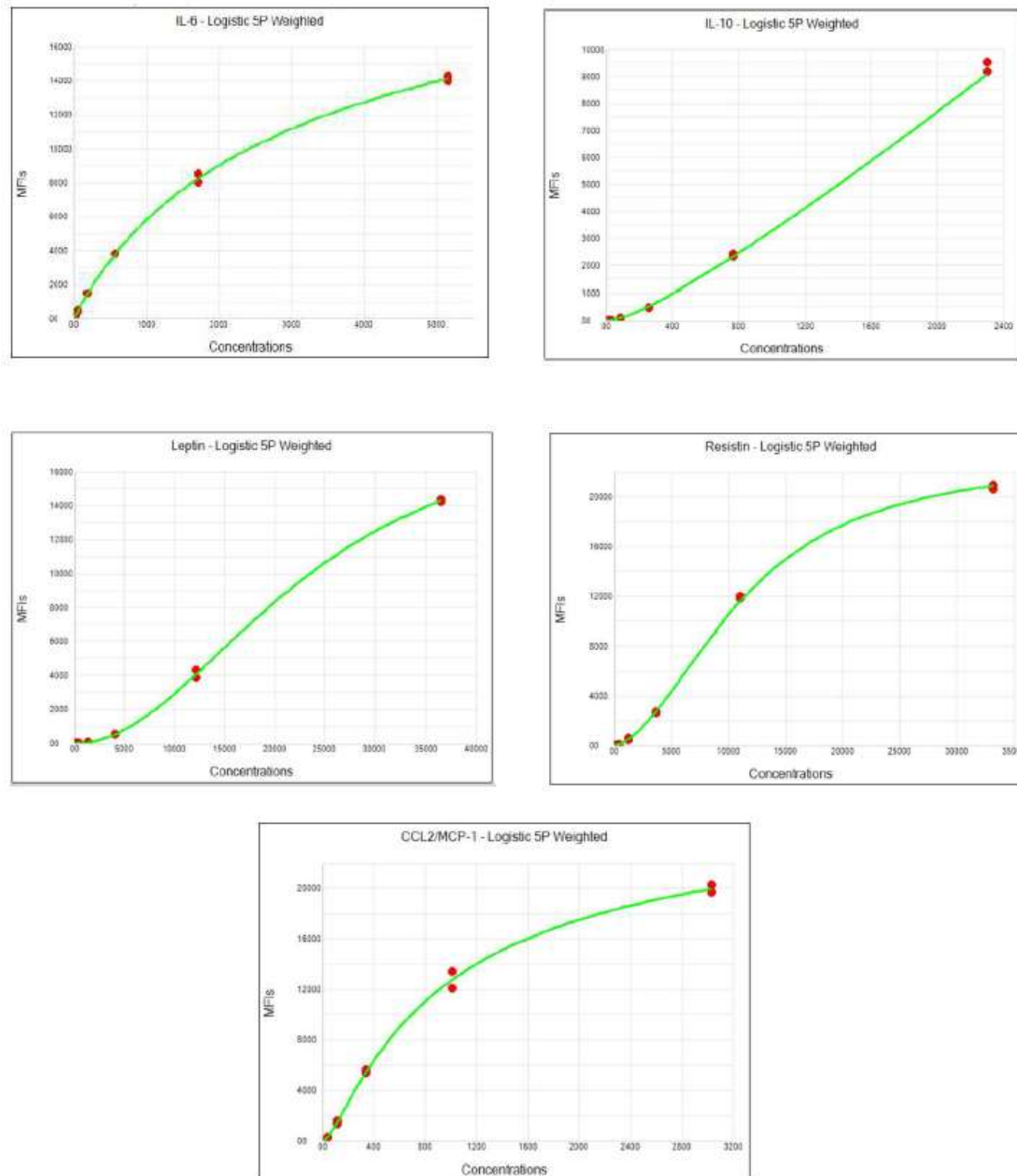
Koncentracije IL-6, IL-10, leptina, rezistina i MCP-1 su se određivale komercijalnim multiplim ELISA (engl. *enzyme linked immunosorbent assay*) kitom (R&D Systems, Minneapolis, SAD). Korišten je osnovni kit *Human Obesity base kit* (LOB000) zajedno sa mješavinom mikročestica specifičnih za IL-6, IL-10, leptin, rezistin i MCP-1 na aparatu Luminex 200™ (Luminex Corporation, Austin, SAD).

Određivanje koncentracija analita na Luminex platformi se temelji na višestrukoj imunokemijskoj detekciji različitih analita koja se odvija u nekoliko koraka. U prvom koraku se u uzorak dodaje reakcijska smjesa koja sadrži detekcijske mikročestice različitih obojenja na koja su vezana primarna protutijela specifična za pojedini analit. U drugom koraku, nakon inkubacije, u uzorak se dodaju sekundarna protutijela obilježena biotinom koja sa primarnim protutijelom i analitom od interesa tvore tzv. sendvič. Na kraju se u reakcijsku otopinu dodaje streptavidin konjugiran fikoeritriinom te nastaje kompleks mikročestica s primarnim protutijelom - analitom - sekundarnim protutijelom obilježenim biotin - streptavidin konjugiran fikoeritriinom. Reakcijska smjesa tako formiranih kompleksa se u trećem koraku propušta kroz uski sustav cijevčica Luminex analizatora gdje se u reakcijskom prozoru obasjava s dva lasera. Prvi laser, pomoću kojega se detektira mikročestica specifična za analit i drugi pomoću kojeg se određuje intenzitet crvenog pigmenta fikoeritrina koji je proporcionalan koncentraciji analita u uzorku.

Protokol metode za određivanje IL-6, IL-10, leptina, rezistina i MCP-1:

- 1) Pripremiti sve reagense prema i razrjeđenja uzoraka plazme (četverostruka razrjeđenja korištenjem diluenta kalibratora) prema propisu proizvođača.
- 2) Otpipetirati 50 μL kalibratora, slijepe probe i razrijeđenih uzoraka u odgovarajuće jažice. Uzorci kalibratora i slijepe probe se rade u duplikatu.
- 3) Resuspendirati pripremljenu mješavinu mikročestica (kuglica specifičnih za analite) votreksiranjem. Pipetirati 50 μL mješavine kuglica u svaku jažicu, prekriti ploču folijom i inkubirati 3 sata na sobnoj temperaturi koristeći horizontalnu mješalicu namještenu na 800 ± 50 rpm.
- 4) Isprazniti jažice automatskom pumpom i isprati ih sa 100 μL pufera za ispiranje.
- 5) Isprazniti jažice automatskom pumpom i dodati 50 μL otopine protutijela obilježenih biotinom. Prekriti ploču folijom i inkubirati 1 sat na sobnoj temperaturi koristeći miješalicu namještenu na 800 ± 50 rpm.
- 6) Isprati jažice postupkom opisanim u koraku 4.
- 7) Isprazniti jažice automatskom pumpom i dodati 50 μL otopine kompleksa fikoeritrina i streptavidina. Prekriti ploču folijom i inkubirati 30 minuta na sobnoj temperaturi koristeći miješalicu namještenu na 800 ± 50 rpm.
- 8) Isprati jažice postupkom opisanim u koraku 4.
- 9) Resuspendirati mikročestice u jažicama dodavanjem 100 μL pufera za ispiranje. Inkubirati 2 minute na sobnoj temperaturi koristeći miješalicu namještenu na 800 ± 50 rpm.
- 10) Očitati rezultate na analizatoru Luminex 200TM unutar 90 minuta.

Primjeri kalibracijskih krivulja za IL-6, IL-10, leptina, rezistina i MCP-1 prikazani su na slici 5.



Slika 5. Prikaz kalibracijskih krivulja za IL-6, IL-10, leptina, rezistina i MCP-1 dobivenih na platformi Luminex 200TM koristeći *Human Obesity Base Kit* i odgovarajuću mješavinu mikročestica.

IL-6 - interleukin 6, IL-10 - interleukin 10, CCL2/MCP-1 - monocitni kemotaktični protein-1, MFI - srednji intenzitet fluorescencije (engl. *mean fluorescence intensity*).

3.3.4 Određivanje rutinskih biokemijskih biljega iz hepariniziranih štrcaljki

Uzorci arterijske krvi izvađeni u heparinizirane štrcaljke za određivanje acidobazične ravnoteže te koncentracije glukoze, laktata i ioniziranog kalcija su se odmah po uzorkovanju obradili na analizatoru Cobas b221 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka). Od parametara acidobazične ravnoteže određivao se pH, parcijalni pritisak kisika i ugljičnog dioksida (pO_2 i pCO_2 , kako slijedi), saturacija hemoglobina kisikom (sO_2), ukupni ugljikov dioksid (TCO_2), bikarbonati (HCO_3^-) te suvišak baza (engl. *base excess*, BE).

Parametri acidobazične ravnoteže su određeni metodama potenciometrije i amperometrije.

Ionizirani kalcij je određen metodom direktne potenciometrije ion selektivnom elektrodom.

Glukoza i laktat su određivani amperometrijskom metodom mjerenjem nastalog vodikovog peroksida (H_2O_2) u oksidacijskim reakcijama s enzimima glukoza oksidazom, odnosno laktat oksidazom.

3.4 Statistička obrada podataka

Prije istraživanja, provedena je analiza snage testa (engl. *power analysis*) temeljem prethodno objavljenih razlika u koncentracijama, standardnih devijacija i klinički značajnih promjena (engl. *reference change value*, RCV) za *hsTnT*, kortizol, IL-6, IL-10, rezistin i leptin (59, 60, 61, 62, 63, 64). Kako bi se postigla snaga istraživanja $\beta=0,80$ i razina značajnosti $\alpha=0,05$, u istraživanje je trebalo uključiti ukupno 30 ispitanika po svakoj skupini.

Podaci uključenih ispitanika su prikupljeni i pripremljeni za statističku obradu u programu Microsoft Excel Office 2010. Statistička obrada podataka je rađena u programu MedCalc, verzija programa 16.8 (Ostend, Belgija).

Za ispitivanje normalnosti distribucije parametara korišten je Kolmogorov-Smirnovljev test. Budući da nisu sve varijable pokazale normalnu distribuciju, rezultati svih parametara su prikazani pomoću medijana i interkvartilnog raspona (25. i 75. percentila).

Kako bi se ispitala razlika u pojedinim parametrima između ispitivanih skupina u određenim vremenskim točkama korišteni su Kruskal-Wallis i Mann Whitney testovi. U slučajevima pronalaženja značajne razlike između medijana ispitivanih populacija, daljnjom analizom tzv. *post-hoc* statističkim testovima prema Conoveru i Student-Newman-Keulsu za usporedbe parova, ispitivano je između kojih skupina postoji razlika. Razlike u vrijednostima parametara između vremenskih točaka ispitane su RM ANOVA i Friedmanovim testom.

Za ispitivanje razlika između kategoričkih varijabli korišten je Fisherov egzaktni i hi kvadrat test. Povezanost između biljega upale, stresa i srčane nekroze je ispitana Spearmanovom korelacijskom analizom. Rezultati korelacijskih koeficijenata su se tumačili na sljedeći način: vrijednosti $0 < r < 0,25$ ili $-0,25 < r < 0$ ukazuju na odsustvo korelacije; vrijednosti $0,25 < r < 0,50$ ili $-0,50 < r < -0,25$ ukazuju na slabu povezanost varijabli; vrijednosti $0,50 < r < 0,75$ ili $-0,75 < r < -0,50$ ukazuju na umjerenu do dobru povezanost parametara, te na kraju vrijednosti $0,75 < r < 1$ ili $-1 < r < -0,75$ ukazuju na vrlo dobru ili odličnu povezanost varijabli (65).

Logistička i višestruka regresijska analiza su se koristile kako bi se ispitalo može li koncentracija ili promjena koncentracije određenog biljega predvidjeti ishod bolesnika. Koncentracije pojedinih biljega, odnosno razlike u njihovim koncentracijama između prvog i drugog te drugog i trećeg mjerenja su se smatrale nezavisnim varijablama. Zavisne varijable u logističkoj regresijskoj analizi su bile: upotreba inotropnih agenasa ili vazopresora, elektrokardiografske promjene, fibrilacija atriya, rekurentna angina, postoperativni infarkt miokarda, moždani udar, disfunkcija bubrega, duboka infekcija sternalne kosti i reoperacija. Zavisne varijable u višestrukoj regresijskoj analizi su bile sljedeće: vrijeme provedeno u jedinici intenzivne skrbi, vrijeme do otpusta iz bolnice, trajanje mehaničke ventilacije i gubitak krvi u mL.

Vrijednosti $P < 0,05$ su se smatrale statistički značajnima.

4 REZULTATI

4.1 Demografski podaci ispitanika

Tablica 4. Usporedba demografskih podataka ispitanika u istraživanim skupinama

Demografski podaci	OPCAB skupina	CABG skupina	AVRS skupina	P
N _{ukupni}	30	30	30	/
Muški spol, N (%)	20 (66,7%)	24 (80%)	23 (76,7%)	0,468*
Dob (godine) [†]	67 (53-78)	69 (52-77)	67 (21-80)	0,5181***
Visina (cm)	173 (165-176)	174 (162-177)	169 (165-175)	0,516**
Težina (kg)	84 (75-92)	84 (80-90)	83 (74-92)	0,928**
				1vs.2: 0,112 [§]
Hipertenzija, N/N _{ukupni}	26/30	30/30	24/30	1vs.3: 0,731 [§]
				2vs.3: 0,024 [§]
<i>Diabetes mellitus,</i> N/N _{ukupni}	13/30	19/30	9/30	0,033*
Pušenje, N/N _{ukupni}	9/30	7/30	4/30	0,295*

*hi kvadrat test, **ANOVA test, *** Kruskal-Wallis test, [§] Fisherov egzaktni test, [†] dob je prikazana kao medijan (raspon)

OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska

Uočena je statistički značajna razlika u broju oboljelih od šećerne bolesti u ispitanika podvrgnutim revaskularizaciji miokarda sa upotrebom izvantjelesnog krvotoka u odnosu na ostale dvije ispitivane skupine.

Tablica 5. Prikaz usporedbe parametara praćenih tijekom postoperativnog razdoblja

Parametar	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
Broj anastomoza	3 (3-5)	5 (3-5)	/	0,018 [#]
Trajanje operacije (min)	180 (150-200)	180 (180-225)	180 (160-200)	0,123 ^{**}
Vrijeme provedeno u jedinici intenzivne skrbi (sati)	24 (20-45)	21 (18-28)	21 (19-23)	0,138 ^{***}
Vrijeme do otpusta iz bolnice (dani)	6 (6-8)	7 (6-8)	7 (5-7)	0,450 ^{***}
Trajanje mehaničke ventilacije (sati)	9 (8-13)	12 (7-17)	11 (8-14)	0,686 ^{***}
Gubitak krvi drenažom nakon operacije (mL)	760 (470-1150)	1050 (800-1600)	800 (400-1300)	0,032 ^{**}
Potrebe za transfuzijom, N/N _{ukupni}	4/30	10/30	5/30	0,126
Upotreba inotropnih agenasa ili vazopresora, N/N _{ukupni}	2/30	22/30	12/30	<0,001
Elektrokardiografske promjene, N/N _{ukupni}	2/30	5/30	2/30	1vs.2: 0,424 ^{\$} 1vs.3: 1,000 ^{\$} 2vs.3: 0,424 ^{\$}
Fibrilacija atrijske, N/N _{ukupni}	2/30	6/30	0/30	1vs.2: 0,254 ^{\$} 1vs.3: 0,492 ^{\$} 2vs.3: 0,024 ^{\$}
Rekurentna angina, N/N _{ukupni}	0/30	0/30	0/30	1,000
Postoperativni infarkt miokarda, N/N _{ukupni}	0/30	0/30	0/30	1,000
Moždani udar, N/N _{ukupni}	1/30	0/30	0/30	1,000
Disfunkcija bubrega, N/N _{ukupni}	0/30	0/30	0/30	1,000

Parametar	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
Duboka infekcija sternuma, N/N _{ukupni}	0/30	2/30	0/30	1vs.2: 0,492 ^{\$} 1vs.3: 1,000 ^{\$} 2vs.3: 0,492 ^{\$}
Reoperacija, N/N _{ukupni}	0/30	2/30	2/30	1vs.2: 0,492 ^{\$} 1vs.3: 0,492 ^{\$} 2vs.3: 1,000 ^{\$}

ANOVA test, *Kruskal-Wallis test, #Mann-Whitney test, \$ Fisherov egzaktni test

OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.

Ispitanici koji su bili podvrgnuti revaskularizaciji miokarda sa upotrebom izvantjelesnog krvotoka imali su više anastomoza napravljenih tijekom operativnog zahvata, češće im je bio indiciran inotropni agens ili vazopresor i izgubili su više krvi poslije operacije drenažom od bolesnika u ostale dvije ispitivane skupine. Također bolesnici kojima se aortokoronarno premošćenje izvodilo sa upotrebom ITK imali su učestalije postoperativne fibrilacije atrijske u odnosu na ispitanike kojima je mijenjan aortalni zalistak.

4.2 Rezultati laboratorijske obrade

4.2.1 Biokemijski biljezi

Tablica 6. Usporedba biokemijskih biljeza u različitim vremenskim točkama

Analit	Vremenska točka uzorkovanja	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
Mokraćna kiselina (μmol/L)	1	384 (338-446)	369 (323-397)	440 (335-493)	0,262**
	2	347 (304-394)	298 (257-331)	361 (265-390)	0,033**
	3	349 (303-387)	297 (264-349)	353 (260-407)	0,196**
	4	369 (295-423)	314 (266-384)	369 (241-428)	0,481**
	5	365 (308-449)	331 (262-388)	373 (281-442)	0,315**
Albumin (g/L)	1	42 (41-43)	42 (39-46)	41 (36-43)	0,218**
	2	32 (31-34)	23 (21-27)	24 (22-25)	<0,001*
	3	33 (31-35)	31 (29-32)	33 (31-35)	0,004**
	4	32 (29-33)	31 (30-34)	32 (30-34)	0,801*
	5	33 (31-35)	33 (31-34)	32 (31-34)	0,443*
CRP (mg/L)	1	1,6 (1,0-3,9)	1,5 (1,0-3,1)	1,0 (1,0-2,2)	0,297**
	2	1,4 (1,0-2,9)	1,0 (1,0-1,9)	1,0 (1,0-1,6)	0,104**
	3	96,0 (67,7-117,6)	90,7 (64,1-115,3)	64,0 (49,9-90,1)	0,012**
	4	144,2 (102,9-178,4)	157,9 (123,2-189,1)	142,9 (81,7-174,8)	0,303*

Analit	Vremenska točka uzorkovanja	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
CRP (mg/L)	5	65,7 (46,5-103,2)	77,0 (54,2-98,3)	71,0 (47,8-102,6)	0,814**
#Referentni interval: 0,2-5,0					
	1	35 (25-60)	65 (30-89)	41 (26-53)	0,081**
	2	39 (28-57)	120 (88-188)	127 (78-190)	<0,001**
CK (IU/L)	3	222 (170-441)	522 (337-731)	363 (220-573)	0,004**
#Referentni interval: M: 10-177 Ž: 10-153					
	4	158 (107-427)	254 (141-438)	176 (92-338)	0,336**
	5	67 (45-133)	79 (55-165)	60 (47-122)	0,609**
CK-MB (IU/L)	1	10 (10-10)	10 (10-10)	10 (10-10)	0,079**
	2	10 (10-10)	11 (10-14)	11 (10-12)	P<0,001**
	3	10 (10-13)	14 (12-22)	15 (12-18)	P<0,001**
#Referentni interval: 0-10					
	4	10 (10-10)	10 (10-11)	10 (10-10)	0,602**
	5	10 (10-10)	10 (10-10)	10 (10-10)	0,564**

*ANOVA test, ** Kruskal-Wallis test

Referentni intervali se odnose na odraslu populaciju; M- muškarci, Ž-žene.

CRP - C-reaktivni protein, C - kreatin kinaza, CK-MB – MB izoenzim kreatin kinaze.

OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.

Prije operativnog zahvata nije postojala statistički značajna razlika u biokemijskim biljezima između ispitivanih skupina.

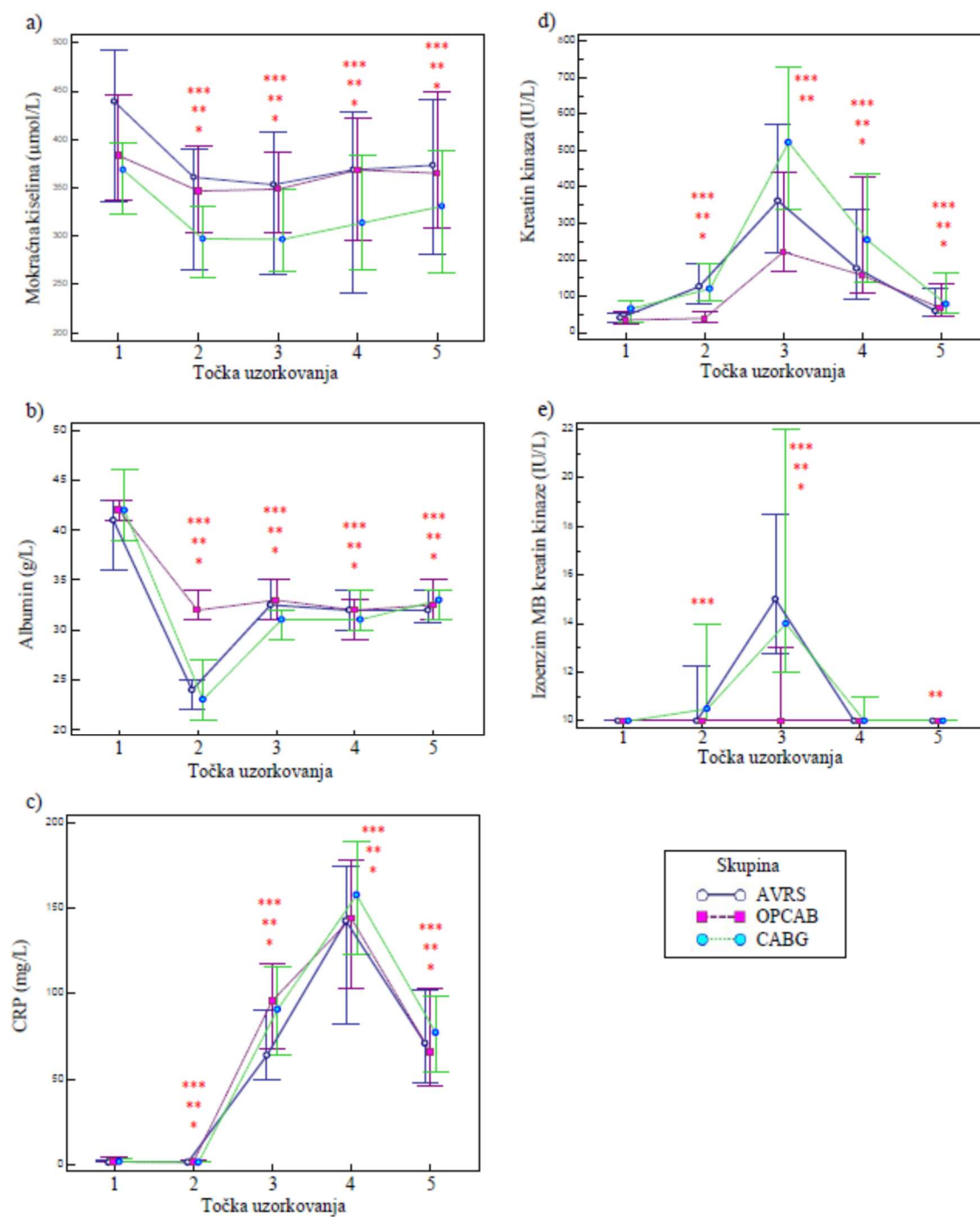
Neposredno nakon operativnog zahvata uočena je statistički značajna razlika u koncentraciji albumina i mokraćne kiseline, aktivnosti CK i masi izoenzima CK-MB između ispitivanih skupina. *Post hoc* analiza utvrdila je da su koncentracije albumina i mokraćne kiseline bile

veće, a aktivnost CK i masa izoenzima CK-MB bile manje u ispitanika kojima je operativni zahvat bio izveden na kucajućem srcu u usporedbi s bolesnicima koji su bili podvrgnuti izvantjelesnom krvotoku

Dvadeset četiri sata nakon operacije između ispitivanih skupina postojala je razlika u koncentraciji albumina i CRP, te u aktivnosti CK i masi izoenzima CK-MB. *Post hoc* analiza je pokazala značajno manju koncentraciju CRP u ispitanika kojima je mijenjan aortalni zalistak u odnosu na bolesnike kojima je proveden zahvat revaskularizacije miokarda i značajno manju koncentraciju albumina u ispitanika podvrgnutim revaskularizaciji miokarda sa izvantjelesnim krvotokom u odnosu na druga dva ispitivana zahvata. Nadalje, aktivnost CK je bila značajno manja u ispitanika kojima je operativni zahvat bio izveden na kucajućem srcu u usporedbi s bolesnicima koji su bili podvrgnuti izvantjelesnom krvotoku, dok je masa izoenzima CK-MB bila veća u skupini operativnog zahvata bez izvantjelesnog krvotoka u odnosu na druge dvije skupine.

Treći i peti dan postoperativnog perioda nije bilo razlike u ispitivanim biokemijskim biljezima.

Dinamika biokemijskih biljega prikazana je na slici 6.



Slika 6. Prikaz promjene biokemijskih biljega u ispitivanim skupinama: a) mokraćne kiseline, b) albumina, c) C-reaktivnog proteina, d) kreatin kinaze, e) izoenzima MB kreatin kinaze tijekom perioperativnog perioda. *, **, *** prikazuju statistički značajne razlike u odnosu na prvu točku mjerenja za OPCAB, CABG i AVRS skupine, kako slijedi, ispitano RM ANOVA ili Friedmanovim testom.

CRP – C-reaktivni protein; OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.

4.2.2 Biljezi stresa i srčane nekroze

Tablica 7. Usporedba kortizola i *hsTnT* kao biljega stresa i srčane nekroze u različitim vremenskim točkama

Analit	Vremenska točka uzorkovanja	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
Kortizol (nmol/L)	1	392,2 (298,2-484,4)	500,3 (393,1-577,3)	390,2 (245,8-444,6)	0,019*
	2	142,9 (93,7-195,5)	176,9 (103,4-405,9)	264,8 (145,5-463,7)	0,019*
	3	1218,0 (915,6-1422,0)	1448,5 (941,2-1699,0)	1219,5 (909,6-1494,0)	0,572*
<i>hsTnT</i> (ng/L)	1	14 (8-22)	11 (9-23)	17 (13-25)	0,277*
	2	94 (47-282)	97 (53-162)	150 (105-226)	0,107*
	3	136 (79-182)	243 (166-410)	331 (253-433)	<0,001*

* Kruskal-Wallis test

#Referentni intervali se odnose na odraslu populaciju:

##99-ta percentila se odnosi na odraslu populaciju.

hsTnT – visoko osjetljivi troponin T;

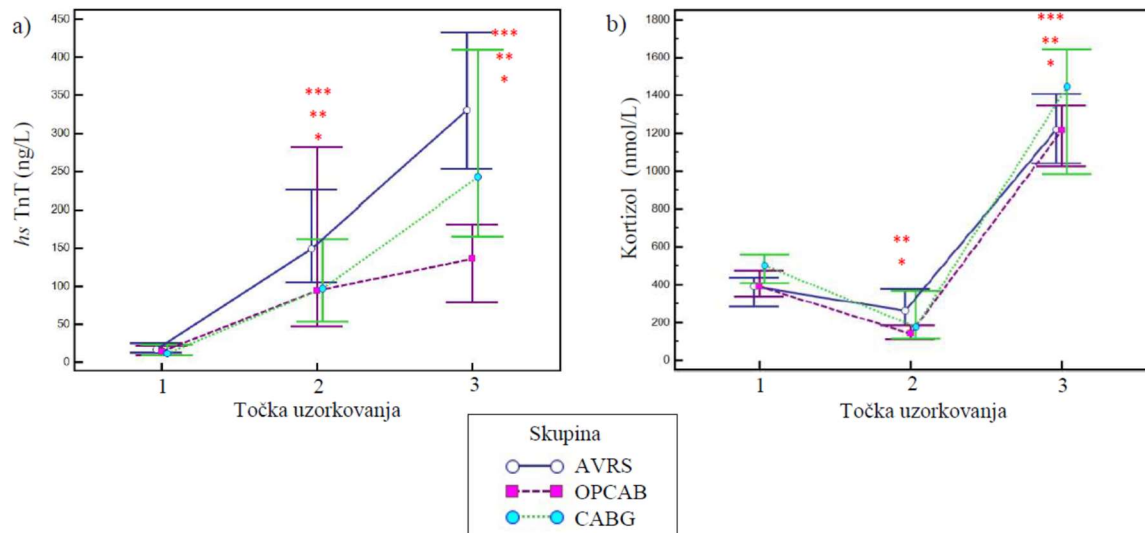
OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.

Pronađena je statistički značajna razlika u koncentraciji kortizola na početku i neposredno nakon završetka operativnog zahvata u ispitivanim skupinama. *Post hoc* analiza je pokazala statistički značajno veću koncentraciju kortizola u skupini ispitanika koji su bili podvrgnuti revaskularizaciji miokarda sa upotrebom izvantjelesnog krvotoka u odnosu na druge dvije ispitivane skupine, dok je neposredno nakon operativnog zahvata koncentracija kolesterola bila statistički značajno manja u skupini bolesnika kojima je zamijenjen aortalni zalistak.

hsTnT se statistički značajno razlikovao između skupina 24 sata nakon operativnog zahvata. *Post hoc* analiza je pokazala da je njegova koncentracija bila statistički značajno manja u

skupini revaskularizacije miokarda bez izvantjelesnog krvotoka u usporedbi sa druge dvije skupine.

Dinamika kortizola i *hsTnT* u perioperativnom periodu u sve 3 ispitivane skupine je prikazana na slici 7.



Slika 7. Prikaz promjene *hsTnT* i kortizola u ispitivanim skupinama tijekom perioperativnog perioda. *, **, *** prikazuju statistički značajne razlike u odnosu na prvu točku mjerenja za OPCAB, CABG i AVRS skupine, kako slijedi, ispitano Friedmanovim testom.

hsTnT – visoko osjetljivi troponin T, OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.

4.2.3 Hematološki biljezi

Tablica 8. Usporedba hematoloških biljega u različitim vremenskim točkama

Analit	Vremenska točka uzorkovanja	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
Eritrociti (x10 ¹² /L) #Referentni intervali: M: 4,34-5,72 Ž: 3,86-5,08	1	4,39 (4,19-4,6)	4,61 (4,36-4,81)	4,43 (3,92-4,82)	0,130*
	2	3,82 (3,51-4,04)	3,36 (3,09-3,55)	3,30 (3,16-3,50)	<0,001*
	3	3,73 (3,49-3,91)	3,82 (3,66-4,03)	3,74 (3,62-3,97)	<0,437**
	4	3,45 (3,17-3,72)	3,50 (3,24-3,78)	3,68 (2,44-3,92)	0,064**
	5	3,36 (3,26-3,71)	3,68 (3,50-3,92)	3,68 (3,38-3,86)	0,019**
Hemoglobin (g/L) #Referentni intervali: M: 138-175 Ž: 119-157	1	130,0 (122,0-139,0)	133,0 (127,0-139,0)	132,0 (115,0-140,0)	0,331*
	2	111,5 (103,0-118,0)	97,0 (87,0-102,0)	93,0 (87,0-100,0)	<0,001**
	3	109,0 (102,0-116,0)	110,0 (107,0-115,0)	110,0 (107,0-114,0)	0,949**
	4	100,0 (91,0-107,0)	103,0 (96,0-107,0)	106,0 (96,0-113,0)	0,241*
	5	98,5 (93,0-108,0)	106,5 (100,0-113,0)	103,5 (98,0-114,0)	0,030*
Hematokrit (L/L) #Referentni intervali: M: 138-175 Ž: 119-157	1	0,393 (0,370-0,420)	0,411 (0,397-0,420)	0,404 (0,356-0,430)	0,281**
	2	0,344 (0,320-0,358)	0,294 (0,270-0,318)	0,291 (0,274-0,320)	<0,001**
	3	0,341 (0,310-0,350)	0,339 (0,326-0,356)	0,340 (0,330-0,351)	0,934**

Analit	Vremenska točka uzorkovanja	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
Hematokrit (L/L)	4	0,309 (0,288-0,336)	0,319 (0,295-0,330)	0,327 (0,293-0,348)	0,154**
	5	0,308 (0,288-0,332)	0,331 (0,308-0,347)	0,326 (0,301-0,346)	0,028*
MCV (fL) #Referentni intervali: 83,0-97,2	1	91,4 (86,6-93,2)	89,7 (86,7-92,6)	89,0 (85,6-92,5)	0,731*
	2	91,8 (87,0-93,1)	89,7 (86,6-92,9)	89,0 (85,1-92,8)	0,838*
	3	90,8 (86,7-93,0)	89,0 (86,4-92,6)	88,9 (86,8-90,9)	0,484*
	4	91,6 (87,3-93,1)	88,0 (86,9-92,4)	89,4 (87,6-91,5)	0,311**
	5	90,3 (86,2-93,9)	88,6 (87,6-91,5)	88,9 (86,6-90,9)	0,427**
Leukociti (x10 ⁹ /L) #Referentni intervali: 3,4-9,7	1	6,8 (5,6-8,4)	6,6 (5,3-8,6)	5,7 (4,9-6,9)	0,099**
	2	6,4 (4,8-8,6)	7,1 (5,1-9,3)	8,8 (6,5-11,0)	0,029*
	3	11,9 (10,4-14,5)	11,5 (9,9-13,3)	11,4 (9,7-15,5)	0,477*
	4	9,8 (8,2-12,4)	10,9 (8,1-12,2)	10,8 (10,1-12,6)	0,205**
	5	7,9 (6,5-12,1)	8,9 (6,3-10,0)	8,3 (7,1-9,8)	0,951**
Granulociti (%) #Referentni intervali: 44-72	1	64,0 (60,2-68,8)	65,7 (60,5-68,9)	64,5 (58,4-69,7)	0,792**
	2	65,2 (59,3-69,2)	76,3 (70,5-83,9)	78,4 (73,3-81,4)	<0,001**

Analit	Vremenska točka uzorkovanja	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
Granulociti (%) #Referentni intervali: 44-72	3	84,8 (81,6-87,1)	84,3 (78,9-87,0)	86,3 (81,6-87,1)	0,069
	4	74,4 (71,1-77,7)	77,3 (73,6-80,9)	79,8 (74,2-83,1)	0,006*
	5	64,8 (60,5-71,5)	68,1 (63,9-70,9)	71,6 (64,8-76,7)	0,066*
Limfociti (%) #Referentni intervali: 20-46	1	27,6 (24,1-31,5)	28,7 (24,2-32,8)	28,7 (21,4-34,4)	0,918*
	2	28,0 (23,6-32,8)	19,2 (12,8-24,4)	17,6 (14,4-22,5)	<0,001**
	3	10,0 (8,7-12,6)	10,5 (8,0-15,4)	8,6 (7,5-9,5)	0,008*
	4	18,9 (15,5-22,2)	16,5 (13,1-18,6)	13,7 (11,5-16,5)	0,002*
	5	24,8 (19,5-29,8)	23,9 (18,2-27,4)	19,9 (15,9-26,8)	0,132*
MID stanice (%) #Referentni intervali: 2-20	1	7,5 (6,3-8,8)	6,5 (5,6-7,9)	6,9 (6,0-7,8)	0,068**
	2	7,5 (6,8-8,7)	4,2 (3,5-5,1)	4,2 (3,3-4,9)	<0,001*
	3	5,1 (4,2-5,8)	5,4 (4,9-5,9)	5,2 (4,3-6,1)	0,656*
	4	6,9 (5,9-7,5)	6,5 (5,5-7,9)	6,2 (5,3-7,1)	0,498**
	5	9,1 (8,2-10,6)	8,3 (7,9-9,7)	8,0 (7,1-9,3)	0,176*
Trombociti (10 ⁹ /L) #Referentni intervali: 158-424	1	202 (189-248)	199 (184-241)	188 (166-223)	0,092**
	2	197 (167-228)	111 (99-131)	120 (82-147)	<0,001**

Analit	Vremenska točka uzorkovanja	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
Trombociti (10 ⁹ /L) #Referentni intervali: 158-424	3	193 (181-241)	157 (122-174)	128 (93-156)	<0,001*
	4	179 (155-216)	140 (113-169)	120 (96-152)	<0,001**
	5	248 (222-274)	205 (157-245)	168 (148-208)	<0,001*

* ANOVA test, **Kruskal-Wallis test

#Referentni intervali se odnose na odraslu populaciju; M- muškarci, Ž – žene.

MCV – srednji volumen eritrocita (engl. *mean corpuscular volume*);

OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.

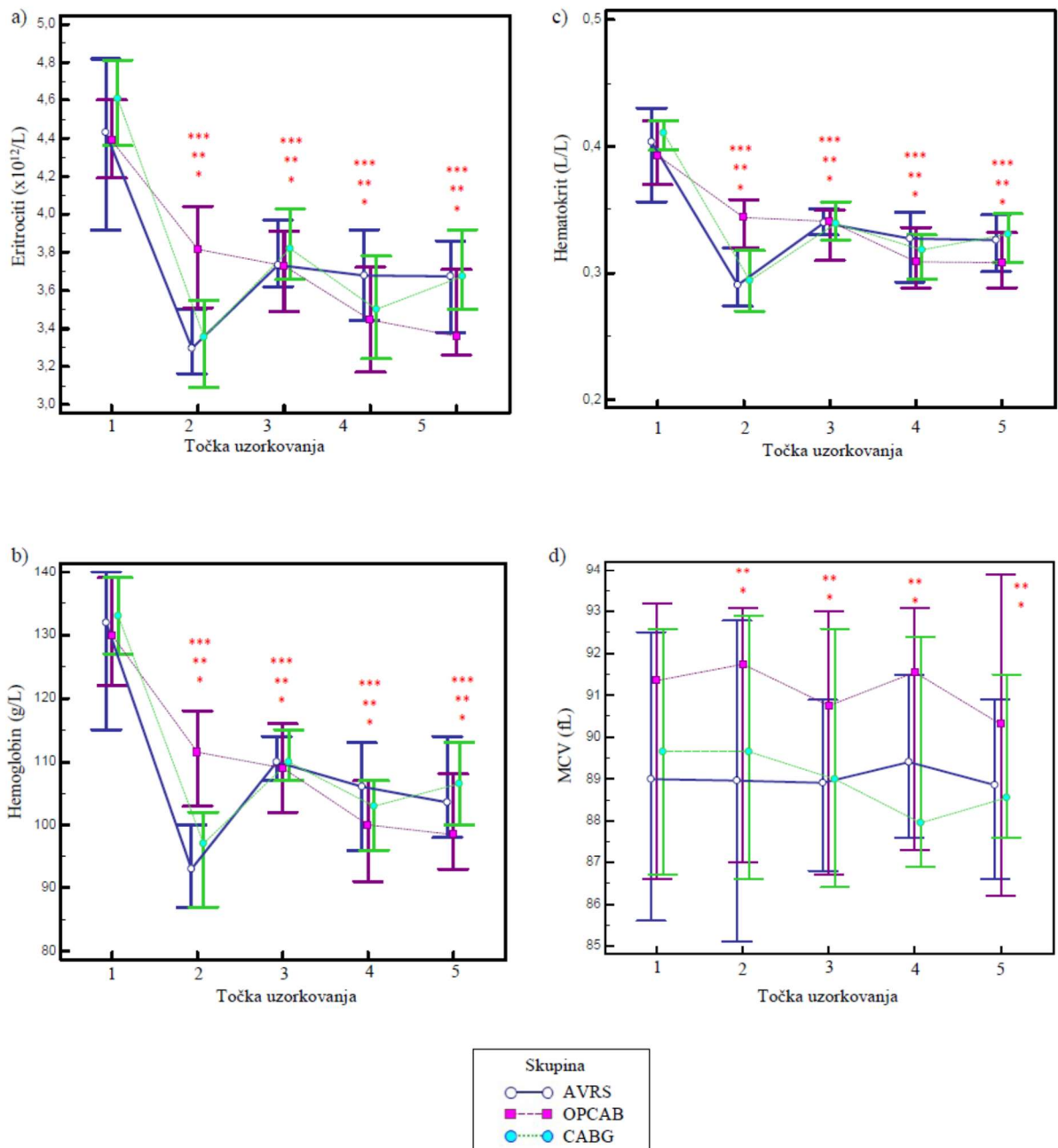
Statistička obrada je pokazala značajnu razliku između 3 skupine neposredno nakon operativnog zahvata u broju eritrocita, leukocita i trombocita, postotku granulocita, limfocita i MID stanica, koncentraciji hemoglobina i hematokritu. *Post hoc* analiza je pokazala da su eritrociti, hemoglobin, hematokrit, limfociti, MID stanice i trombociti bili veći, a broj leukocita i postotak granulociti manji u skupini revaskularizacije miokarda bez izvantjelesnog krvotoka u odnosu na druge dvije ispitivane skupine.

Dan nakon operativnog zahvata postojala je statistički značajna razlika u broju trombocita i postotku limfocita između ispitivanih skupina. Student-Newman-Keuls *post hoc* test je pokazao da je broj limfocita bio značajno manji u skupini aortalne zamjene u odnosu na skupine u kojima se provodila revaskularizacija miokarda. Nadalje, broj trombocita se razlikovao u sve tri skupine i bio je najviši u skupini revaskularizacije miokarda bez upotrebe izvantjelesne cirkulacije.

Treći dan postoperativnog perioda značajno su se razlikovali postoci granulocita i limfocita te broj trombocita. *Post hoc* analiza je pokazala značajno veći postotak limfocita i veći broj trombocita u skupini revaskularizacije miokarda bez izvantjelesnog krvotok u odnosu na ostale skupine. Postotak granulocita je bio statistički značajno veći u skupini aortalne zamjene u usporedbi sa skupinom kojoj se izvodio operativni zahvat revaskularizacije bez upotrebe izvantjelesnog krvotoka.

Zadnji dan istraživanja među skupinama postojala je razlika u broju eritrocita i trombocita te u koncentraciji hemoglobina i hematokritu. *Post hoc* analiza je pokazala kako su eritrociti, hemoglobin i hematokrit bili značajno manji, dok su trombociti bili veći u skupini revaskularizacije miokarda bez upotrebe izvantjelesnog krvotok u odnosu na druge dvije ispitivane skupine.

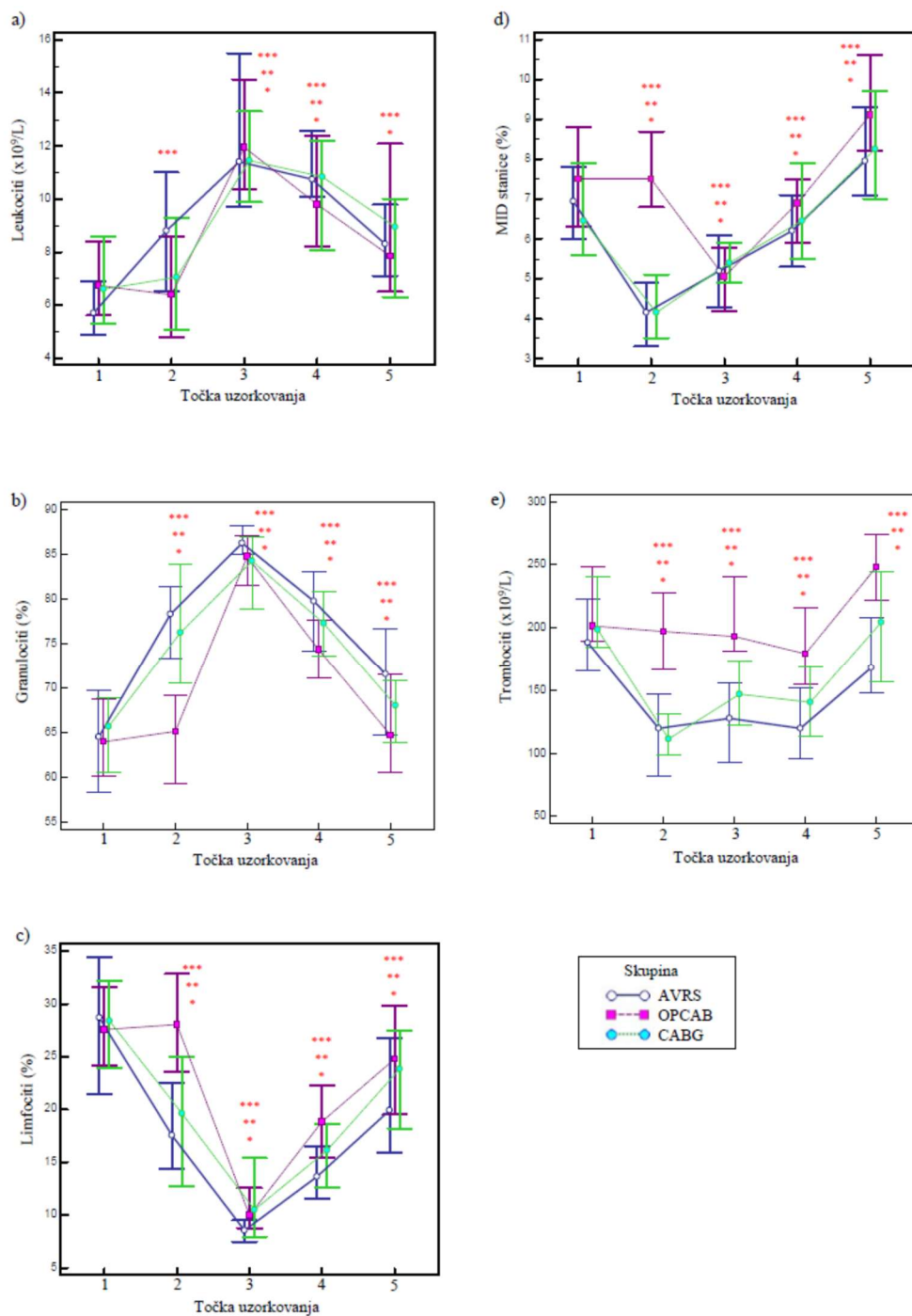
Dinamika promjene hematoloških parametara su prikazane na slikama 8. i 9.



Slika 8. Prikaz promjene eritrocita, hemoglobina, hematokrita i srednjeg volumena eritrocita u ispitivanim skupinama tijekom perioperativnog perioda. *,**,*** prikazuju statistički značajne razlike u odnosu na prvu točku mjerenja za OPCAB, CABG i AVRS skupine, kako slijedi, ispitano Friedmanovim, odnosno RM ANOVA testom.

MCV – srednji volumen eritrocita (engl. *mean corpuscular volume*)

OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.



Slika 9. Prikaz promjene leukocita, limfocita, granulocita, MID stanica i trombocita u ispitivanim skupinama tijekom perioperativnog perioda. *,**,*** prikazuju statistički značajne razlike u odnosu na prvu točku mjerenja za OPCAB, CABG i AVRS skupine, kako slijedi, ispitano Friedmanovim, odnosno RM ANOVA testom.

OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.

4.2.4 Biljezi sistemskog upalnog odgovora

Tablica 9. Usporedba biljega sistemskog upalnog odgovora u različitim vremenskim točkama

Analit	Vremenska točka uzorkovanja	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
IL-6 (pg/ml)	1	41.9 (7.1-63.9)	7.1 (7.1-7.1)	7.1 (7.1-7.1)	0.001*
	2	134.1 (49.8-338.0)	100.7 (48.5-303.8)	47.6 (16.1-178.5)	0.092*
	3	470.5 (162.1-663.8)	74.6 (46.5-110.4)	65.1 (45.4-136.6)	<0.001*
IL-10 (pg/ml)	1	3.2 (3.2-5.7)	3.2 (2.2-3.9)	3.6 (6.2-3.7)	0.091*
	2	14.1 (3.2-21.7)	44.7 (11.0-125.7)	93.6 (21.5-297.6)	<0.001*
	3	33.0 (14.5-73.5)	7.5 (4.7-71.9)	7.2 (5.4-10.2)	<0.001*
Leptin (ng/ml)	1	33.6 (15.5-54.9)	15.4 (9.6-23.2)	26.3 (10.4-43.7)	0.030*
	2	26.8 (11.4-46.1)	9.7 (6.4-14.4)	16.9 (5.5-26.3)	0.006*
	3	39.9 (19.9-61.8)	14.2 (6.3-21.9)	24.6 (9.4-39.8)	0.002*
Rezistin (ng/ml)	1	19.1 (9.9-24.2)	10.2 (7.7-14.9)	7.0 (5.7-10.3)	<0.001*
	2	18.4 (9.3-21.8)	11.7 (7.6-20.8)	10.2 (7.7-14.9)	0.123*
	3	34.3 (26.4-38.7)	19.2 (13.6-33.9)	17.4 (12.9-22.9)	<0.001*
MCP-1 (pg/ml)	1	519.6 (188.2-790.3)	135.6 (102.0-188.7)	119.9 (98.1-152.4)	<0.001*
	2	612.7 (262.3-785.7)	325.9 (188.9-640.9)	221.4 (163.6-496.0)	0.045*
	3	480.5 (165.5-570.8)	135.6 (102.0-188.7)	107.9 (85.5-137.3)	<0.001*

* Kruskal-Wallis test

IL-6 – interleukin 6, IL-10 – interleukin 10, MCP-1 - kemotaktični monocitni protein – 1.

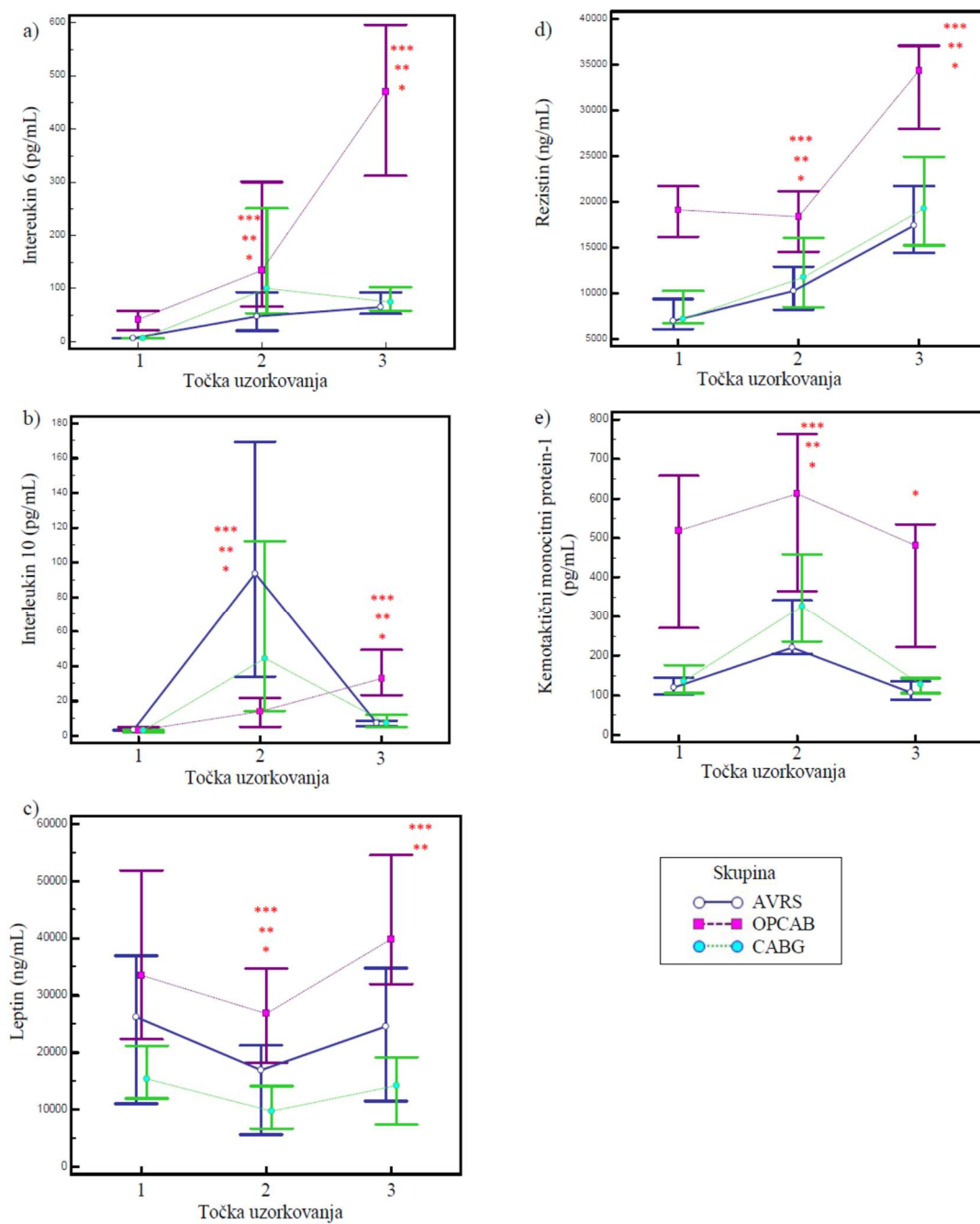
OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.

Koncentracije IL-6, leptina, rezistina i MCP-1 su se statistički značajno razlikovale između ispitivanih skupina prije samih operativnih zahvata. *Post hoc* analiza prema Conoveru je pokazala kako je koncentracija IL-6, rezistina i MCP-1 bila statistički značajno veća u OPCAB ispitanika nego kod ispitanika u CABG i AVRS skupinama, dok je koncentracija leptina bila statistički značajno veća u OPCAB nego u CABG skupini.

Neposredno nakon operativnog zahvata, pronađena je značajna razlika u koncentracijama IL-10, leptina i MCP-1. *Post hoc* analiza je pokazala statistički značajno veću koncentraciju leptina manju koncentraciju IL-10 u OPCAB skupini u odnosu na CABG i AVRS skupine, te značajno veću koncentraciju MCP-1 u ispitanika podvrgnutih revaskularizaciji miokarda bez izvantjelesnog krvotoka u odnosu na ispitanike kojima je mijenjan aortalni zalistak.

Dvadeset četiri sata nakon operativnog zahvata, u ispitivanim skupinama razlikovale su se koncentracije svih sistemskih biljega upale te je *post hoc* analiza pokazala da su koncentracije biljega bile statistički značajno veće u OPCAB skupini u usporedbi s CABG i AVRS skupinama,

Dinamika promjene biljega sistemskog upalnog odgovora prikazana je na slici 10.



Slika 10. Prikaz promjene interleukina 6 i 10, leptina, rezistina i kemotaktičnog monocitnog proteina 1 u ispitivanim skupinama tijekom perioperativnog perioda.

*, **, *** prikazuju statistički značajne razlike u odnosu na prvu točku mjerenja za OPCAB, CABG i AVRS skupine, kako slijedi, ispitano Friedmanovim testom, odnosno RM ANOVA testom.

OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.

4.2.5 Biljezi acidobazične ravnoteže, ionizirani kalcij, glukoza i lakta

Tablica 10. Usporedba biljega acidobazične ravnoteže u različitim vremenskim točkama

Analit	Vremenska točka uzorkovanja	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
pH	1	7,40 (7,39-7,42)	7,40 (7,38-7,42)	7,41 (7,38-7,43)	0,959**
	2	7,38 (7,34-7,42)	7,34 (7,30-7,37)	7,32 (7,29-7,35)	0,002**
	3	7,33 (7,31-7,34)	7,31 (7,27-7,35)	7,31 (7,29-7,34)	0,240**
	4	7,45 (7,41-7,47)	7,45 (7,43-7,48)	7,45 (7,42-7,47)	0,582*
	5	7,45 (7,43-7,47)	7,45 (7,44-7,47)	7,46 (7,44-7,48)	0,232*
pO ₂ (kPa)	1	17,7 (9,7-30,1)	10,7 (10,3-27,8)	16,6 (10,4-29,6)	0,689*
	2	27,6 (19,0-35,6)	31,7 (22,1-39,7)	40,1 (23,7-49,6)	0,008**
	3	15,8 (13,2-18,5)	15,8 (12,2-19,7)	16,2 (12,7-19,6)	0,790**
	4	8,2 (7,7-9,6)	9,4 (8,0-11,4)	8,7 (7,9-10,5)	0,163*
	5	9,4 (8,5-10,4)	9,4 (8,7-10,0)	8,7 (8,4-9,6)	0,379*
Saturacija O ₂ (%)	1	98,5 (96,1-99,2)	96,4 (95,7-99,4)	98,3 (95,8-99,1)	0,234**
	2	99,2 (98,5-99,3)	99,2 (98,8-99,3)	99,3 (98,9-99,4)	0,319*
	3	97,9 (97,0-98,4)	97,6 (96,6-98,4)	97,9 (96,7-98,5)	0,822**

Analit	Vremenska točka uzorkovanja	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
Saturacija O ₂ (%)	4	94,1 (92,0-96,8)	96,1 (92,7-96,8)	95,0 (93,9-96,7)	0,378*
	#Referentni interval: 94-98	95,8 (92,5-96,9)	94,9 (93,6-96,2)	94,9 (94,1-95,9)	0,786**
pCO ₂ (kPa)	1	5,30 (4,75-5,72)	5,51 (5,06-5,91)	5,28 (4,80-5,63)	0,125**
	2	4,99 (4,50-5,63)	4,77 (4,49-4,98)	4,93 (4,60-5,32)	0,304*
	3	5,85 (5,35-6,30)	5,87 (5,52-6,41)	5,92 (5,55-6,74)	0,512**
	#Referentni interval: 4,7-6,4	5,29 (4,85-5,61)	4,97 (4,50-5,56)	5,30 (4,91-6,18)	0,283**
	5	4,94 (4,50-5,30)	4,87 (4,66-5,34)	5,04 (4,49-5,61)	0,415**
TCO ₂ (mmol/L)	1	25,8 (23,5-27,3)	26,6 (25,4-27,7)	25,2 (24,0-26,9)	0,086**
	2	22,8 (21,7-23,8)	20,3 (19,0-21,1)	20,1 (19,2-21,0)	< 0,001*
	3	23,9 (22,3-25,6)	24,0 (22,6-24,9)	24,5 (21,9-25,9)	0,7310*
	#Referentni interval: 23-29	26,6 (25,7-28,3)	26,8 (24,5-29,2)	28,6 (25,8-30,8)	0,227*
	5	25,7 (23,8-27,6)	25,7 (25,2-27,8)	27,4 (26,0-29,6)	0,022**
HCO ₃ (mmol/L)	1	24,7 (22,4-26,1)	25,4 (24,3-26,2)	23,9 (22,9-25,6)	0,124**
	#Referentni interval: 23-27	21,7 (21,0-22,7)	19,2 (17,9-19,9)	19,0 (18,0-19,9)	< 0,001**

Analit	Vremenska točka uzorkovanja	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
HCO ₃ (mmol/L)	3	22,3 (21,1-24,1)	22,7 (21,3-23,6)	23,2 (20,6-24,3)	0,706**
	4	25,5 (24,8-27,7)	25,7 (23,5-28,0)	27,3 (24,5-29,3)	0,975**
	5	24,5 (22,7-26,1)	24,7 (24,1-26,7)	26,3 (25,0-28,4)	0,012**
BE (mmol/L)	1	-0,4 (-1,8-0,9)	0,5 (-0,5-1,4)	-0,6 (-1,4-0,7)	0,138**
	2	-3,2 (-3,9 - -2,0)	-5,9 (-7,3 - -4,5)	-6,5 (-7,6 - -5,0)	< 0,001**
	3	-3,2 (-4,9 - -1,7)	-3,8 (-5,2 - -2,1)	-3,4 (-5,2 - -1,9)	0,702*
	4	1,5 (0,3-3,8)	2,1 (-0,2-3,3)	2,8 (0,6-4,5)	0,342**
	5	0,6 (-1,1-2,0)	1,1 (0,0-2,5)	2,2 (0,9-4,3)	0,012**

* Kruskal-Wallis test, ** ANOVA test

#Referentni intervali se odnose na odraslu populaciju.

pO₂ – parcijalni pritisak kisika, pCO₂ – parcijalni pritisak ugljičnog dioksida, TCO₂ – ukupni ugljikov dioksid; HCO₃⁻ - bikarbonati, BE – suvišak baza (engl. *base excess*).

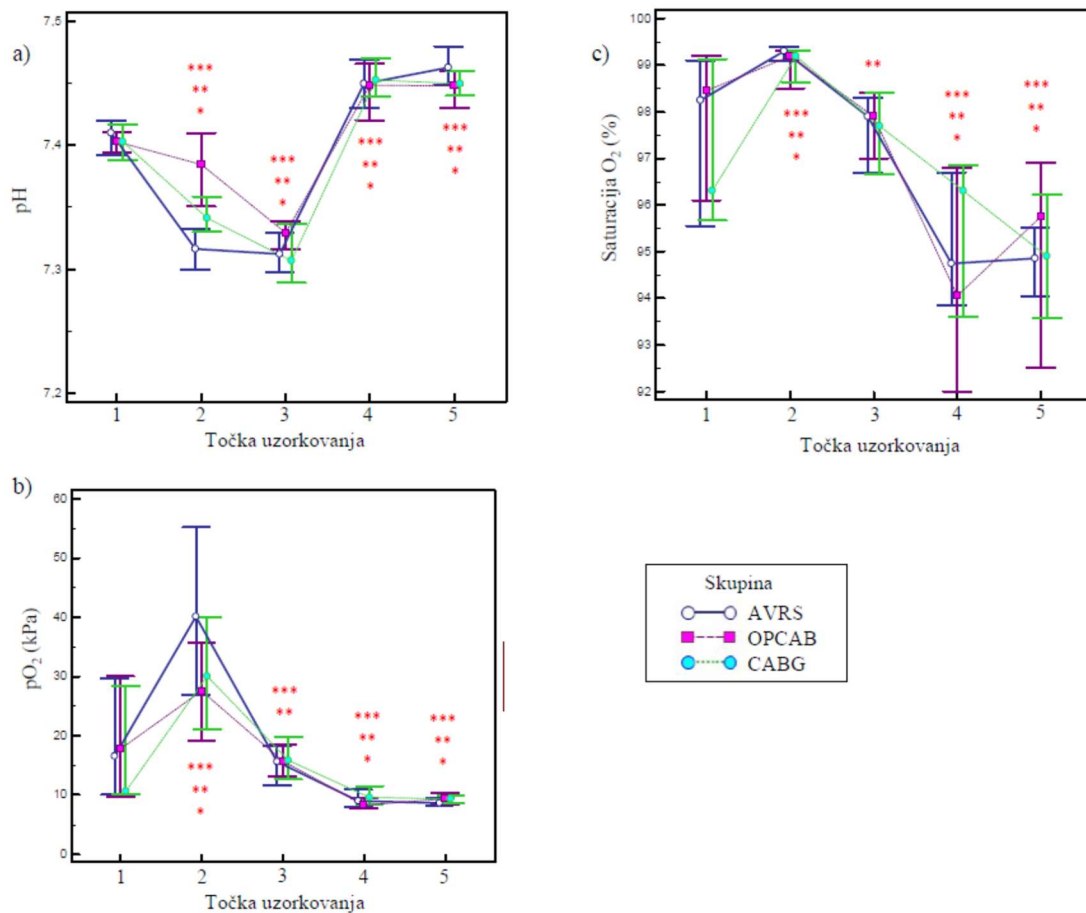
OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.

Rezultati statističke obrade su pokazali da su se pH i pO₂ značajno razlikovali među ispitivanim skupinama neposredno nakon operativnog zahvata. Student-Newman-Keuls test je pokazao da je pH u OPCAB skupini bio statistički značajno veći u odnosu na CABG i AVRS skupine, dok je pO₂ bio veći u bolesnika podvrgnutih zamjeni aortalnog zaliska, u odnosu na bolesnike kojima je rađena revaskularizacija miokarda sa i bez upotrebe ITK.

Također su se bikarbonati i suvišak baza statistički značajno razlikovali među skupinama neposredno po završetku i 5. dan nakon operativnog zahvata. Student-Newman-Keuls test je

pokazao da je koncentracija bikarbonata neposredno nakon operacije bili značajno veća u OPCAB skupini u odnosu na CABG i AVRS skupine, dok je 5. dan nakon zahvata bila manja u OPCAB skupini bolesnika u odnosu na bolesnike u AVRS skupini. Nadalje, neposredno nakon zahvata bolesnici kojima je postupak revaskularizacije miokarda rađen bez ITK imali su veći BE u odnosu na bolesnike u CABG i AVRS skupinama, dok je BE bio veći 5. dan u skupini kojoj je rađen zahvat zamjene aortalnog zaliska u odnosu na bolesnike kojima je postupak revaskularizacije miokarda rađen bez ITK.

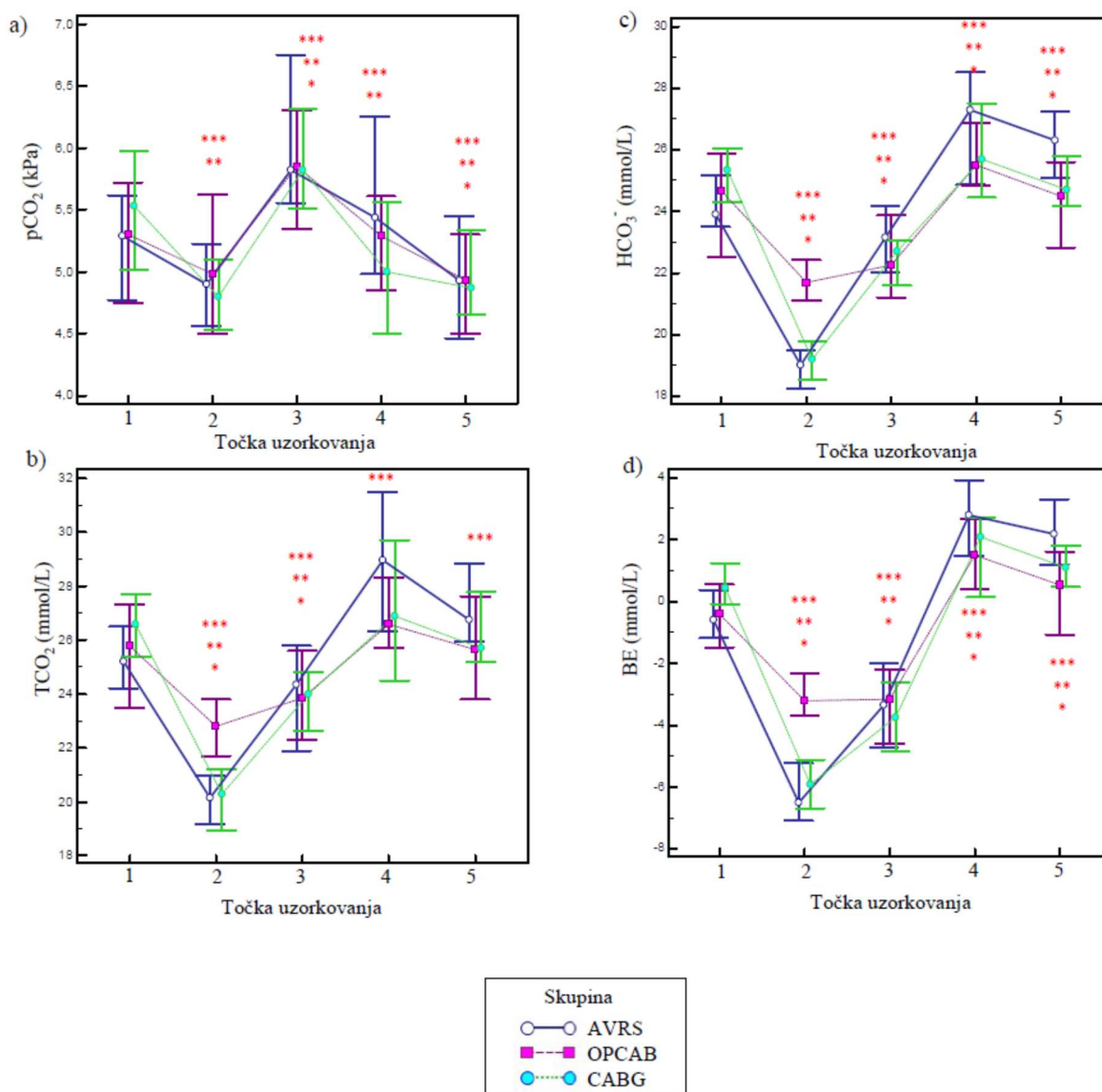
Dinamika promjena parametara acidobazične ravnoteže prikazana je na slikama 11. i 12.



Slika 11. Prikaz promjene pH, parcijalnog pritiska kisika i saturacije kisikom u ispitivanim skupinama tijekom perioperativnog perioda.

*, **, *** prikazuju statistički značajne razlike u odnosu na prvu točku mjerenja za OPCAB, CABG i AVRS skupine, kako slijedi, ispitano Friedmanovim testom, odnosno RM ANOVA testom.

pO₂ - parcijalni pritisak kisika; OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.



Slika 12. Prikaz promjene parametara acidobazične ravnoteže u ispitivanim skupinama tijekom perioperativnog perioda.

*, **, *** prikazuju statistički značajne razlike u odnosu na prvu točku mjerenja za OPCAB, CABG i AVRS skupine, kako slijedi, ispitano Friedmanovim testom, odnosno RM ANOVA testom.

pCO₂ - parcijalni pritisak ugljičnog dioksida, TCO₂ - ukupni ugljikov dioksid, HCO₃⁻ - bikarbonati, BE - suvišak baza (engl. *base excess*).

OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.

Tablica 11. Usporedba ioniziranog kalcija, glukoze i laktata u različitim vremenskim točkama

Analit	Vremenska točka uzorkovanja	OPCAB skupina N=30	CABG skupina N=30	AVRS skupina N=30	P
iCa (mmol/L)	1	0,99 (0,91-1,10)	1,01 (0,95-1,15)	0,96 (0,91-1,05)	0,385*
	2	0,93 (0,86-1,04)	0,79 (0,73-0,85)	0,83 (0,77-0,87)	<0,001*
	3	0,95 (0,83-1,08)	0,99 (0,92-1,06)	1,04 (0,97-1,10)	0,100*
	4	1,14 (0,96-1,17)	1,10 (1,05-1,13)	1,13 (1,10-1,15)	0,069*
	5	1,14 (0,68-1,19)	1,14 (1,11-1,15)	1,13 (1,10-1,17)	0,883*
Glukoza (mmol/L)	1	6,1 (5,3-7,5)	6,0 (5,5-7,2)	5,8 (5,4-6,3)	0,491*
	2	6,3 (5,3-7,6)	6,6 (5,6-8,0)	6,7 (5,8-7,4)	0,981**
	3	8,8 (7,3-10,6)	9,2 (7,2-10,3)	8,7 (7,2-10,6)	0,929**
	4	8,5 (6,5-10,7)	8,7 (7,5-11,8)	9,6 (7,3-12,3)	0,187**
	5	8,5 (6,5-10,7)	8,7 (7,5-11,8)	7,4 (6,7-10,4)	0,433*
Laktat (mmol/L)	1	1,0 (0,8-1,7)	1,0 (0,9-1,2)	1,0 (0,8-1,1)	0,372**
	2	0,9 (0,8-1,2)	1,2 (1,0-1,4)	1,2 (1,0-1,5)	0,004*
	3	2,5 (2,1-3,2)	3,0 (2,4-3,6)	2,6 (2,1-3,0)	0,115**
	4	1,8 (1,4-2,4)	1,8 (1,3-2,0)	1,8 (1,5-2,2)	0,846**
	5	2,2 (1,5-2,6)	2,1 (1,9-2,5)	2,0 (1,5-2,5)	0,165**

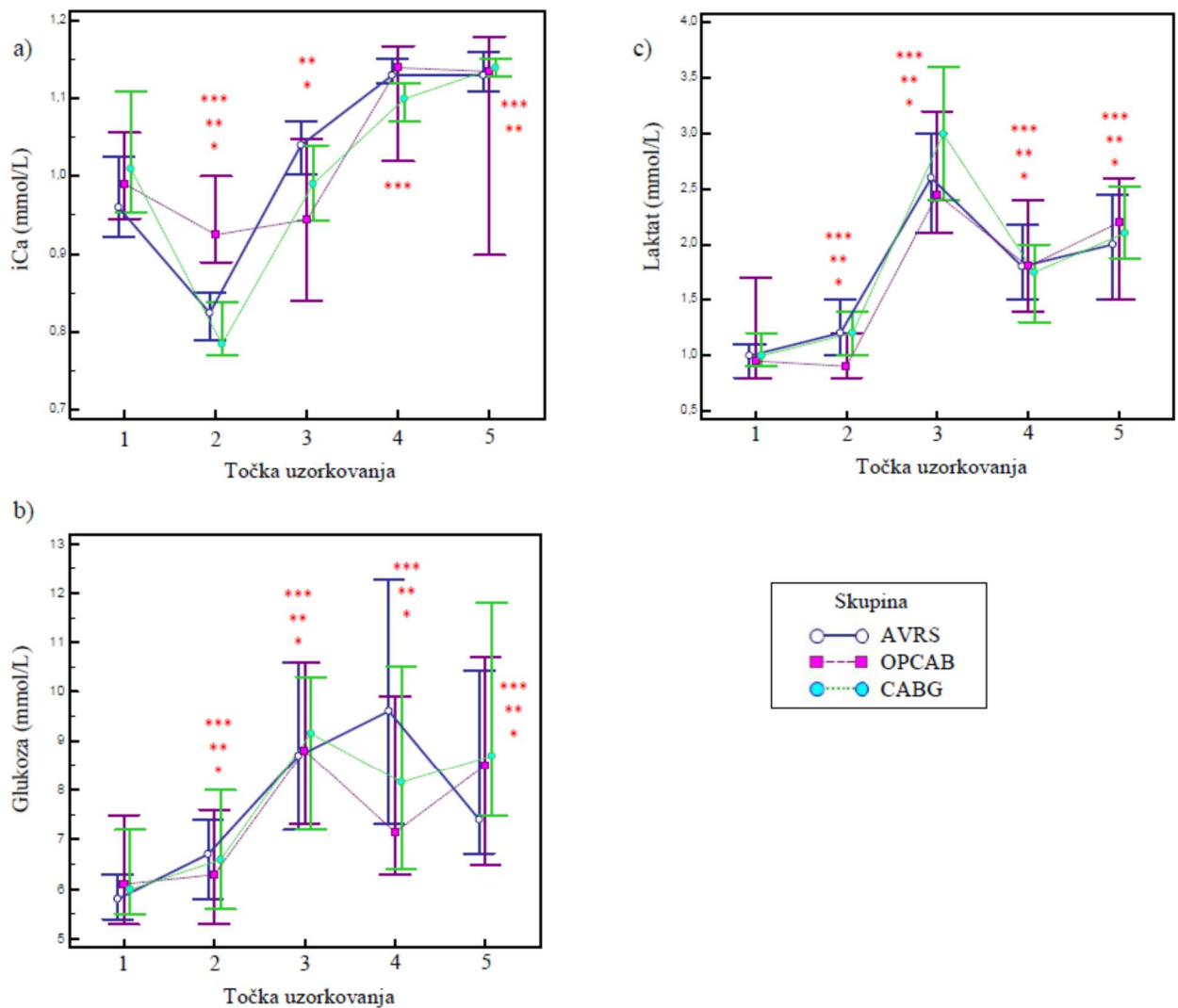
* Kruskal-Wallis test, ** ANOVA test

iCa – ionizirani kalcij; OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.

Ispitivanje je pokazalo statistički značajnu razliku u koncentraciji ioniziranog kalcija i laktata nakon operacije između ispitivanih skupina s time da je koncentracija ioniziranog kalcija bila statistički značajno veća, a koncentracija laktata manja u ispitanika koji su bili podvrgnuti

revaskularizaciji miokarda bez upotrebe izvantjelesnog krvotoka u odnosu na ostale dvije skupine.

Dinamika promjene koncentracije ioniziranog kalcija, glukoze i laktata prikazana je na slici 13.



Slika 13. Prikaz promjene koncentracije ioniziranog kalcija, glukoze i laktata u ispitivanim skupinama tijekom perioperativnog perioda. *, **, *** prikazuju statistički značajne razlike u odnosu na prvu točku mjerenja za OPCAB, CABG i AVRS skupine, kako slijedi, ispitano Friedmanovim testom, odnosno RM ANOVA testom.

iCa – ionizirani kalcij; OPCAB - revaskularizacija miokarda bez upotrebe ITK; CABG - revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK; AVRS – zamjena aortalnog zaliska.

4.3 Povezanost biljega sistemskog upalnog odgovora sa biljezima stresa i srčane nekroze

Tablica 12. Prikaz koeficijena korelacije između biljega sistemskog upalnog odgovora sa biljezima stresa i srčane nekroze u ispitivanim vremenskim točkama

Analiti	Vremenska točka uzorkovanja	Koeficijent korelacije (rho)	P
IL-6 vs. kortizol	1	0,068	0,526
	2	-0,124	0,243
	3	-0,093	0,385
IL-10 vs. kortizol	1	0,005	0,961
	2	0,194	0,068
	3	0,153	0,151
Leptin vs. kortizol	1	0,141	0,185
	2	0,127	0,233
	3	0,127	0,232
Rezistin vs. kortizol	1	0,048	0,656
	2	-0,059	0,585
	3	0,152	0,152
MCP-1 vs. kortizol	1	-0,082	0,440
	2	-0,185	0,080
	3	-0,225	0,033
IL-6 vs. hsTnT	1	-0,011	0,921
	2	0,197	0,063
	3	-0,277	0,008
IL-10 vs. hsTnT	1	0,192	0,069
	2	0,137	0,209
	3	-0,217	0,040
Leptin vs. hsTnT	1	-0,048	0,650
	2	-0,129	0,225
	3	-0,161	0,128
Rezistin vs. hsTnT	1	0,063	0,553
	2	0,125	0,240
	3	0,033	0,754

Analiti	Vremenska točka uzorkovanja	Koeficijent korelacije (rho)	P
MCP-1 vs. <i>hsTnT</i>	1	-0,013	0,907
	2	0,110	0,302
	3	-0,150	0,159

IL-6 – interleukin 6, IL-10 – interleukin 10, MCP-1 – kemotaktični monocitni protein 1,

hsTnT – visoko osjetljivi troponin T

Pronađena je slaba povezanost interleukina 6 s visoko osjetljivim troponinom T. Iako su P vrijednosti bile statistički značajne za povezanost IL-10 sa *hsTnT* te MCP-1 i kortizola 24 sata nakon operativnog zahvata, vrijednosti koeficijenta korelacije su ukazivala da povezanost između navedenih parametara ne postoji.

4.4 Predviđanje ishoda bolesnika i komplikacija pomoću intenziteta promjene biljega sistemske upale, stresa i srčane nekroze

Tablica 13. Prikaz rezultata logističke regresijske analize

Parametar	Omjer izgleda (95% CI)	P
Upotreba inotropnih agenasa i vazopresora		
Δ IL-6 ₁₋₂	1,0001 (0,9998 - 1,0003)	0,703
Δ IL-6 ₂₋₃	0,9998 (0,9990 - 1,0006)	0,599
Δ IL-10 ₁₋₂	1,0000 (0,9999 - 1,0000)	0,319
Δ IL-10 ₂₋₃	0,9931 (0,9854 - 1,0008)	0,078
Δ Leptin ₁₋₂	0,9977 (0,9895 - 1,0059)	0,578
Δ Leptin ₂₋₃	1,0034 (0,9974 - 1,0095)	0,269
Δ Rezistin ₁₋₂	1,0125 (0,9938 - 1,0316)	0,192
Δ Rezistin ₂₋₃	0,9965 (0,9905 - 1,0025)	0,256
Δ MCP-1 ₁₋₂	0,9999 (0,9971 - 1,0028)	0,967
Δ MCP-1 ₂₋₃	1,0102 (0,9907 - 1,0301)	0,308
Δ kortizol ₁₋₂	0,9985 (0,9926 - 1,0045)	0,626
Δ kortizol ₂₋₃	1,0000 (0,9995 - 1,0005)	0,986
Δ hsTnT ₁₋₂	0,9999 (0,9998 - 1,0001)	0,487
Δ hsTnT ₂₋₃	0,9984 (0,9960 - 1,0009)	0,207
Fibrilacija atrijsa		
Δ IL-6 ₁₋₂	1,0001 (0,9995 - 1,0008)	0,101
Δ IL-6 ₂₋₃	0,9937 (0,9854 - 1,0020)	0,338
Δ IL-10 ₁₋₂	0,9996 (0,9991 - 1,0001)	0,101
Δ IL-10 ₂₋₃	0,9814 (0,9595 - 1,0037)	0,102
Δ Leptin ₁₋₂	0,9481 (0,8657 - 1,0383)	0,694
Δ Leptin ₂₋₃	1,0053 (0,9924 - 1,0184)	0,134
Δ Rezistin ₁₋₂	0,9800 (0,9396 - 1,0221)	0,250
Δ Rezistin ₂₋₃	1,0066 (0,9935 - 1,0198)	0,425
Δ MCP-1 ₁₋₂	0,9979 (0,9931 - 1,0027)	0,387
Δ MCP-1 ₂₋₃	0,9995 (0,9533 - 1,0479)	0,982
Δ kortizol ₁₋₂	0,9628 (0,9202 - 1,0074)	0,346

Parametar	Omjer izgleda (95% CI)	P
Δ kortizol ₂₋₃	0,9988 (0,9964 - 1,0012)	0,324
Δ hsTnT ₁₋₂	0,9998 (0,9993 - 1,0002)	0,239
Δ hsTnT ₂₋₃	0,9972 (0,9926 - 1,0019)	0,239
Elektrokardiografske promjene		
Δ IL-6 ₁₋₂	1,0004 (1,0000 - 1,0009)	0,694
Δ IL-6 ₂₋₃	0,9998 (0,9985 - 1,0010)	0,134
Δ IL-10 ₁₋₂	1,0000 (0,9999 - 1,0000)	0,101
Δ IL-10 ₂₋₃	0,9958 (0,9861 - 1,0055)	0,102
Δ Leptin ₁₋₂	0,9734 (0,9126 - 1,0381)	0,250
Δ Leptin ₂₋₃	1,0029 (0,9969 - 1,0089)	0,425
Δ Rezistin ₁₋₂	0,9906 (0,9538 - 1,0288)	0,346
Δ Rezistin ₂₋₃	1,0030 (0,9956 - 1,0105)	0,324
Δ MCP-1 ₁₋₂	0,9935 (0,9827 - 1,0044)	0,387
Δ MCP-1 ₂₋₃	0,9956 (0,9686 - 1,0233)	0,982
Δ kortizol ₁₋₂	1,0007 (0,9935 - 1,0079)	0,101
Δ kortizol ₂₋₃	0,9993 (0,9975 - 1,0011)	0,338
Δ hsTnT ₁₋₂	0,9998 (0,9994 - 1,0001)	0,239
Δ hsTnT ₂₋₃	0,9995 (0,9974 - 1,0015)	0,239
Potrebe za transfuzijom		
Δ IL-6 ₁₋₂	0,9996 (0,9989 - 1,0003)	0,271
Δ IL-6 ₂₋₃	0,9988 (0,9971 - 1,0006)	0,195
Δ IL-10 ₁₋₂	1,0000 (0,9999 - 1,0000)	0,666
Δ IL-10 ₂₋₃	1,0002 (0,9993 - 1,0010)	0,699
Δ Leptin ₁₋₂	0,9410 (0,8947 - 0,9898)	0,018
Δ Leptin ₂₋₃	0,9994 (0,9937 - 1,0052)	0,847
Δ Rezistin ₁₋₂	1,0360 (1,0097 - 1,0629)	0,007
Δ Rezistin ₂₋₃	1,0144 (1,0048 - 1,0240)	0,003
Δ MCP-1 ₁₋₂	0,9968 (0,9911 - 1,0025)	0,269
Δ MCP-1 ₂₋₃	1,0032 (0,9744 - 1,0328)	0,831
Δ kortizol ₁₋₂	1,0015 (0,9946 - 1,0085)	0,664
Δ kortizol ₂₋₃	1,0000 (0,9994 - 1,0005)	0,876
Δ hsTnT ₁₋₂	1,0000 (1,0000 - 1,0001)	0,199

Parametar	Omjer izgleda (95% CI)	P
$\Delta hsTnT_{2-3}$	1,0004 (0,9990 - 1,0017)	0,604

95%CI – 95%tni interval pouzdanosti, IL6 - interleukin 6, IL10 - interleukin 10, MCP-1 - monocitni kemotaktični protein 1, *hsTnT* - visoko osjetljivi troponin T

Od ispitivanih biljega, jedino je razlika u koncentraciji leptina i rezistina prije i nakon operativnog zahvata te razlika rezistina na kraju operativnog zahvata i 24 sata nakon operacije pokazao statistički značajnu ulogu u predviđanju potreba za transfuzijom.

Tablica 14. Prikaz rezultata višestruke regresijske analize

Parametar	r_{parcijalni}	P
Gubitak krvi (mL)		
Δ IL-6 ₁₋₂	-0,01581	0,892
Δ IL-6 ₂₋₃	-0,03826	0,741
Δ IL-10 ₁₋₂	-0,1252	0,278
Δ IL-10 ₂₋₃	-0,07018	0,544
Δ Leptin ₁₋₂	-0,1769	0,124
Δ Leptin ₂₋₃	0,02939	0,799
Δ Rezistin ₁₋₂	0,2280	0,046
Δ Rezistin ₂₋₃	0,05275	0,649
Δ MCP-1 ₁₋₂	-0,08561	0,459
Δ MCP-1 ₂₋₃	0,2080	0,069
Δ kortizol ₁₋₂	0,1128	0,329
Δ kortizol ₂₋₃	0,2379	0,037
Δ hsTnT ₁₋₂	0,06521	0,573
Δ hsTnT ₂₋₃	0,1475	0,201
Trajanje mehaničke ventilacije (sati)		
Δ IL-6 ₁₋₂	0,02813	0,813
Δ IL-6 ₂₋₃	-0,05049	0,671
Δ IL-10 ₁₋₂	-0,02230	0,851
Δ IL-10 ₂₋₃	-0,06091	0,609
Δ Leptin ₁₋₂	-0,02189	0,854
Δ Leptin ₂₋₃	0,004194	0,972
Δ Rezistin ₁₋₂	-0,03812	0,749
Δ Rezistin ₂₋₃	-0,06315	0,596
Δ MCP-1 ₁₋₂	-0,04147	0,728
Δ MCP-1 ₂₋₃	0,06265	0,599
Δ kortizol ₁₋₂	-0,008831	0,941
Δ kortizol ₂₋₃	0,05296	0,656
Δ hsTnT ₁₋₂	-0,06065	0,610
Δ hsTnT ₂₋₃	-0,06023	0,613

Parametar	r_{parcijalni}	P
Vrijeme boravka u jedinici intenzivnog liječenja (sati)		
Δ IL-6 ₁₋₂	0,05934	0,608
Δ IL-6 ₂₋₃	-0,03107	0,789
Δ IL-10 ₁₋₂	-0,04825	0,677
Δ IL-10 ₂₋₃	0,07180	0,535
Δ Leptin ₁₋₂	-0,005942	0,959
Δ Leptin ₂₋₃	0,01487	0,898
Δ Rezistin ₁₋₂	0,008940	0,939
Δ Rezistin ₂₋₃	0,02886	0,803
Δ MCP-1 ₁₋₂	-0,06862	0,553
Δ MCP-1 ₂₋₃	-0,08213	0,478
Δ kortizol ₁₋₂	-0,05327	0,646
Δ kortizol ₂₋₃	0,006720	0,954
Δ hsTnT ₁₋₂	-0,05978	0,606
Δ hsTnT ₂₋₃	-0,09235	0,424
Vrijeme do otpusta iz bolnice (dani)		
Δ IL-6 ₁₋₂	0,02182	0,851
Δ IL-6 ₂₋₃	-0,03513	0,762
Δ IL-10 ₁₋₂	-0,01529	0,895
Δ IL-10 ₂₋₃	-0,01534	0,895
Δ Leptin ₁₋₂	0,06897	0,551
Δ Leptin ₂₋₃	0,06044	0,602
Δ Rezistin ₁₋₂	-0,04794	0,679
Δ Rezistin ₂₋₃	0,04722	0,683
Δ MCP-1 ₁₋₂	-0,06481	0,576
Δ MCP-1 ₂₋₃	-0,08583	0,458
Δ kortizol ₁₋₂	-0,05174	0,655
Δ kortizol ₂₋₃	0,05540	0,632
Δ hsTnT ₁₋₂	-0,05376	0,642
Δ hsTnT ₂₋₃	-0,08193	0,479

IL-6 - interleukin 6, IL-10 - interleukin 10, MCP-1 - monocitni kemotaktični protein 1, hsTnT
- visoko osjetljivi troponin T

Rezultati višestruke regresijske analize su pokazali da jedino razlika u koncentracijama rezistina prije i nakon operativnog zahvata te i kortizola neposredno nakon i 24 sata poslije operacije mogu doprinijeti u predviđanju postoperativne količine izgubljene krvi.

4.5. Predviđanje ishoda bolesnika i komplikacija pomoću koncentracije ispitivanih biljega u prve tri točke mjerenja

Tablica 15. Prikaz rezultata logističke regresijske analize

Parametar	Omjer izgleda (95% CI)	P
Upotreba inotropnih agenasa i vazopresora		
1. Točka mjerenja (prije operacije)		
IL-6 (pg/mL)	0,9770 (0,92361 - 1,0308)	0,359
IL-10 (pg/mL)	0,9747 (0,8886 - 1,0692)	0,588
MCP-1(pg/mL)	0,9991 (0,9937 - 1,0046)	0,758
Rezistin (ng/mL)	0,9636 (0,7784 - 1,1928)	0,733
Leptin (ng/mL)	0,9835 (0,9552 - 1,0126)	0,264
Kortizol (nmol/L)	1,0001 (0,9977 - 1,0026)	0,911
hsTnT (ng/L)	1,0258 (0,9696 - 1,0852)	0,375
CRP (mg/L)	1,0394 (0,8750 - 1,2346)	0,660
CK (IU/L)	0,9984 (0,9831 - 1,0140)	0,844
CK-MB (IU/L)	1,0228 (0,9579 - 1,0922)	0,500
Albumin (g/L)	1,0295 (0,9091 - 1,1659)	0,647
Glukoza (mmol/l)	0,9959 (0,7252 - 1,3677)	0,979
Laktat (mmol/L)	0,5217 (0,0975 - 2,7907)	0,447
iCa (mmol/L)	0,0604 (0,0009 - 3,8788)	0,186
Mokraćna kiselina (μmol/L)	1,0007 (0,0750 - 7,3612)	0,828
Eritrociti (x10 ¹² /L)	0,7428 (0,0750 - 7,3612)	0,799
Hemoglobin (g/L)	0,9946 (0,9300 - 1,0636)	0,874
Leukociti (x10 ⁹ /L)	1,0371 (0,9714 - 1,1072)	0,276
Granulociti (%)	1,0664 (0,7469 - 1,5226)	0,723
Limfociti (%)	0,9953 (0,6632 - 1,4937)	0,982
Trombociti (x10 ⁹ /L)	1,0142 (0,9991 - 1,0295)	0,065
pH	0,0000 (0,0000 - 106246,1690)	0,341
2. Točka mjerenja (neposredno nakon operacije)		
IL-6 (pg/mL)	0,9995 (0,9940 - 1,0051)	0,859
IL-10 (pg/mL)	0,995 (0,9940 - 1,0051)	0,674
MCP-1(pg/mL)	0,9997 (0,9982 - 1,0012)	0,204

Parametar	Omjer izgleda (95% CI)	P
Rezistin (ng/mL)	1,1042 (0,9307 – 1,3099)	0,256
Leptin (ng/mL)	0,9745 (0,9355 – 1,0152)	0,217
Kortizol (nmol/L)	1,0006 (0,9983 – 1,0030)	0,589
hsTnT (ng/L)	0,9983 (0,9947 – 1,0020)	0,376
CRP (mg/L)	1,0808 (0,8015 – 1,4574)	0,611
CK (IU/L)	1,0021 (0,9896 – 1,0148)	0,742
CK-MB (IU/L)	1,1287 (0,9408 – 1,3541)	0,192
Albumin (g/L)	1,2360 (0,9399 – 1,6252)	0,129
Glukoza (mmol/l)	1,1310 (0,6289 – 2,0340)	0,681
Laktat (mmol/L)	0,2957 (0,0373 – 2,3475)	0,249
iCa (mmol/L)	0,0006 (0,0000 – 0,2963)	0,019
Mokraćna kiselina (μmol/L)	0,9935 (0,9824 – 1,0048)	0,258
Eritrociti (x10 ¹² /L)	0,0628 (0,0030 – 1,3010)	0,074
Hemoglobin (g/L)	1,0531 (0,9964 – 1,1132)	0,067
Leukociti (x10 ⁹ /L)	1,1131 (0,8560 – 1,4475)	0,424
Granulociti (%)	1,2101 (0,6599 – 2,2192)	0,538
Limfociti (%)	1,1297 (0,5888 – 2,1674)	0,714
Trombociti (x10 ⁹ /L)	0,9881 (0,9684 – 1,0082)	0,245
pH	0,0000 (0,0000 – 0,0114)	0,013
3. Točka mjerenja (24 sata nakon operacije)		
IL-6 (pg/mL)	0,9986 (0,9937 – 1,0035)	0,566
IL-10 (pg/mL)	0,9678 (0,9233 – 1,0145)	0,174
MCP-1(pg/mL)	1,0029 (0,9958 – 1,0102)	0,428
Rezistin (ng/mL)	1,0014 (0,9471 – 1,0588)	0,960
Leptin (ng/mL)	0,9833 (0,9621 – 1,0050)	0,131
Kortizol (nmol/L)	0,9992 (0,9974 – 1,0011)	0,375
hsTnT (ng/L)	0,9979 (0,9942 – 1,0016)	0,266
CRP (mg/L)	1,0113 (0,9942 – 1,0288)	0,196
CK (IU/L)	1,0010 (0,9998 – 1,0022)	0,098
CK-MB (IU/L)	1,0385 (0,9197 – 1,1725)	0,542
Albumin (g/L)	0,8199 (0,6637 – 1,0128)	0,066
Glukoza (mmol/l)	1,2359 (0,9128 – 1,6733)	0,171

Parametar	Omjer izgleda (95% CI)	P
Laktat (mmol/L)	1,4168 (0,5558 – 3,6118)	0,466
iCa (mmol/L)	28,8489 (0,0764 – 10899,0279)	0,267
Mokraćna kiselina (μmol/L)	1,0008 (0,9926 – 1,0090)	0,850
Eritrociti (x10 ¹² /L)	0,9081 (0,2451 – 3,3645)	0,885
Hemoglobin (g/L)	1,0012 (0,96161 – 1,0424)	0,954
Leukociti (x10 ⁹ /L)	0,9898 (0,7858 – 1,2467)	0,931
Granulociti (%)	1,0636 (0,5951 – 1,9007)	0,835
Limfociti (%)	1,0631 (0,5231 – 2,1605)	0,866
Trombociti (x10 ⁹ /L)	0,9927 (0,9792 – 1,0065)	0,299
pH	14,1768 (0,0000 – 19770686,1535)	0,713
Potrebe za transfuzijom		
1. Točka mjerenja (prije operacije)		
IL-6 (pg/mL)	0,6822 (0,4757 - 0,9808)	0,039
IL-10 (pg/mL)	0,0306 (0,0023 - 0,4084)	0,008
MCP-1(pg/mL)	1,0016 (0,9997 - 1,0034)	0,098
Rezistin (ng/mL)	2,5106 (1,0194 - 6,1836)	0,045
Leptin (ng/mL)	0,9248 (0,8363 - 1,0227)	0,128
Kortizol (nmol/L)	1,0056 (0,9967 - 1,0145)	0,216
hsTnT (ng/L)	0,9722 (0,8494 - 1,1127)	0,682
CRP (mg/L)	0,2655 (0,0729 - 0,9664)	0,044
CK (IU/L)	1,0417 (1,0023 - 1,0826)	0,038
CK-MB (IU/L)	0,4531 (0,1674 - 1,2266)	0,119
Albumin (g/L)	1,0385 (0,8198 - 1,3156)	0,754
Glukoza (mmol/l)	0,6121 (0,2792 - 1,3422)	0,221
Laktat (mmol/L)	136,5178 (1,3440 - 13866,9113)	0,037
iCa (mmol/L)	25,3454 (0,0268 - 23927,2528)	0,355
Mokraćna kiselina (μmol/L)	0,9941 (0,9821 - 1,0062)	0,338
Eritrociti (x10 ¹² /L)	0,6760 (0,0066 - 69,6015)	0,869
Hemoglobin (g/L)	0,8748 (0,7499 - 1,0205)	0,089
Leukociti (x10 ⁹ /L)	0,8210 (0,3002 - 2,2452)	0,701
Granulociti (%)	1,2962 (0,6419 - 2,6175)	0,469
Limfociti (%)	1,2393 (0,5981 - 2,5680)	0,564

Parametar	Omjer izgleda (95% CI)	P
Trombociti (x10 ⁹ /L)	0,9729 (0,9421 - 1,0047)	0,094
pH	0,0000 (0,0000-1,06x10 ¹⁵)	0,599
2. Točka mjerenja (neposredno nakon operacije)		
IL-6 (pg/mL)	1,0006 (0,9956 - 1,0056)	0,807
IL-10 (pg/mL)	0,9993 (0,9978 - 1,0007)	0,334
MCP-1(pg/mL)	0,9995 (0,9937 - 1,0053)	0,861
Rezistin (ng/mL)	1,0067 (0,8041 - 1,2602)	0,954
Leptin (ng/mL)	0,9914 (0,9369 - 1,0490)	0,764
Kortizol (nmol/L)	1,0011 (0,9990 - 1,0033)	0,306
hsTnT (ng/L)	1,0003 (0,9991 - 1,0015)	0,628
CRP (mg/L)	0,5660 (0,2867 - 1,1173)	0,101
CK (IU/L)	1,0026 (0,9894 - 1,0161)	0,698
CK-MB (IU/L)	0,8299 (0,5439 - 1,2661)	0,387
Albumin (g/L)	1,1549 (0,8320 - 1,6032)	0,390
Glukoza (mmol/l)	0,8632 (0,4891 - 1,5236)	0,612
Laktat (mmol/L)	12,0878 (0,7941 - 184,0036)	0,073
iCa (mmol/L)	4,6268 (0,0118 - 1811,7108)	0,615
Mokraćna kiselina (μmol/L)	0,9965 (0,9862 - 1,0069)	0,509
Eritrociti (x10 ¹² /L)	0,9212 (0,0467 - 18,1860)	0,957
Hemoglobin (g/L)	0,9850 (0,9149 - 1,0604)	0,688
Leukociti (x10 ⁹ /L)	0,8531 (0,6539 - 1,1129)	0,242
Granulociti (%)	1,5460 (0,8339 - 2,8663)	0,167
Limfociti (%)	1,5534 (0,8089 - 2,9832)	0,186
Trombociti (x10 ⁹ /L)	0,9987 (0,9799 - 1,0179)	0,894
pH	0,0000 (0,0000 - 0,0788)	0,026
3. Točka mjerenja (24 sata nakon operacije)		
IL-6 (pg/mL)	0,9954 (0,9850 - 1,0060)	0,395
IL-10 (pg/mL)	1,0208 (0,9568 - 1,0892)	0,533
MCP-1(pg/mL)	1,0031 (0,9916 - 1,0148)	0,596
Rezistin (ng/mL)	1,0581 (0,9810 - 1,1413)	0,143
Leptin (ng/mL)	0,9929 (0,9660 - 1,0206)	0,613
Kortizol (nmol/L)	1,0025 (0,9992 - 1,0058)	0,139

Parametar	Omjer izgleda (95% CI)	P
hsTnT (ng/L)	1,0011 (0,9955 - 1,0068)	0,699
CRP (mg/L)	1,0031 (0,9722 - 1,0350)	0,845
CK (IU/L)	1,0006 (0,9991 - 1,0021)	0,413
CK-MB (IU/L)	0,9581 (0,8003 - 1,1470)	0,641
Albumin (g/L)	1,5537 (1,0623 - 2,2724)	0,023
Glukoza (mmol/l)	1,0733 (0,6771 - 1,7014)	0,764
Laktat (mmol/L)	1,8047 (0,4884 - 6,6682)	0,376
iCa (mmol/L)	1,8215 (0,0001 - 25989,1622)	0,902
Mokraćna kiselina (μmol/L)	0,9953 (0,9840 - 1,0068)	0,420
Eritrociti (x10 ¹² /L)	0,5327 (0,0230 - 12,3253)	0,694
Hemoglobin (g/L)	0,9274 (0,8595 - 1,0007)	0,052
Leukociti (x10 ⁹ /L)	1,0762 (0,7200 - 1,6088)	0,720
Granulociti (%)	1,8790 (0,7247 - 4,8722)	0,195
Limfociti (%)	2,3534 (0,7209 - 7,6827)	0,156
Trombociti (x10 ⁹ /L)	0,9657 (0,9399 - 0,9923)	0,012
pH	12,0015 (0,0000 - 6,43x10 ⁹)	0,809

Rezultati ispitivanja su pokazali kako su ispitanici sa većim pH vrijednostima arterijske krvi i većom koncentracijom ioniziranog kalcija neposredno prije završetka operacije imali manje potrebe za primjenom inotropa i vazopresora. Nadalje, ispitanici koji su u prvoj točki mjerenja imali veće koncentracije IL-6, IL-10 i CRP-a, su imali manje potreba za transfuzijom, dok su veće koncentracije rezistina, laktata te aktivnosti CK u navedenoj točki ukazivale na povećane potrebe za transfuzijom tijekom perioperativnog perioda. Veća vrijednost pH arterijske krvi neposredno prije završetka operacije je ukazivala na manje potrebe za transfuzijom. Također je i veći broj trombocita 24 sata nakon operacije ukazivao na manje potrebe za transfuzijom, dok je u istoj točki veća koncentracija albumina ukazivala na veće potrebe za transfuzijom krvi.

Tablica 16. Rezultati višestruke regresijske analize

Parametar	r_{parcijalni}	P
Vrijeme do otpusta iz bolnice (dani)		
1. Točka mjerenja (prije operacije)		
IL-6 (pg/mL)	- 0,02187	0,858
IL-10 (pg/mL)	- 0,05955	0,627
MCP-1(pg/mL)	0,05549	0,651
Rezistin (ng/mL)	0,1342	0,272
Leptin (ng/mL)	0,01788	0,884
Kortizol (nmol/L)	- 0,00817	0,947
hsTnT (ng/L)	0,04682	0,702
CRP (mg/L)	- 0,1132	0,355
CK (IU/L)	0,3504	0,003
CK-MB (IU/L)	- 0,1162	0,342
Albumin (g/L)	- 0,1247	0,307
Glukoza (mmol/l)	0,1249	0,307
Laktat (mmol/L)	- 0,05018	0,682
iCa (mmol/L)	0,06403	0,601
Mokraćna kiselina (μmol/L)	0,00707	0,954
Eritrociti (x10 ¹² /L)	0,07707	0,529
Hemoglobin (g/L)	- 0,04318	0,725
Leukociti (x10 ⁹ /L)	- 0,02621	0,831
Granulociti (%)	- 0,01963	0,873
Limfociti (%)	0,00199	0,987
Trombociti (x10 ⁹ /L)	- 0,1184	0,333
pH	0,1686	0,166
2. Točka mjerenja (neposredno nakon operacije)		
IL-6 (pg/mL)	0,01022	0,934
IL-10 (pg/mL)	- 0,09151	0,455
MCP-1(pg/mL)	0,03368	0,784
Rezistin (ng/mL)	0,07892	0,519
Leptin (ng/mL)	0,03693	0,763

Parametar	r parcijalni	P
Kortizol (nmol/L)	- 0,02200	0,858
hsTnT (ng/L)	- 0,06138	0,616
CRP (mg/L)	- 0,05907	0,930
CK (IU/L)	0,4230	<0,001
CK-MB (IU/L)	- 0,1442	0,237
Albumin (g/L)	- 0,02408	0,844
Glukoza (mmol/l)	0,5238	0,392
Laktat (mmol/L)	- 0,1375	0,260
iCa (mmol/L)	0,09714	0,427
Mokraćna kiselina (μmol/L)	- 0,03323	0,786
Eritrociti (x10 ¹² /L)	- 0,03790	0,757
Hemoglobin (g/L)	0,04242	0,729
Leukociti (x10 ⁹ /L)	- 0,2530	0,036
Granulociti (%)	- 0,06606	0,590
Limfociti (%)	- 0,08560	0,484
Trombociti (x10 ⁹ /L)	0,08221	0,502
pH	- 0,03044	0,804
3. Točka mjerenja (24 sata nakon operacije)		
IL-6 (pg/mL)	- 0,01267	0,918
IL-10 (pg/mL)	- 0,01534	0,901
MCP-1 (pg/mL)	0,04277	0,729
Rezistin (ng/mL)	- 0,00106	0,993
Leptin (ng/mL)	- 0,1327	0,281
Kortizol (nmol/L)	0,2358	0,053
hsTnT (ng/L)	- 0,07831	0,526
CRP (mg/L)	0,07088	0,566
CK (IU/L)	0,3314	0,006
CK-MB (IU/L)	- 0,04567	0,712
Albumin (g/L)	- 0,00222	0,986
Glukoza (mmol/l)	0,01975	0,873
Laktat (mmol/L)	- 0,1511	0,219
iCa (mmol/L)	- 0,1080	0,381

Parametar	r parcijalni	P
Mokraćna kiselina ($\mu\text{mol/L}$)	- 0,02735	0,825
Eritrociti ($\times 10^{12}/\text{L}$)	0,02133	0,863
Hemoglobin (g/L)	0,01123	0,928
Leukociti ($\times 10^9/\text{L}$)	0,003928	0,975
Granulociti (%)	- 0,09586	0,437
Limfociti (%)	- 0,09428	0,444
Trombociti ($\times 10^9/\text{L}$)	- 0,01545	0,901
pH	- 0,005818	0,962
Gubitak krvi (mL)		
1. Točka mjerenja (prije operacije)		
IL-6 (pg/mL)	0,03279	0,789
IL-10 (pg/mL)	- 0,04946	0,687
MCP-1 (pg/mL)	0,1411	0,248
Rezistin (ng/mL)	- 0,08753	0,475
Leptin (ng/mL)	- 0,1983	0,102
Kortizol (nmol/L)	- 0,05158	0,674
hsTnT (ng/L)	0,09989	0,414
CRP (mg/L)	0,04919	0,688
CK (IU/L)	0,1752	0,149
CK-MB (IU/L)	- 0,06186	0,614
Albumin (g/L)	0,006054	0,961
Glukoza (mmol/l)	- 0,009577	0,434
Laktat (mmol/L)	0,03331	0,786
iCa (mmol/L)	0,004846	0,969
Mokraćna kiselina ($\mu\text{mol/L}$)	0,1928	0,112
Eritrociti ($\times 10^{12}/\text{L}$)	0,1145	0,349
Hemoglobin (g/L)	- 0,06105	0,618
Leukociti ($\times 10^9/\text{L}$)	- 0,02105	0,864
Granulociti (%)	0,0325	0,791
Limfociti (%)	0,06167	0,615
Trombociti ($\times 10^9/\text{L}$)	- 0,2646	0,028
pH	- 0,1016	0,406

Parametar	r parcijalni	P
2. Točka mjerenja (neposredno nakon operacije)		
IL-6 (pg/mL)	0,07988	0,514
IL-10 (pg/mL)	- 0,1897	0,119
MCP-1(pg/mL)	- 0,09391	0,443
Rezistin (ng/mL)	- 0,0742	0,545
Leptin (ng/mL)	- 0,1445	0,236
Kortizol (nmol/L)	- 0,01822	0,882
hsTnT (ng/L)	0,01551	0,899
CRP (mg/L)	0,03444	0,779
CK (IU/L)	0,3423	0,004
CK-MB (IU/L)	- 0,07812	0,523
Albumin (g/L)	- 0,04145	0,735
Glukoza (mmol/l)	- 0,09824	0,422
Laktat (mmol/L)	- 0,07690	0,530
iCa (mmol/L)	0,1346	0,270
Mokraćna kiselina (μmol/L)	0,2862	0,017
Eritrociti (x10 ¹² /L)	0,1195	0,328
Hemoglobin (g/L)	- 0,02637	0,830
Leukociti (x10 ⁹ /L)	- 0,3476	0,003
Granulociti (%)	0,1616	0,185
Limfociti (%)	0,1385	0,256
Trombociti (x10 ⁹ /L)	0,01121	0,927
pH	- 0,1230	0,314
3. Točka mjerenja (24 sata nakon operacije)		
IL-6 (pg/mL)	0,02609	0,833
IL-10 (pg/mL)	- 0,02790	0,821
MCP-1(pg/mL)	- 0,01385	0,911
Rezistin (ng/mL)	0,01760	0,887
Leptin (ng/mL)	- 0,2855	0,018
Kortizol (nmol/L)	0,1039	0,399
hsTnT (ng/L)	- 0,1314	0,286
CRP (mg/L)	0,06956	0,573

Parametar	r parcijalni	P
CK (IU/L)	0,03325	0,788
CK-MB (IU/L)	0,1463	0,234
Albumin (g/L)	- 0,008186	0,947
Glukoza (mmol/l)	- 0,05498	0,656
Laktat (mmol/L)	0,05427	0,660
iCa (mmol/L)	0,04808	0,697
Mokraćna kiselina (μmol/L)	0,1867	0,127
Eritrociti (x10 ¹² /L)	- 0,01760	0,887
Hemoglobin (g/L)	- 0,1790	0,144
Leukociti (x10 ⁹ /L)	- 0,1822	0,137
Granulociti (%)	0,1191	0,333
Limfociti (%)	0,1553	0,206
Trombociti (x10 ⁹ /L)	- 0,2189	0,073
pH	- 0,004778	0,969
Trajanje mehaničke ventilacije (sati)		
1. Točka mjerenja (prije operacije)		
IL-6 (pg/mL)	0,02775	0,826
IL-10 (pg/mL)	- 0,02121	0,867
MCP-1(pg/mL)	0,03789	0,765
Rezistin (ng/mL)	0,01482	0,907
Leptin (ng/mL)	- 0,01906	0,880
Kortizol (nmol/L)	0,05279	0,676
hsTnT (ng/L)	- 0,04950	0,695
CRP (mg/L)	0,02102	0,868
CK (IU/L)	0,3102	0,011
CK-MB (IU/L)	- 0,05869	0,642
Albumin (g/L)	- 0,06761	0,593
Glukoza (mmol/l)	- 0,03580	0,777
Laktat (mmol/L)	- 0,0424	0,737
iCa (mmol/L)	- 0,06884	0,586
Mokraćna kiselina (μmol/L)	0,1596	0,204
Eritrociti (x10 ¹² /L)	- 0,1318	0,295

Parametar	r parcijalni	P
Hemoglobin (g/L)	0,08123	0,520
Leukociti (x10 ⁹ /L)	- 0,02594	0,838
Granulociti (%)	- 0,08074	0,523
Limfociti (%)	- 0,05071	0,688
Trombociti (x10 ⁹ /L)	- 0,03135	0,804
pH	- 0,04927	0,697
2. Točka mjerenja (neposredno nako operacije)		
IL-6 (pg/mL)	0,2006	0,109
IL-10 (pg/mL)	- 0,1912	0,127
MCP-1(pg/mL)	0,09679	0,443
Rezistin (ng/mL)	- 0,2340	0,061
Leptin (ng/mL)	0,1075	0,394
Kortizol (nmol/L)	0,05416	0,668
hsTnT (ng/L)	- 0,1075	0,349
CRP (mg/L)	0,07570	0,549
CK (IU/L)	0,2543	0,041
CK-MB (IU/L)	- 0,2221	0,075
Albumin (g/L)	0,1037	0,411
Glukoza (mmol/l)	0,05533	0,662
Laktat (mmol/L)	- 0,1617	0,198
iCa (mmol/L)	- 0,1563	0,214
Mokraćna kiselina (μmol/L)	0,1269	0,314
Eritrociti (x10 ¹² /L)	- 0,1437	0,253
Hemoglobin (g/L)	0,02823	0,823
Leukociti (x10 ⁹ /L)	- 0,1168	0,354
Granulociti (%)	- 0,1680	0,181
Limfociti (%)	- 0,1478	0,240
Trombociti (x10 ⁹ /L)	0,04213	0,739
pH	- 0,2435	0,051
Vrijeme boravka u jedinici intenzivne skrbi (sati)		
1. Točka mjerenja (prije operacije)		
IL-6 (pg/mL)	0,02973	0,808

Parametar	r parcijalni	P
IL-10 (pg/mL)	0,07701	0,529
MCP-1(pg/mL)	- 0,02859	0,816
Rezistin (ng/mL)	0,07601	0,535
Leptin (ng/mL)	0,06319	0,606
Kortizol (nmol/L)	0,1285	0,293
hsTnT (ng/L)	- 0,1295	0,289
CRP (mg/L)	- 0,01055	0,932
CK (IU/L)	0,2203	0,069
CK-MB (IU/L)	- 0,08026	0,512
Albumin (g/L)	- 0,1583	0,194
Glukoza (mmol/l)	- 0,05461	0,656
Laktat (mmol/L)	0,001946	0,987
iCa (mmol/L)	-0,04278	0,727
Mokraćna kiselina (μmol/L)	- 0,005925	0,962
Eritrociti (x10 ¹² /L)	- 0,007310	0,953
Hemoglobin (g/L)	- 0,02885	0,814
Leukociti (x10 ⁹ /L)	0,01278	0,917
Granulociti (%)	- 0,03755	0,795
Limfociti (%)	- 0,03185	0,917
Trombociti (x10 ⁹ /L)	0,01326	0,914
pH	- 0,1227	0,315
2. Točka mjerenja (neposredno nakon operacije)		
IL-6 (pg/mL)	0,1344	0,271
IL-10 (pg/mL)	- 0,1254	0,305
MCP-1(pg/mL)	0,06329	0,605
Rezistin (ng/mL)	- 0,04303	0,726
Leptin (ng/mL)	0,1726	0,156
Kortizol (nmol/L)	0,1519	0,213
hsTnT (ng/L)	- 0,1687	0,166
CRP (mg/L)	0,04597	0,708
CK (IU/L)	0,07684	0,530
CK-MB (IU/L)	- 0,1976	0,104

Parametar	r_{parcijalni}	P
Albumin (g/L)	0,09423	0,441
Glukoza (mmol/l)	0,05364	0,662
Laktat (mmol/L)	- 0,1935	0,111
iCa (mmol/L)	- 0,2952	0,014
Mokraćna kiselina (μmol/L)	- 0,09308	0,447
Eritrociti (x10 ¹² /L)	0,08892	0,468
Hemoglobin (g/L)	- 0,06152	0,616
Leukociti (x10 ⁹ /L)	- 0,05270	0,667
Granulociti (%)	- 0,2227	0,066
Limfociti (%)	- 0,2241	0,064
Trombociti (x10 ⁹ /L)	- 0,03018	0,806
pH	- 0,2567	0,033

Rezultati višestruke regresijske analize su pokazali kako aktivnost CK u prve tri točke mjerenja i broj leukocita neposredno prije završetka operacije mogu doprinjeti u predviđanju vremena do otpusta ispitanika iz bolnice, dok aktivnost CK prije i neposredno pri završetku operacije može predvidjeti trajanje mehaničke ventilacije. Također, pH vrijednost prije operacije, aktivnost CK, koncentracija mokraćne kiseline i broj leukocita neposredno prije završetka operativnog zahvata te koncentracija leptina mjerena 24 sata nakon operacije mogu doprinjeti u predviđanju količine izgubljene krvi u mL, dok vrijednost arterijskog pH i koncentracija ioniziranog kalcija neposredno prije završetka zahvata mogu doprinjeti u predviđanju vremena boravka u jedinici intenzivne skrbi.

5. RASPRAVA

Rezultati istraživanja su pokazali kako operativni zahvati na srcu uzrokuju značajne promjene biokemijskih, hematoloških biljega te biljega sistemskog upalnog odgovora, stresa i srčane nekroze. Također, ispitivanje je pokazalo da su koncentracije leptina, rezistina, MCP-1 i IL-6 bili viši u OPCAB skupini u odnosu na CABG i AVRS skupine, dok je IL-10 bio najviši u AVRS skupini. Nadalje, naši su rezultati pokazali kako biljezi sistemskog upalnog odgovora slabo ili uopće ne koreliraju sa biljezima stresa i srčane nekroze u bolesnika podvrgnutim kardiokirurškim zahvatima. Međutim, razlike u koncentraciji leptina i rezistina prije i nakon operativnog zahvata te razlike u koncentraciji rezistina neposredno po završetku zahvata i 24 sata postoperativno su imale značajnu ulogu u predviđanju potreba bolesnika za transfuzijom. Također, razlike u koncentraciji kortizola na kraju operacije i 24 sata nakon zahvata mogu ukazivati na količinu izgubljene krvi u bolesnika podvrgnutih kardiokirurškim zahvatima. Od biokemijskih biljega, veća aktivnost CK u pojedinim točkama mjerenja je ukazivala na duže trajanje hospitalizacije, veći gubitak krvi i dulje trajanje mehaničke ventilacije. Nasuprot tome, manji broj leukocita neposredno pred kraj operacije je ukazivao na kraće trajanje hospitalizacije i manji gubitak krvi, dok su manje vrijednosti pH prije operacije i neposredno pred završetak zahvata ukazivale na manji gubitak krvi, odnosno kraće vrijeme liječenja u jedinici intenzivne skrbi.

Kardiokirurški operativni zahvati su vrlo kompleksni i opsežni te kao takvi uzrokuju brojne promjene u organizmu. Od ispitivanih operativnih zahvata pokazalo se kako su bolesnici podvrgnuti revaskularizaciji miokarda bez upotrebe ITK postoperativno izgubili manje krvi drenažom te imali manje potreba za inotropnim agensima ili vazopresorima u odnosu na bolesnike podvrgnute revaskularizaciji sa upotrebom ITK ili zamjeni aortalnog zaliksa. Ostali ispitivani ishodi se u vremenskom periodu istraživanja nisu razlikovali između skupina. Iako se većina ishoda nije značajno razlikovala u ispitivanim skupinama, na biokemijskoj razini uočene su brojne razlike u intenzitetu promjene pojedinih biljega između tri ispitivane skupine tijekom i nakon operativnog zahvata.

Tako je pH vrijednost krvi bila značajno viša, a koncentracija laktata značajno niža neposredno nakon operativnog zahvata u pojedinaca podvrgnutih revaskularizaciji bez upotrebe ITK u usporedbi sa bolesnicima kojima je operativni zahvat na srcu rađen uz korištenje stroja za ITK. Naime, upotreba ITK uzrokuje globalnu ishemiju srca, za razliku revaskularizacije rađenoj na kucajućem srcu, bez upotrebe ITK, koja uzrokuje lokalnu ishemiju. Promjene u koncentraciji pH vrijednosti krvi u bolesnika kojima je rađena

revaskularizacija miokarda sa i bez upotrebe ITK ispitivao je i Cimen sa svojim kolegama 2002. godine (66). Oni su u istraživanje uključili 36 bolesnika kojima je rađena revaskularizacija miokarda sa i bez upotrebe ITK (po 18 ispitanika u svakoj skupini). Ispitanicima su pratili plućne funkcijske testove te od parametara acidobazične ravnoteže u uzorku arterijske krvi - pH, pO₂, pCO₂ i hematokrit prije operacije, te jednom dnevno kroz 6 dana nakon operativnog zahvata. Na žalost, nisu mjerili pH vrijednost arterijske krvi neposredno nakon operativnog zahvata kako bismo mogli usporediti postoperativne rezultate dobivene u ovom istraživanju sa njihovima. Njihovi rezultati su pokazali razliku u pH vrijednosti tek 3. postoperativni dan s alkalnim vrijednostima pH u obje skupine (7,52±0,05 za skupinu podvrgnutoj ITK i 7,47±0,02 za skupinu bez ITK, P<0,05), dok u našem istraživanju nije bilo statistički značajne razlike u pH vrijednosti od 24 sata postoperativnog razdoblja do kraja istraživanja. U navedenom istraživanju su također, ispitivali promjene u hematokritu te su pronašli značajnu razliku u vrijednostima prvi (28,94±3,86 za CABG skupinu i 33,29±3,65 za OPCAB skupinu, P<0,05) i treći postoperativni dan (28,45±3,88 za CABG i 33,18±4, P<0,05). Za razliku od njih, mi smo pronašli razliku u vrijednostima neposredno nakon operativnog zahvata i peti postoperativni dan, dok razlike u hematokritu tijekom prvog i trećeg postoperativnog dana nije bilo. Također, Cimen i suradnici su ispitivali i promjene u parcijalnim pritiscima O₂ i CO₂, te su našli razliku u parcijalnom pritisku kisika prije operacije i 3. dan nakon zahvata i razliku u parcijalnom tlaku CO₂ 6. postoperativni dan. U našem istraživanju nije bilo razlike u parcijalnom tlaku CO₂ tijekom perioda istraživanja, dok se parcijalni tlak kisika razlikovao samo neposredno nakon operativnog zahvata i pri tom bio značajno viši u AVRS i CABG skupini, što možemo pripisati oksigenaciji krvi upotrebom stroja za ITK. Još je jedno istraživanje provedeno 2006. godine od strane Kona i suradnika dobilo slične rezultate našima (67). Naime, oni su tijekom operativnih zahvata revaskularizacije miokarda sa i bez upotrebe ITK u stvarnom vremenu pomoću Khuri sistema za praćenje pH (Terumo Corp, Tokio, Japan) te su našli pad pH vrijednosti tijekom operativnog zahvata od 0,07±0,06 na 10 bolesnika u OPCAB skupini te 0,15±0,04 na 6 CABG bolesnika čime su i oni pokazali i dokazali razliku u padu pH vrijednosti koju uzrokuje globalna odnosno lokalna ishemija miokarda, ovisno o tome koristi li se stroj za ITK.

Osim promjene u vrijednostima pH, ishemija miokarda uzrokuje povećanu anaerobnu glikolizu, te povećano stvaranje laktata koja je očekivano statistički značajno viša u operativnim zahvatima koji su primjenjivali izvantjelesnu cirkulaciju (CABG i AVRS skupine ispitanika). Slične rezultate su dobili i Chandrasena i suradnici koji su na ukupno 48 ispitanika, po 16 u svakoj od 3 skupine – revaskularizacija bez upotrebe ITK, te

revaskularizacija miokarda uz upotrebu stroja za ITK sa i bez stezanja aorte ispitivali promjene u koncentraciji laktata, ukupnog i ioniziranog kalcija te promjene u aktivnosti glutacione peroksidaze i superoksid dizmutaze (68). Uzorkovali su krv iz jugularne vene i radijalne arterije za navedene biljege 10 minuta prije operacije te 12 minuta, 4, 12, 24 i 48 sati postoperativno. Njihova su mjerenja pokazala najveći porast koncentracije laktata u skupini revaskularizacije sa upotrebom ITK i stezanjem aorte s time da je vršna koncentracija postignuta 4 sata nakon operacije te se postepeno smanjivala u daljnjem periodu, iako je i 48 sati nakon operativnog zahvata u navedenoj skupini bila još uvijek povišena. I u našem istraživanju je porast laktata bio najizraženiji u skupini revaskularizacije miokarda s upotrebom ITK, s time da se navedenoj skupini koncentracija laktata značajno razlikovala samo neposredno nakon zahvata, dok u ostalim vremenskim točkama nije bilo razlike između ispitivanih skupina. Nadalje, koncentracija laktata u našim skupinama bila je povišena i peti postoperativni dan. Budući da su Chandrasena i kolege koncentracije biljega mjerili samo 2 dana nakon operacije, ne možemo znati bi li dobili slične rezultate našima da je vremenski period istraživanja u postoperativnom razdoblju bio duži. Promjene u koncentraciji laktata u perioperativnom razdoblju aortokoronarnog premošćenja sa (N=10) i bez (N=10) upotrebe ITK, uz promjenu glukoze, piruvata i glicerola, ispitala je i češka skupina znanstvenika 2008. godine (69). Međutim, za razliku od ranije navedenog istraživanja, oni nisu uzorkovali krv, nego su postupkom mikrodijalize mjerili koncentracije navedenih tvari u intersticijskoj tekućini perifernih tkiva (točnije mišićnog tkiva lijevog deltoidnog mišića). Uzorke su uzimali samo tijekom operativnog zahvata počevši prije same operacije, te zatim svakih pola sata do najkasnije 3. sata od početka zahvata. Oni su u perifernom tkivu također uočili porast koncentracije laktata u obje skupne, međutim razlika između dvije skupine nije bila statistički značajna. Autori su porast koncentracije objasnili tzv. "ispiranjem" (engl. *washout*) laktata iz hipoperfuziranih tkiva nakon povrata normalne koncentracije; međutim, neovisno o tome, uspjeli su pokazati kako se promjene uslijed zahvata na srcu mogu odražavati i na periferna tkiva. Uz promjene u koncentraciji laktata, autori su ispitivali i promjene u koncentraciji glukoze, te u perifernom tkivu, slično kao i u našem istraživanju, u uzorcima pune krvi uočili porast u koncentraciji glukoze u obje navedene skupine bez statistički značajne razlike između skupina, kao i u našem istraživanju. Kao objašnjenje porasta koncentracije su naveli povećanjem oslobađanja adrenalina uslijed stresa, te njegovog djelovanja na glikogenolizu u jetri, što bi moglo objasniti i porast koncentracije glukoze i kod ispitanika u našem istraživanju. Međutim, porast koncentracije glukoze je samo jedna od biokemijskih promjena u organizmu nastala uslijed stresa. Naime stres prvenstveno aktivira osovinu hipotalamus-

hipofiza-nadbubrežna žlijezda te pritom dolazi do porasta koncentracije kortizola što je pokazano i u našem istraživanju. Viša je koncentracija kortizola izmjerena u bolesnika kojima je mijenjan aortalni zalistak (uz upotrebu ITK), za razliku od bolesnika kojima je rađeno aortokoronarno premošćenje, neovisno o upotrebljenoj tehnici. Slične razlike je pronašao Hoda sa svojim kolegama (60). Oni su u svoje istraživanje uključili 19 ispitanika u CABG skupini te po 15 ispitanika u skupinama zamjene srčanih zalistaka i OPCAB tehnici, te su im uzorkovali krv prije operativnog zahvata, tijekom operacije i 2, 4, 8, 12, 18, 24, 48, i 72 sata postoperativno. U svojem su istraživanju maksimalnu koncentraciju kortizola u ispitivanim skupinama izmjerili 12 sati nakon operativnog zahvata i pri tome su koncentracije kortizola bile značajno više u skupini kojoj je rađena zamjena srčanih zalistaka u usporedbi sa skupinama kojima je rađena revaskularizacija miokarda (CABG i OPCAB). Također, i u njihovom je istraživanju koncentracija kortizola bila povišena 24 sata nakon zahvata i ostala do kraja istraživanja (72 sata poslije operacije) čime su, kao i mi, pokazali da operativni zahvati uzrokuju značajan stres za organizam.

Osim što kardiokirurški zahvati uzrokuju svojevrstan stres za organizam i ishemiju srca koja na biokemijskoj razini dovodi do pada pH vrijednosti i povećane koncentracije laktata, ponovni povrat protoka krvi uzrokuje oksidativni stres, te oštećenje miocita koje može rezultirati nekrozom i u konačnici ishemijsko-reperfuzijskom ozljedom koja se može pratiti promjenom srčanih biljega poput aktivnosti CK, izoenzima CK-MB te posebice promjenom koncentracije *hsTnT*. U našem su istraživanju aktivnosti CK i CK-MB bile statistički značajno niže neposredno i 24 sata nakon operativnog zahvata dok je koncentracija *hsTnT* bila značajno niža 24 sata nakon operativnog zahvata u skupini revaskularizacije miokarda bez upotrebe ITK u usporedbi sa skupinom podvrgnutoj ITK. Razlog tome je, kako je već ranije navedeno, da upotreba ITK dovodi do ishemije cijelog srca, dok zahvat bez upotrebe ITK dovodi samo do lokalne ishemije na mjestu stvaranja anastomoza zbog čega je posljedična ishemijsko-reperfuzijska ozljeda i otpuštanje molekularnih biljega u cirkulaciju očekivano znatno manja. U literaturi je nekoliko skupina istraživača ispitivala razliku u promjeni srčanih biljega kod bolesnika podvrgnutih aortokoronarnom premošćenju sa i bez upotrebe ITK. Tako su Malik i suradnici ispitivali promjene u aktivnosti CK-MB izoenzima u 50 ispitanika podvrgnutih revaskularizacija sa i bez ITK (po 25 ispitanika u svakoj skupini) te su uzorkovali krv 1 sat nakon otpuštanja stezaljke u CABG skupini, odnosno 1 sat nakon završene posljednje anastomoze u OPCAB skupini, te 2, 4, 8, 24, 48 i 72 sata nakon operativnog zahvata u obje skupine (70). Pronašli su statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina u aktivnosti CK-MB 1, 2, 4 i 8 sati nakon operacije s time da je aktivnost

bila viša u skupini sa upotrebom ITK; dok je 24, 48 i 72 sata nakon operacije aktivnost izoenzima bila usporediva između dviju skupina. Slično kao kod njih, i u našem istraživanju je neposredno nakon operacije aktivnost CK-MB izoenzima bila niža u OPCAB skupini, međutim njena aktivnost je bila niža u navedenoj skupini i 24 sata nakon operacije dok su aktivnosti bile usporedive 3. i 5. postoperativni dan. Navedenim razlikama možda je uzrok broj ispitanika po skupinama te karakteristike samih bolesnika budući da je istraživanje rađeno na indijskoj populaciji. Iako su ispitanici u našem istraživanju bili nešto stariji, kraće su ostajali u jedinici intenzivne skrbi i kraće bili podvrgnuti mehaničkoj ventilaciji od ispitanika u navedenom istraživanju. Obzirom da su navedeni parametri bili povoljniji za bolesnike u našem istraživanju, moguće je da je navedeno razlog duljeg vremenskog perioda u kojem je aktivnost CK-MB izoenzima bila različita. Na žalost, budući da su Malik i kolege rezultate CK-MB aktivnosti logaritamski transformirali, nije moguće utvrditi je li maksimalan porast u našim istraživanjima sličan ili različit. I hrvatska skupina istraživača iz Rijeke je 2008. godine provela ispitivanje na 60 ispitanika (po 30 u svakoj skupini) koji su bili operirani *off-pump* i *on-pump* tehnikama tijekom aortokoronarnog premošćenja te su od potencijalnih biljega odlučili pratiti promjenu masene koncentracije CK-MB izoenzima mjrene u nekoliko postoperativnih točaka počevši od primitka u jedinicu intenzivne skrbi (nulta točka) te zatim 4, 8, 12, 24, i 48 sati nakon operacije (71). Najviša koncentracija izoenzima je izmjerena 8 sati poslije operativnog zahvata i bila je statistički značajno viša u CABG skupini u usporedbi s OPCAB skupinom. Međutim, budući da u većini praćenih ishoda i komplikacija nije bilo značajnih razlika između zahvata, autori su temeljem svoje ispitivane populacije zaključili kako su *off-pump* i *on-pump* tehnike usporedive i jednako vrijedne i liječenju višežilne koronarne bolesti. Za razliku od navedenih istraživanja, Brown je sa svojim kolegama na kohorti od 1151 bolesnika ispitivao razliku u koncentraciji cTnT 24 sata nakon operativnog zahvat revaskularizacije miokarda sa i bez upotrebe ITK kako bi ispitao uzrokuje li zahvat sa strojem za ITK veće oštećenje miokarda (72). Pronašli su statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina pri čemu je srednja vrijednost cTnT 24 sata nakon operacija u OPCAB iznosila 180 ng/L što je slično našim rezultatima (medijan u našem istraživanju: 136 ng/L), dok je u CABG ona iznosila 940 ng/L što je mnogo više od naših rezultata (medijan u našem istraživanju: 243 ng/L). Brown je u svojem istraživanju uključio znatno veći broj bolesnika od našeg istraživanja, te je on sa svojim kolegama uključio i elektivne i hitne bolesnike što je sve moglo pridonijeti razlici u rezultatima. Još u još jednom sličnom istraživanju na OPCAB (N=60) i CABG (N=60) ispitanicima se mjerila koncentracija troponina I predoperativno te 12 i 24 sata nakon uklanjanja stezaljke u CABG

skupini, odnosno nakon završetka posljednje anastomoze u OPCAB skupini (73). U obje skupine je došlo do porasta koncentracije troponina I s time da je taj porast bio veći u skupini podvrgnutoj ITK uslijed čega su autori zaključili kako globalna ishemija i upotreba ITK uzrokuju znatno veće oštećenje miokarda od zahvata bez ITK.

Uz promjene u srčanim biljezima, reperfuzija miokarda uzrokuje oksidativni stres koji dovodi do promjena u odnosu oksidansa i antioksidansa. Iz tog razloga smo ispitivali i promjenu u koncentraciji mokraćne kiseline, kao jednog od glavnih antioksidansa tjelesnih tekućina. U literaturi se postoperativna promjena koncentracije mokraćne kiseline povezuje sa postoperativnih naglim razvojem gihta, osobito u bolesnika koji su već ranije imali epizode bolesti. Gladovanje, smanjenje volumena tjelesnih tekućina, hipoksija, predoperativna koncentracija mokraćne kiseline >9 mg/dL ($535 \mu\text{mol/L}$) i porast koncentracije nakon zahvata su glavni čimbenici rizika za razvoj postoperativnog gihta (74, 75). Rezultati našeg ispitivanja pokazali su smanjenje koncentracije mokraćne kiseline nakon operacije s time da je navedeno smanjenje bilo izraženije u skupini ispitanika kojima je operativni zahvat revaskularizacije miokarda bio izveden uz upotrebu ITK u usporedbi s bolesnicima kojima je zahvat izveden u *off-pump* tehnici. Budući da operativni zahvat uzrokuje povećanu produkciju mokraćne kiseline uslijed razgradnje tkivnih nukleinskih kiselina, očekivalo bi se povećanje koncentracije mokraćne kiseline koje bi u skupini CABG ispitanika bilo izraženije jer su tijekom operacije bili izloženi većem oksidativnom stresu uslijed izlaganja stranom materijalu stroja za izvantjelesni krvotok. Mogući razlog navedenim rezultatima bi bila povećana ekskrecija urata bubrezima urata kao odgovor na povećanu produkciju kako bi se održali homeostatski uvjeti, koja bi u našem slučaju bila izraženija u *on-pump* skupini ispitanika. U prilog ovom objašnjenju bi išli rezultati istraživanja provedenog na operaciji peptičkog ulkusa u kojem su znanstvenici na 11 bolesnika mjerili promjene koncentracije mokraćne kiseline prije i do 10 dana nakon operacije (76). Istraživači su uz serumsku koncentraciju pratili i urinarnu ekskreciju mokraćne kiseline te su pronašli su ili smanjene ili nepromijenjene koncentracije mokraćne kiseline u serumu ispitanika nakon operativnog zahvata. Međutim, potrebna su dodatna istraživanja na većem broju ispitanika kojima bi se pratila koncentracija mokraćne kiseline u serumu i mokraći tijekom perioperativnog zahvata kako bi se točno razjasnio mehanizam promjene urata tijekom operativnog zahvata.

Uz sve navedene promjene koje kardiokirurški zahvati uzrokuju organizmu u perioperativnom periodu možda je najizraženiji sistemski upalni odgovor koji se može pratiti uz pomoć negativnih biljega akutne faze poput albumina, pozitivnih biljega (CRP), staničnih biljega poput broja leukocita i postotka pojedinih vrsta leukocita te novijih biljega poput IL-6, IL-10,

leptina, rezistina i MCP-1. Koncentracija albumina je, očekivano, nakon operativnog zahvata bila manja u svim ispitivanim skupinama s time da je pad bio izraženiji u skupinama u kojima je uporebljen sustav ITK u odnosu na OPCAB skupinu. Ovi rezultati potvrđuju našu hipotezu u kojoj je upalni odgovor izraženiji pri upotrebi ITK. Međutim, kod promjene koncentracije CRP-a, nismo pronašli slične rezultate. Iako je porast koncentracije ovog pozitivnog reaktanta akutne faze bio izražen u sve 3 ispitivane skupina, jedino je uočena razlika između skupinama 24 sata poslije operacije i pri tome je njegova koncentracija bila niža u AVRS skupini u odnosu na skupine kojima je rađena revaskularizacija miokarda. Između *on-pump* i *off-pump* skupine ispitanika nije bilo statistički značajne razlike u koncentraciji CRP-a u navedenoj vremenskoj točki. Naši rezultati su slični onima koje je dobila i iransko-američka skupina istraživača koja je također proučavali razlike između CABG i OPCAG operativnih tehnika (77). Oni su regrutirali po 45 ispitanika po svakoj skupini te od upalnih biljega pratili promjene u koncentraciji CRP-a i TNF α prije zahvata i 24 sata poslije operacije. Niti oni nisu pronašli razliku u upalnim biljezima u odabranim vremenskim točkama perioperativnog razdoblja.

Broj leukocita je u skupini zamjene aortalnog zaliska statistički bilo značajno veći već neposredno nakon operativnog zahvata, dok je u druge dvije skupine uočen značajan porast broj leukocita 24 sata nakon operativno zahvata. U toj vremenskoj točki je uočena i najviša vrijednost leukocita, nakon čega je uslijedilo smanjenje njihovog broja te je peti dan poslije operativnog zahvata medijan broja leukocita za sve tri skupine bio unutar referentnog intervala. Promjene u broju leukocita tijekom perioperativnog razdoblja kardiokirurških zahvata su već bile predmet istraživanja znanstvenika. Prije nekoliko godina, Hoda i suradnici su u svom istraživanju pratili promjene u broju leukocita do 72 sata nakon kardiokirurškog zahvata (60). U njihovom je istraživanju maksimalan porast broja leukocita uočen 28 sati nakon operacije i to u skupinama CABG i zamjene srčanih zalistaka, dok promjena u OPCAB skupini nije bila statistički značajna. Iako je obrazac promjene broja leukocita u našem istraživanju drugačiji od navedenog, rezultate nije moguće u potpunosti usporediti budući da su točke uzorkovanja nešto drugačije. Naime, u našem istraživanju smo krv uzorkovali neposredno nakon zahvata te 24 (1. dan), 72 (3. dan) i 120 sati (5. dan) nakon operacije, dok su Hoda i kolege odabrali 2, 4, 8, 12, 18, 24, 48, i 72 sata, te mi ne možemo točno tvrditi kakav bi bio broj leukocita naših ispitanika 48 sati nakon operativnog zahvata. Ono što zasigurno jest drugačije između rezultata je promjena broja leukocita u OPCAB skupini. Naime, u njihovoj skupini nije bilo značajne promjene dok u našem istraživanju jest. Razlog tome može biti u broju uključenih ispitanika. Naime, mi smo uključili po 30 ispitanika u

svakoj skupini nakon provedene analize snage testa kako bismo sa snagom istraživanja $\beta=0,80$ mogli tvrditi da je uočena razlika između skupina statistički značajna. Hoda i suradnici nisu naveli podatak o provedenoj analizi snage istraživanja, te ne možemo sa sigurnošću reći da je broj bolesnika u njihovom istraživanju bio dovoljan kako bi se detektirala značajna promjena pojedinih biljega. Osim Hode i kolega, još je jedna skupina istraživača, iz Ujedinjenog Kraljevstva, proučavala promjene sljedećih upalnih biljega: neutrofilna elastaza, IL-8, C3a te C5a komponente komplementa, broj leukocita, neutrofila i monocita u skupinama kojima je rađen zahvata revaskularizacije miokarda sa i bez upotrebe ITK (78). U njihovom je istraživanju bilo uključeno 30 ispitanika po skupini, kao i u našem slučaju te su krv za neutrofilnu elastazu, IL-8, C3a i C5a uzorkovali 1, 4, 12, i 24 sata nakon zahvata revaskularizacije miokarda, dok su za broj leukocita, monocita i neutrofila krv uzorkovali prije operacije, 30 minuta nakon obustave ITK u CABG skupini, odnosno 30 minuta nakon kompletiranja posljednje anastomoze u OPCAB skupini, te 12, 36 i 60 sati nakon operacije. Međutim obrazac promjene broja leukocita se razlikovao i od našeg obrasca i onog kojega su uočili Hoda i suradnici. Naime Ascione i kolege su uočili maksimum u broju leukocita 36 i 60 sati nakon operacije u CABG skupini te 12 i 36 sati nakon zahvata u OPCAB skupini. Pri tome su naveli kako su vrijednosti u CABG skupini bile statistički značajno više u CABG skupini u odnosu na OPCAB skupinu ($P<0,01$), međutim vrijednosti između različitih vremenskih točaka u pojedinim skupinama nisu statistički uspoređivali te se promjene u pojedinim skupinama ne mogu uspoređivati sa našima. Iako rezultati nisu međusobno usporedivi, što zbog različitog broja uključenih ispitanika, što zbog različitih ustroja istraživanja, oni ipak ukazuju na kompleksnost imunološkog odgovora koji može biti različit uslijed brojnih čimbenika poput starosne dobi, prisutnih komorbiditeta, te što se tiče samog istraživanja, duljine trajanja ishemije te veličini ishemijsko-reperfuzijske ozljede, trajanja samog operativnog zahvata, izlaganja stranom materijalu stroja za izvantjelesni krvotok i sl.. Trauma uslijed operativnog zahvata, zajedno sa navedenim čimbenicima, uzrokuje oslobađanje brojnih signalnih molekula koje uključuju IL-6, MCP-1 i leptin. Navedeni medijatori upale potiču daljnje kaskadne reakcije imunološkog sustava koji za posljedicu imaju privlačenje upalnih stanica, prvenstveno monocita, makrofaga i T limfocita na mjesto ozlijeđenog tkiva (29, 79, 80). Infiltrirane upalne stanice dalje oslobađaju citokine i adipokine čime se dodatno pojačava oslobađanje navedenih medijatora upale (81, 82, 83). Za očekivati bi bilo da će uslijed pojačane ishemije te izlaganju stranom tijelu u slučaju upotrebe ITK oslobađanje medijatora upale biti izraženije u AVRS i CABG skupinama. Međutim, suprotno očekivanom, rezultati ovog istraživanja su pokazala više koncentracije IL-6, MCP-1,

leptina i rezistina u OPCAB skupini u odnosu na CABG i AVRS skupine. Iako upotreba ITK uzrokuje globalnu ishemiju srca, moguće objašnjenje ovakvih rezultata leži u tehnici tople kardioplegije koja zaustavlja metabolizam kardiomiocita i transdukciju signala te na taj način djeluje protektivno (84, 85). Nadalje, postoje i literaturni podaci da upravo tijekom ishemije miokarda, subpopulacija makrofaga miokarda zajedno sa infiltriranim makrofazima aktivnom sekrecijom brojnih medijatore upale (među njima i leptin i MCP-1), čimbenike rasta te proteaze koji aktiviraju antiapoptotske signalne putove te djeluju kardioprotektivno, omogućujući preživljenje miocita, te čak potiču regeneraciju ozlijeđenog tkiva (86, 87, 88). U prilog ovoj tezi bi išle i vrijednosti koncentracije *hsTnT* u OPCAB skupini koje su bile statistički značajno niže u usporedbi sa AVRS i CABG skupinama. Međutim, i u literaturi postoje oprečni rezultati oko razlika u koncentracijama pojedinih upalnih biljega između *off-pump* i *on-pump* operativne tehnike. Tako su primjerice Castellheim i kolege na populaciji od 44 bolesnika (po 22 u svakoj skupini) ispitivali promjene 25 različitih biljega među kojima su bili i IL-6, IL-10 te MCP-1 u 8 vremenskih točaka (T1 – nakon indukcije opće anestezije i prije sistemske heparinizacije; T2 – neposredno nakon postavljanja ITK, odnosno 30 minuta nakon T1 točke u *off-pump* skupini; T3 - 45 minuta nakon T2; T4 - 60 minuta nakon T2; T4 - 90 minuta nakon T2; T6 – pri završetku ITK, odnosno 120 minuta nakon T2 u *off-pump* skupini; T7 – tijekom šivanja; T8 =2 sata nakon operacije) (89). Iako su koncentracije sva 3 biljega porasle u obje skupine, jedino je koncentracija IL-10 bila statistički značajno viša u *on-pump* skupini dok za ostala 2 biljega nije bilo statistički značajne razlike između skupina. Koncentracija sva tri biljega je počela rasti već tijekom operativnog zahvata i postigla maksimum u zadnjoj točki mjerenja (2 sata nakon operacije). Naši rezultati potkrepljuju navedenu dinamiku, budući da je koncentracija bila sva 3 biljega bila statistički značajno viša neposredno nakon operacije u odnosu na predoperativnu koncentraciju. Dinamiku MCP-1 tijekom operativnog zahvata su ispitivali i Wehlin sa kolegama na ukupno 20 bolesnika (90). Krv je uzorkovana u 4 točke: 1. nakon indukcije anestezije, ali prije početka samog zahvata; 2. 30 minuta nakon početka ITK u *on-pump* skupini, odnosno 20 minuta nakon šivanja prve distalne anastomoze, 3. neposredno prije zatvaranja sternuma i 4. 20-24 sata nakon operativnog zahvata. Znanstvenici su tijekom operativnog zahvata uočili prvotni blagi pad u koncentraciji MCP-1, da bi nakon toga uslijedio porast koncentracije koji se zadržao do 24 sata nakon operativnog zahvata. S druge strane, jedna je skupina istraživača na skupini od 25 bolesnika pronašla više koncentracije MCP-1 i IL-6 u bolesnika podvrgnutih operaciji srčanog zaliska u usporedbi s bolesnicima kojima je rađena revaskularizacija miokarda sa upotrebom ITK (91). Budući da su različita istraživanja dobila oprečne rezultate, Meng je sa svojim

kolegama 2017. godine napravio meta analizu u koju je u konačnici bilo uključeno 27 istraživanja (92). Svrha meta analize je bila procijeniti utjecaj *off-pump* tehnike revaskularizacije miokarda na smanjenje upalnog odgovora organizma temeljem promjena koncentracija IL-6, IL-8 i IL-10 u bolesnika koji su bili podvrgnuti zahvatima revaskularizacije miokarda sa i bez upotrebe ITK. Analiza je pokazala kako je koncentracija IL-10 statistički značajno niža u OPCAB skupini 12 sati nakon operativnog zahvata u usporedbi sa CABG skupinom; dok se koncentracije IL-6 i IL-10 prije operacije i 24 sata nakon operacije statistički ne razlikuju između ispitivanih skupina čime su zaključili kako OPCAB tehnika ne pridonosi smanjenju upalnog odgovora organizma.

Osim navedenih upalnih citokina, i adipokini koje oslobađaju infiltrirane uplane stanice, ali i stanice epikardijalnog masnog tkiva (prvenstveno leptin i rezistin) djeluju kao modulatori homeostaze srca te kao modulatori upalnog odgovora (93). Rezultati ovog istraživanja su pokazala kako tijekom operacije dolazi do smanjenja koncentracije leptina, a zatim do povećanja koncentracije koji je uočljiv 24 sata nakon zahvata. Naši rezultati su slični rezultatima dobivenih prijašnjim istraživanjima (70, 94, 95). Od navedenih, jedino su Hoda i kolege uspoređivali promjene biljega između OPCAB i CABG skupina. Oni su, osim kortizola, pratili i promjenu leptina te su također uočili prvotan pad koncentracije koji je dosegao maksimum 2 sata nakon zahvata, da bi nakon toga koncentracija porasla. Međutim, u navedenom istraživanju je pronađen samo umjeren porast u OPCAB skupini dok je u našem istraživanju u OPCAB skupini izmjerena veća koncentracija leptina u odnosu na AVRS i CABG skupine. Autori su uočeni pad koncentracije objasnili vjerojatnim utjecajem lijekova i anestezije, te posljedicom smanjenog unosa hrane, odnosno posta tijekom perioperativnog perioda. Naime, raniji literaturni podaci su pokazali kako tijekom gladovanja dolazi do pada koncentracije leptina kako bi se smanjilo rasipanje energije i metabolizam smanjio na nužne komponente za održavanje života (96). Uz navedeno, Hoda i kolege su uočili negativnu korelaciju između leptina i kortizola (Pearsonov rho koeficijent je iznosio 0,43, $P < 0,02$). Slične korelacije su pronašli i drugi istraživači i kod drugih vrsta operativnih zahvata, a pojedini i na pedijatrijskoj populaciji (97, 98). Iako u ovom istraživanju nije pronađena korelacija između leptina i kortizola što može biti uslijed različite populacije i broja bolesnika, uspjeli smo pokazati kako, iako slaba, postoji korelacija između biljega upale i srčane nekroze, tj. IL-6 i *hsTnT* čime smo potvrdili jednu od hipoteza našeg istraživanja. Naime, budući da operativni zahvat uzrokuje traumu i posljedičnu aktivaciju sistemskog upalnog odgovora, ali ujedno i dovodi određenog stupnja srčane nekroze uslijed ishemije i reperfuzije, pretpostavili smo te rezultatima i potvrdili da su navedna zbivanja povezana. Naši

rezultati su slični onima koje su pokazali i Nesher sa suradnicima koji su na 120 bolesnika podvrgnutih CABG i OPCAB zahvatima (po 60 ispitanika u svakoj skupini) ispitivali promjene upalnih biljega IL-6, IL-8 i IL-10 te biljega srčane nekroze – troponina I i mase MB izoenzima kreatin kinaze u perioperativnom razdoblju (uzorkovanje izvršeno tijekom indukcije anestezije, neposredno nakon sternotomije, prije i nakon završetka ITK u CABG skupini, odnosno po završetku svih anastomoza u OPCAB skupini, neposredno pri završetku operativnog zahvata te 6 i 24 sata nakon operacije) (99). Znanstvenici pronašli statistički značajno više koncentracije upalnih biljega i troponina i neposredno pri završetku operacije i tijekom postoperativnog perioda u CABG skupini u usporedbi s OPCAB skupinom ispitanika te značajnu korelaciju između IL-6 i troponina I ($r=0,45$, $P<0,01$).

Promjene u koncentraciji rezistina tijekom operativnih zahvata su istraživali i druge skupine znanstvenika te pokazali rezultate slične našima. Tako su Laurikka i kolege pokazali na skupini bolesnika podvrgnutih revaskularizaciji miokarda uz upotrebu ITK da, nakon inicijalnog pada koncentracije koji se javlja pri uspostavi ITK, dolazi do porasta koncentracije rezistina koji je najizraženiji u periodu od 4 do 24 sata nakon operacije (94). Sličnu dinamiku na CABG skupini ispitanika su pokazali i Nemeth sa suradnicima, dok takva promjena nije bila vidljiva u OPCAB skupini već je koncentracija rezistina bila u blagom porastu u odnosu na inicijalnu vrijednost (100). Uz navedene istraživače, i kremen je sa suradnicima ispitivao promjene serumskih koncentracija IL-6, MCP-1, TNF- α , leptina, rezistina i adiponektina prije, neposredno nakon te 6, 12, 24, 48, i 120 sati nakon operativnih zahvata srca koji su uključivali revaskularizaciju miokarda i zamjene srčanih zalistaka. Oni su zabilježili kontinuirani porast koncentracije rezistina koji je bio na vrhuncu 24 sata nakon operacije, nakon čega je uslijedio pad koncentracije, iako je i u zadnjoj točki mjerenja (120 sati nakon operacije) koncentracija i dalje bila statistički značajno povišena u odnosu na početnu vrijednost.

Osim što je u ovom istraživanju ispitivana promjena koncentracije i povezanost pojedinih biljega tijekom perioperativnog razdoblja, također je ispitivano može li pojedini biljeg ili promjena u koncentraciji pojedinog biljega predvidjeti kratkoročni ishod i komplikacije kod ispitivane populacije. Naši rezultati su pokazali kako aktivnost CK u pojedinim točkama mjerenja može ukazivati na trajanje mehaničke ventilacije, vrijeme hospitalizacije te količinu izgubljene krvi. Uz navedeno, broj leukocita neposredno pred kraj operacije može ukazivati na trajanje hospitalizacije i količinu izgubljene krvi, dok vrijednosti pH prije operacije i neposredno pred završetak zahvata mogu ukazivati na količinu izgubljene krvi i trajanje liječenja u jedinici intenzivne skrbi. Navedeni biljezi su pokazatelji upale, oštećenja miokarda

i acidoze koji su patofiziološka posljedica kardiokirurških zahvata. Ovisno o stupnju upale, odnosno nekroze miokarda, dolazi do različitog intenziteta promjene navedenih biljega samim time i do različitog vremenskog tijeka oporavka bolesnika.

U literaturi su pronađeni znanstveni radovi koji su masenu koncentraciju CK-MB izoenzima povezali sa trajanjem mehaničke ventilacije i boravka u jedinici intenzivne skrbi te postoperativnom disfunkcijom lijevog ventrikula i smrtnošću unutar 30 dana (101, 102). Također, rezultati našeg istraživanja su pokazali kako promjene u koncentraciji leptina i rezistina mogu predvidjeti potrebe bolesnika za transfuzijom i količinu izgubljene krvi, dok rezistin i kortizol mogu predvidjeti količinu izgubljene krvi. Dosadašnja su istraživanja pokazala kako promjena rezistina prije i poslije operacije revaskularizacije miokarda može predvidjeti postoperativnu fibrilaciju atriya sa omjerom izgleda (engl. *odds ratio*, OR) 1,156 (95% CI za OR=1,005–1,329), P=0,043 (103). Nadalje, jedno je istraživanje na 46 bolesnika pokazala kako koncentracija rezistina >54 ng/g mjerena iz epikardijalnog masnog tkiva koje okružuje lijevu koronarnu arteriju se može predvidjeti fibrilacije atriya nakon revaskularizacije miokarda s OR=7,7 (95% CI 1,4–42,2), P=0,02 (104). Uz navedeno, rezistin se pokazao korisnim i u predviđanju ishoda u revaskularizaciji donjih ekstremiteta. Tako su primjerice Owens i kolege su na 225 bolesnika u višestrukoj regresijskoj analizi podataka pronašli da predoperativne koncentracije rezistina i CRP-a mogu predvidjeti preživljenje bolesnika bez potrebama za amputacijom noge s omjerom rizika (engl. *hazard ratio*) $HR_{\text{rezistin}}=1,75$, 95%CI, 1,07-2,85; P=0,025 i $HR_{\text{CRP}}=2,39$, 95%CI, 1,30-4,39; P=0,005 (105). Uz navedeno, skupina znanstvenika je istraživala povezanost biljega upale koje su izmjerili u perikardijalom masnom tkivu (leptin, adiponektin, TNF- α i sirtuin-6) s postoperativnim ishodom 360 bolesnika koji su bili podvrgnuti revaskularizaciji miokarda uslijed infarkta miokarda (106). Njihovi rezultati su pokazali kako pojedinci s nižim omjerom leptin/adiponektin, nižim koncentracijama TNF- α i višim koncentracijama sirtuina-6 imaju niži rizik za razvoj većih neželjenih kardioloških ishoda (engl. *Major-Adverse-Cardiac-Events*).

Imunološki odgovor čini vrlo kompleksni sustav različitih vrsta i subpopulacija stanica i brojnih upalnih medijatora koji zajedničkim međudjelovanjem sudjeluju u održavanju homeostaze organizma. Kardiokirurški zahvati, poput revaskularizacije miokarda i zamjene aortalnog zaliska, uzrokuju brojne promjene u organizmu i veliki odmak od homeostaze. Osim što dovode do aktivacije imunološkog sustava, takvi operativni zahvati uzrokuju i druge patološke procese poput traume, stresa, ishemije i posljedične reperfuzijske ozljede uz nekrozu miokarda. Navedeni procesi dovode do aktivacije niza kaskadnih reakcija čiji se intenzitet može razlikovati između bolesnika podvrgnutih kardiokirurškom zahvatu ovisno o

dobi, spolu, pretilosti, prisutnim bolestima, i drugim čimbenicima. Stoga je nije jednostavno pronaći biljeg koji bi mogao predvidjeti ishod i postoperativne komplikacije. Potrebno je provesti dodatna istraživanja na različitim skupinama bolesnika kako bi pridonijeli razumijevanju i razlikama u upalnom odgovoru nakon operativnog zahvata te kako bi se iz njih mogao u budućnosti izdvojiti biljeg koji bi bio klinički koristan za predviđanje ishoda i komplikacija bolesnika.

6. ZAKLJUČCI

1. Kardiokirurški zahvati uzrokuju stres te snažan upalni odgovor organizma koji je vidljiv po promjeni biokemijskih biljega od kojih neki ostaju statistički značajno promijenjeni u sve 3 ispitivane skupine i do 24 sata nakon operativnog zahvata (*hsTnT*, kortizol, IL-6, IL-10 i rezistin), a većina i do 5 dana nakon operacije (albumin, mokraćna kiselina, CK, CRP, KKS osim MCV i leukocita, glukoza, laktat te parametri acidobazične ravnoteže osim TCO_2).

2. Od ispitivanih biljega jedino interleukin 6 statistički značajno korelira sa visoko osjetljivim troponinom T.

3. Veće promjena u koncentraciji leptina tijekom operativnog zahvata može ukazivati na manju potrebu za transfuzijom, dok veća promjena u koncentraciji rezistina tijekom i 24 sata nakon operacije statistički značajno može predvidjeti povećane potrebe bolesnika za transfuzijom.

4. Veće razlike u koncentraciji rezistina prije i neposredno pred kraj operativnog zahvata te veće razlike u koncentraciji kortizola na kraju operacije i 24 sata nakon zahvata mogu ukazivati na povećan gubitak krvi u bolesnika podvrgnutih kardiokirurškim zahvatima.

5. Aktivnost CK u prve tri točke mjerenja može doprinjeti predviđanju vremena trajanja hospitalizacije; dok aktivnost CK pri završetku operativnog zahvata može doprinjeti predviđanju postoperativne količine izgubljene krvi i na vrijeme trajanja mehaničke ventilacije. Također, broj leukocita neposredno pred kraj operacije može ukazivati na trajanje hospitalizacije i količinu izgubljene krvi, dok vrijednosti pH prije operacije i neposredno pred završetak zahvata mogu doprinjeti predviđanju postoperativne količine izgubljene krvi, odnosno vrijeme liječenja u jedinici intenzivne skrbi.

7. POPIS LITERATURE

1. Burtis CA, Ashwood ER, Burns DE, urednici. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 6. izdanje. St. Louis, MO: Elsevier Saunders, 2012.
2. Weinhaus AJ, Roberts KP. Anatomy of the Human Heart. U: Iaizzo PA, urednik. Handbook of Cardiac Anatomy, Physiology, and Devices. Totowa, NJ: Humana Press, 2005. p59-p85.
3. Lee J, Smith NP. The Multi-Scale Modelling of Coronary Blood Flow. *Ann Biomed Eng* 2012;40:2399–2413.
4. <https://icd.who.int/browse10/2019/en#/IX>. Zadnji pristup 24.03.2021.
5. Timmis A, Townsend N, Gale CP, Torbica A, Lettino M, Petersen SE et al. European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2019. *Eur Heart J* 2020;41:12-85.
6. Izvješće o umrlim osobama u Hrvatskoj u 2019. godini. Hrvatsko zavod za javno zdravstvo. Rujan 2020. Dostupno na www.hzjz.hr. Zadnji pristup 25.06.2021.
7. Malakar AK, Choudhury D, Halder B, Paul P, Uddin A, Chakraborty S. A review on coronary artery disease, its risk factors, and therapeutics. *J Cell Physiol* 2019;234:16812-23.
8. Minelli S, Minelli P, Montinari MR. Reflections on Atherosclerosis: Lesson from the Past and Future Research Directions. *J Multidiscip Healthc* 2020;13:621-33.
9. Dai G, Kaazempur-Mofrad MR, Natarajan S, Zhang Y, Vaughn S, Garcia-Sardena G et al. Distinct endothelial phenotypes evoked by arterial waveforms derived from atherosclerosis-susceptible and -resistant regions of human vasculature. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:14871-6.
10. Rocha VZ, Libby P. Obesity, inflammation and atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol* 2009;6: 399–409.
11. Cassar A, Holmes DR, Rihal C S, Gersh BJ. Chronic coronary artery disease: Diagnosis and management. *Mayo Clinic Proceedings* 2009;84:1130–1146.
12. Scott J. Pathophysiology and biochemistry of cardiovascular diseases. *Curr Opinion in Genetics & Development* 2004;14:271–9.
13. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J* 2016;37:2315–81.

14. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes: The Task Force for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2020;41:407–477.
15. Levine GN, Bates ER, Blankenship JC, Bailey SR, Bittl JA, Cercek B et al. 2011 ACCF/AHA/SCAI Guideline for Percutaneous Coronary Intervention: Executive Summary. A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions. *Circulation*. 2011;124:2574–2609.
16. Hillis LD, Smith P, Anderson JL, Bittl JA, Bridges CR, Byrne JG et al. 2011 ACCF/AHA Guideline for Coronary Artery Bypass Graft Surgery: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2011;124:e652-735.
17. Alexander JH, Smith PK. Coronary-Artery Bypass Grafting. *N Engl J Med* 2016;374:1954-64.
18. Freeman B, Berger J. Anesthesiology core review: Part two advanced exam, 1. izdanje. New York, NY: McGraw-Hill Education, 2016.
19. Sarkar M, Prabhu V. Basics of cardiopulmonary bypass. *Indian J Anaesth* 2017;61:760-7.
20. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2018;9:7204-7218.
21. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010;140:805-20.
22. Oeckinghaus A, Hayden MS, Ghosh S. Crosstalk in NF- κ B signaling pathways. *Nat Immunol*. 2011;12:695–708.
23. Jabbour HN, Sales KJ, Catalano RD, Norman JE. Inflammatory pathways in female reproductive health and disease. *Reprod*. 2009;138:903–19.
24. Delves, PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Roitt's Essential Immunology. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2011.
25. Galvão I, Sugimoto MA, Vago JP, Machado MG, Sousa LP. Mediators of Inflammation. U: Riccardi C, Levi-Schaffer F, Tiligada E. (urednici). *Immunopharmacology and Inflammation*. Cham, Švicarska: Springer, 2018, p3-32.
26. Lago F, Dieguez C, Gómez-Reino J, Gualillo O. The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev* 2007;18:313-25.

27. Turner MD, Nedjai B, Hurst T, Pennington DJ. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta* 2014;1843:2563-82.
28. Yadav A, Saini V, Arora S. MCP-1: chemoattractant with a role beyond immunity: a review. *Clin Chim Acta* 2010;411:1570-9.
29. Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *J Interferon Cytokine Re* 2009;29:313-26.
30. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425–32.
31. Lau DC, Dhillon B, Yan H, Szmitko PE, Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physio* 2005;288:H2031-41.
32. Kwon H, Pessin JE. Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2013;4:71.
33. Kaur S, Bansal Y, Kumar R, Bansal G. A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorg Med Chem* 2020;28:115327.
34. Jücker M, Abts H, Li W, Schindler R, Merz H, Günther A et al. Expression of interleukin-6 and interleukin-6 receptor in Hodgkin's disease. *Blood* 1991;77:2413–8.
35. Fraunberger P, Wang Y, Holler E, Parhofer KG, Nagel D, Walli AK et al. Prognostic value of interleukin 6, procalcitonin, and C-reactive protein levels in intensive care unit patients during first increase of fever. *Shock* 2006;26:10–2.
36. Mroczko B, Groblewska M, Gryko M, Kedra B, Szmitkowski M. Diagnostic usefulness of serum interleukin 6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) in the differentiation between pancreatic cancer and chronic pancreatitis. *J Clin Lab Anal* 2010;24:256–61.
37. Panichi V, Maggiore U, Taccola D, Migliori M, Rizza GM, Consani C et al. Interleukin-6 is a stronger predictor of total and cardiovascular mortality than C-reactive protein in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:1154–60.
38. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Ann Rev Immunol* 2001;19:683-765.
39. Mosser DM, Zhang X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev* 2008;226:205-18.
40. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996;334:292–5.

41. Kelesidis T, Kelesidis I, Chou S, Mantzoros CS. Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. *Ann Intern Med* 2010;152:93-100.
42. Howard JK, Lord GM, Matarese G, Vendetti S, Ghatei MA, Ritter MA et al. Leptin protects mice from starvation-induced lymphoid atrophy and increases thymic cellularity in ob/ob mice. *J Clin Invest* 1999;104:1051–9.
43. Filková M, Haluzík M, Gay S, Šenolt L. The role of resistin as a regulator of inflammation: Implications for various human pathologies. *Clin Immunol* 2009;133:157-70.
44. Tripathi D, Kant S, Pandey S, Ehtesham NZ. Resistin in metabolism, inflammation, and disease. *FEBS J* 2020;287:3141-9.
45. Šupe S, Poljaković Z, Kondić LJ, Unušić L, Alvir D. Neurološke osnove stresa i rizik razvoja moždanog udara. *Neurol Croat* 2011;60:21-8.
46. Gibbison B, Angelini GD, Lightman SL. Dynamic output and control of the hypothalamic pituitary-adrenal axis in critical illness and major surgery. *Br J Anaesth* 2013;111:347–60.
47. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF-κB signaling in inflammation. *Sig Transduct Target Ther* 2017;2:17023.
48. Xia Z, Li H, Irwin MG. Myocardial ischaemia reperfusion injury: the challenge of translating ischaemic and anaesthetic protection from animal models to humans. *Br J Anaesth* 2016;117:ii44-62.
49. Turer AT, Hill JA. Pathogenesis of myocardial ischemia-reperfusion injury and rationale for therapy. *Am J Cardiol* 2010;106:360-8.
50. Park KC, Gaze DC, Collinson PO, Marber MS. Cardiac troponins: from myocardial infarction to chronic disease. *Cardiovas Res* 2017;113:1708-18.
51. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined-a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:959-69.
52. McDonough JL, Van Eyk JE. Developing the next generation of cardiac markers: disease-induced modifications of troponin I. *Prog Cardiovasc Dis* 2004;47:207-16.
53. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA et al. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Circulation* 2018;138:e618-e651.
54. 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. *Eur Heart J* 2016;37:267-315.

55. Collinson PO, Heung YM, Gaze D, Boa F, Senior R, Christenson R, et al. Influence of population selection on the 99th percentile reference value for cardiac troponin assays. *Clin Chem* 2012;58:219-25.
56. Apple FS, Collinson PO; IFCC Task Force on Clinical Applications of Cardiac Biomarkers. Analytical characteristics of high-sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Chem* 2012;58:54-61.
57. Apple FS, Ler R, Murakami MM. Determination of 19 cardiac troponin and T assay 99th percentile values from a common, presumably healthy, population. *Clin Chem* 2012;58:1574-81.
58. Venge P, Lindahl B. Cardiac troponin assay classification by both clinical and analytical performance characteristics: a study on outcome prediction. *Clin Chem* 2013;59:976-81.
59. Frankenstein L, Wu AH, Hallermayer K, Wians FH Jr, Giannitsis E, Katus HA. Biological variation and reference change value of high-sensitivity troponin T in healthy individuals during short and intermediate follow-up periods. *Clin Chem* 2011;57:1068-71.
60. Hoda MR, El-Achkar H, Schmitz E, Scheffold T, Vetter HO, de Simone R. Systemic stress hormone response in patients undergoing open heart surgery with or without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2006;82:2179-86.
61. Diegeler A, Doll N, Rauch T, Haberer D, Walther T, Falk V et al. Humoral immune response during coronary artery bypass grafting: A comparison of limited approach, "off-pump" technique, and conventional cardiopulmonary bypass. *Circulation* 2000;102:III95-100.
62. Knudsen LS, Christensen IJ, Lottenburger T, Svendsen MN, Nielsen HJ, Nielsen L et al. Pre-analytical and biological variability in circulating interleukin 6 in healthy subjects and patients with rheumatoid arthritis. *Biomarkers* 2008;13:59-78.
63. Asgeirsson T, Zhang S, Khoo SK, Resau JH, Dujovny N, Senagore AJ. Serum Adiponectin, Resistin, and Circulating Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products in Colectomy Patients. *Mediators Inflamm* 2011;2011:916807.
64. Serrano-Martínez M, Palacios M, Lezaun R. Monocyte chemoattractant protein-1 concentration in coronary sinus blood and severity of coronary disease. *Circulation*. 2003;108:e75.
65. Udovicic M, Bazdaric K, Bilic-Zulle L, Petroveckii M. What we need to know when calculating the coefficient of correlation? *Biochem Med (Zagreb)* 2007;17:10-5.
66. Çimen S, Özkul V, Ketenc Bi, Yurtseven N, Günay R, Ketenci B et al. Daily comparison of respiratory functions between on-pump and off-pump patients undergoing CABG. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003;23:589-94.

67. Kon ZN, Kwon MH, Collins MJ, Kallam S, Sangrampurkar R, Ozeki T et al. Off-Pump Coronary Artery Bypass Leads to a Regional Hypercoagulable State Not Detectable Using Systemic Markers. *Innov* 2006;1:232-8.
68. Chandreasen LG, Peiris H, Waikar HD. Biochemical Changes Associated with Reperfusion After Off-Pump and On-Pump Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *Ann Clin Lab Sci* 2009;39:372-7.
69. Pojar M, Mandak J, Cibíček N, Lonsky V, Dominik J, Palicka V et al. Peripheral tissue metabolism during off-pump versus on-pump coronary artery bypass graft surgery: the microdialysis study. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008;33:899-905.
70. Malik V, Kale SC, Chowdhury UK, Ramakrishnan L, Chauhan S, Kiran U. Myocardial Injury in Coronary Artery Bypass Grafting. *Tex Heart Inst J* 2006;33:321–327.
71. Medved I, Anić D, Zrnić B, Oštrić M, Saftić I. Off-Pump versus On-Pump Myocardial Revascularisation. *Coll. Antropol* 2008;2:381–4.
72. Brown JR, Hernandez F Jr, Klemperer JD, Clough RA, DiPierro FV, Hofmaster PA et al. Cardiac troponin T levels in on- and off-pump coronary artery bypass surgery. *Heart Surg Forum*. 2007;10:E42-6.
73. Badruzzaman M, Hossain A, Adhikary AB, Quader SA, Kamal S, Saha SK. Evaluation of myocardial protection in off-pump vs. on-pump coronary bypass surgery by troponin I estimation. *Bangladesh Med Res Counc Bull* 2010;36:93-6.
74. Kang EH, Lee EY, Lee YJ, Song YW, Lee EB. Clinical features and risk factors of postsurgical gout. *Ann Rheum Dis*. 2008;67:1271 –5.
75. Jeong H, Jeon CH. Clinical characteristics and risk factors for gout flare during the postsurgical period. *Adv Rheumatol* 2019;59:31.
76. Snaith ML, Scott JT. Uric acid excretion and surgery. *Ann rheum Dis* 1972;31:162-5.
77. Nezami N, Djavadzadegan H, Tabatabaie-Adl H, Hamdi A, Ghobadi K, Ghorashi S et al. On- versus Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting: No Difference in Early Postoperative Kidney Function Based on TNF- α or C-Reactive Protein. *Cardiorenal Med* 2012;2:190-9.
78. Ascione R, Lloyd CT, Underwood MJ, Lotto AA, Pitsis AA, Angelini GD. Inflammatory response after coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1198-204.
79. Matsui H, Motooka M, Koike H, Inoue M, Iwasaki T, Suzuki T et al. Ischemia/reperfusion in rat heart induces leptin and leptin receptor gene expression. *Life Sci* 2007;80:672-80.

80. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2014;6:a016295.
81. Helmy SAK, Wahby MAM, El-Nawaway M. The effect of anaesthesia and surgery on plasma cytokine production. *Anaesthesia* 1999;54:733-8.
82. Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin*. 2007;45:27-37.
83. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol* 2005;174:5789–95.
84. Wan S, Yim AP, Arifi AA, Lee TW, Huynh CH, DeSmet JM et al. Can cardioplegia management influence cytokine responses during clinical cardiopulmonary bypass? *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 1999;5:81-5.
85. Tavares-Murta BM, Cordeiro AO, Murta EFC, Cunha, FQ, Bisinotto FMB. Effect of myocardial protection and perfusion temperature on production of cytokines and nitric oxide during cardiopulmonary bypass. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2007;22:243-50.
86. Frangogiannis NG. Emerging roles for macrophages in cardiac injury: cytoprotection, repair, and regeneration. *J Clin Invest* 2015;125:2927–30.
87. Morimoto H, Takahashi M. Role of monocyte chemoattractant protein-1 in myocardial infarction. *Int J Bio Sci* 2007;3:159-66.
88. Feijóo-Bandín s, Portolés M, Roselló-Lletí E, Rivera M, González-Juanatey JR, Lago F. 20 years of leptin: Role of leptin in cardiomyocyte physiology and physiopathology. *Life Sci* 2015;140:10-8.
89. Castellheim A, Hoel TN, Videm V, Fosse E, Pharo A, Svennevig JL et al. Biomarker profile in off-pump and on-pump coronary artery bypass grafting surgery in low-risk patients. *Ann Thorac Surg* 2008;84:1994-2002.
90. Wehlin L, Vedin J, Vaage J, Lundahl J. Peripheral blood monocyte activation during coronary artery bypass grafting with or without cardiopulmonary bypass. *Scand Cardiovasc J* 2005;39:78-86.
91. Kawahito K, Adachi H, Ino T. Influence of surgical procedures on interleukin 6 and monocyte chemotacting and activating factor responses: CABG vs. Valvular surgery. *J Interferon Cytokines Res* 2000;20:1-6.
92. Meng F, Ma J, Wang W, Lin B. Meta-analysis of interleukin 6, 8 and 10 between off-pump and on-pump coronary artery bypass groups. *Bosn J Basic Med Sci* 2017;17: 85-94.
93. Matloch Z, Kotulak T, Maluzik M. The Role of Epicardial Adipose Tissue in Heart Disease. *Physiol Res* 2016;65:23-32.

94. Laurikka A, Vuolteenaho K, Toikkanen V, Rinne T, Leppänen T, Tarkka M et al. Adipocytokines resistin correlates with oxidative stress and myocardial injury in patients undergoing cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2014;46:729-36.
95. Kremen J, Dolinkova M, Krajickova J, Blaha J, Anderlova K, Lacinova Z et al. Increased subcutaneous and epicardial adipose tissue production of proinflammatory cytokines in cardiac surgery patients: possible role of insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4620-7.
96. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* 1996;82:250–2.
97. Kain ZN, Zimolo Z, Heninger G. Leptin and the perioperative neuroendocrinological stress response. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:2438-42.
98. Modan-Moses D, Ehrlich S, Kanety H, Dagan O, Pariente C, Esrahi N et al. Circulating leptin and the perioperative neuroendocrinological stress response after pediatric cardiac surgery. *Crit Care Med* 2001;29:2377-82.
99. Neshar N, Frolkis I, Vardi M, Sheinberg N, Bakir I, Caselman F et al. Higher levels of serum cytokines and myocardial tissue markers during on-pump versus off-pump coronary artery bypass surgery. *J Card Surg* 2006;21:395-402.
100. Németh Á, Cziráki A, Sulyok E, Horváth IG, Alotti N, Rauh M et al. Short-term response of metabolic hormones to coronary artery bypass surgery. *Adv Med Sci* 2014;59:213-20.
101. Paparella D, Cappabianca G, Malvindi P, Paramythioti A, Galeone A, Veneziani N et al. Myocardial injury after off-pump coronary artery bypass grafting operation. *Eur J of Cardio-Thoracic Surg* 2007;32:481–7.
102. Ramsay J, Sherman S, Fitch J, Finnegan P, Todaro T, Filloon T et al. Increased creatine kinase MB level predicts postoperative mortality after cardiac surgery independent of new Q waves. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2005;129:300-6.
103. Gungor H, Ayik MF, Kirilmaz B, Ertugay S, Gul I, Yildiz BS et al. Serum resistin level: as a predictor of atrial fibrillation after coronary artery bypass graft surgery. *Coron Artery Dis* 2011;22:484-90.
104. Rachwalik M, Obremaska M, Zyśko D, Matusiewicz M, Ściborski K, Jasiński M. The concentration of resistin in perivascular adipose tissue after CABG and postoperative atrial fibrillation. *BMC Cardiovasc Disord.* 2019;19:294.
105. Owens CD, Kim JM, Hevelone ND, Hamdan A, Raffetto JD, Creager MA et al. Novel adipokines, high molecular weight adiponectin and resistin, are associated with outcomes

following lower extremity revascularization with autogenous vein. *J Vasc Surg* 2010;51:152–9.

106. Sardu C, D'Onofrio N, Torella M, Portoghese M, Loreni F, Mureddu S et al. Pericoronary fat inflammation and Major Adverse Cardiac Events (MACE) in prediabetic patients with acute myocardial infarction: effects of metformin. *Cardiovasc Diabetol*. 2019;18:126.

8. POPIS KRATICA

ACT	Aktivirano vrijeme zgrušavanja (engl. <i>activated clotting time</i>)
ACCH	Američka udruga kardioloških fondacija (engl. <i>American College of Cardiology Foundation</i>)
ACTH	Adrenokortikotropni hormon (engl. <i>adrenocotropic hormone</i>)
AHA	Američko udruženje bolesti srca (engl. <i>American Heart Association</i>)
ATP	Adenozin-trifosfat
AVRS	Skupina ispitanika kojima je rađena zamjena aortalnog zaliska (engl. <i>Aortic valve replacement surgery</i>)
BE	Suvišak baza
CABG	Skupina ispitanika kojima je rađena revaskularizacija miokarda uz uoptrebu izvantjelesnog krvotoka (engl. <i>Coronary artery bypass grafting</i>)
CK	Kreatin kinaza
CK-MB	Izoenzim MB kreatin kinaze
CRH	Kortikotropin oslobađajući hormon (engl. <i>Corticotropin releasing hormone</i>)
CRP	C reaktivni protein
CSF	Čimbenici stimulacije kolonija (engl. <i>Colony stimulating factors</i>)
CSIF	Inhibicijski čimbenik sinteze citokina (engl. <i>Cytokine synthesis inhibitory factor</i>)
cTn	Srčana izoforma troponina
CV	Koeficijent varijacije (engl. <i>Coefficient of variation</i>)
DKS	Diferencijalna krvna slika
EDTA	Etilen-diamin-tetra-octena kiselina (engl. <i>Ethylene-diamine-tetra-acetic-acid</i>)
GPCR	G proteinom udruženi receptori (engl. <i>G-protein-coupled receptors</i>)
GREs	Elementi glukokortikoidnog odgovora (engl. <i>Glucocorticoid response elements</i>)
hsTnT	Visoko osjetljivi troponin T
IGF-1	Inzulinu sličan čimbenik rasta 1 (engl. <i>Insulin-like growth factor-1</i>)
IFCC	Međunarodna federacija za kliničku kemiju (engl. <i>International Federation of Clinical Chemistry</i>)
IL-1	Interleukin 1

IL-2	Interleukin 2
IL-4	Interleukin 4
IL-5	Interleukin 5
IL-6	Interleukin 6
IL-10	Interleukin 10
IL-10R	Receptor za interleukin 10
IL-12	Interleukin 12
IL-17	Interleukin 17
ITK	Izvanjetelesni krvotok
KKS	Kompletna krvna slika
LAD	Lijeva prednja silazna arterija (engl. <i>left anterior descending artery</i>)
LCA	Lijeva koronarna arterija (engl. <i>left coronary artery</i>)
LCX	Lijeva cirkumfleksna arteriju (engl. <i>left circumflex artery</i>)
LDL	Lipoproteinski niske gustoće (engl. <i>low density lipoproteins</i>)
LoD	Granica detekcije testa (engl. <i>limit of detection</i>)
JAK-STAT	JAK-STAT signalni put (engl. <i>janus kinase - signal transducer and activator of transcription</i>)
MAPK	Mitogenom aktivirana protein kinaza (engl. <i>mitogen-activated protein kinase</i>)
MID	Populacije stanica koje uključuju monocite, eozinofilne i bazofilne granulocite, blaste te druge hematološke prekursorske stanice (engl. <i>MID range</i>)
MCP-1	Monocitni kemotaktični protein 1
MCV	Srednji volumen eritrocita
MHC	Molekule glavnog sustava tkivne podudarnosti klase (engl. <i>major histocompatibility complex</i>)
mRNA	Glasnička ribonukleinska kiselina
NF-κB	Neuklearni faktor kappa-B (engl. <i>nuclear factor kappa-B</i>)
NK stanice	Stanicea prirodne ubojice (engl. <i>natural killer cell</i>)
NO	Dušikov oksid
OPCAB	Skupina ispitanika kojima je rađena revaskularizacija miokarda bez upotrebe izvanjetelesnog krvotoka (engl. <i>off-pump coronary artery bypass</i>)
NSTEMI	Infarkt miokarda bez ST elevacije (engl. <i>non-ST segment elevation</i>)

	<i>myocardial infarction)</i>
PAF	Čimbenik koji aktivira trombocite (engl. <i>platelet-activating factor</i>)
PCI	Perkutana koronarna intervencija (engl. <i>percutaneous coronary intervention</i>)
pCO ₂	Parcijalni pritisak ugljičnog dioksida
PI3K	Fosfoinozitol-3 kinaza
pO ₂	Parcijalni pritisak kisika
PRR	Receptor za prepoznavanje uzorka (engl. <i>pattern recognition receptor</i>)
RCA	Desna koronarna arterija (engl. <i>right coronary artery</i>)
RCV	Klinički značajna promjena (engl. <i>reference change value</i>)
ROS	Reaktivne oksidativne čestice (engl. <i>reactive oxidative species</i>)
SIRS	Sindrom sustavnog upalnog odgovora (engl. <i>Systemic inflammatory response syndrome</i>)
sO ₂	Saturacija hemoglobina kisikom
TCO ₂	Ukupni ugljikov dioksid
TNF	Čimbenik nekroze tumora (engl. <i>tumor necrosis factor</i>)

9. ŽIVOTOPIS

Andrea Saračević rođena je 15.02.1984. godine u Zagrebu gdje je završila osnovnu školu Tituša Brezovačkog te nakon toga prirodoslovno matematičku gimnaziju Lucijana Vranjanina. 2002. godine upisuje studij Medicinske biokemije pri Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu gdje 2007. godine stječe diplomu na temu “Usporedna analiza građe spermija čovjeka između striktnih kriterija i standarda Svjetske Zdravstvene organizacije”.

Pripravnički staž odrađuje od prosinca 2007. do prosinca 2008. godine u Kliničkom zavodu za kemiju, KBC “Sestre milosrdnice”, gdje se od ožujka 2009. godine zapošljava kao znanstveni novak na projektu MZOS “Upala i udio farmakogenetike u razvoju i ishodu akutnih i kroničnih bolesti” kojem je voditelj prof. dr. sc. Ana-Maria Šimundić. Poslijediplomski doktorski studij upisuje pri Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 2010. godine. Specijalistički staž odrađuje u KBC “Sestre milosrdnice” od rujna 2001. do svibnja 2015. godine te stječe naziv specijalista medicinske biokemije i laboratorijske medicine. Od studenog 2016. godine zaposlena je Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KB “Sveti Duh” na mjestu voditelja Odjela za biokemiju i endokrinologiju.

Član je Hrvatske komore medicinskih biokemičara i Hrvatskog društva za medicinsku biokemiju u laboratorijsku medicinu u kojem je aktivno sudjelovala kao član, a poslije i kao voditelj Povjerenstva za edukaciju te trenutno kao pomoćni urednik časopisa *Biochemia Medica*. Bila je članica organizacijskog odbora 4. EFLM-BD europske konferencije o predanalitičkoj fazi, 2. EFLM-UEMS kongresa te 6. hrvatskog kongresa medicinskih biokemičara s međunarodnim sudjelovanjem.

Od 2019. godine član je projektnog tima projekta “Dijagnostički značaj kalprotektina u ranom prepoznavanju upalnih stanja” voditeljice prof. dr. sc. Ana-Marie Šimundić.

10. POPIS RADOVA

1. Saracevic A, Medved I, Hrabric Vlah S, Kozmar A, Bilic-Zulle L, Simundic AM. The association of systemic inflammatory markers with indicators of stress and cardiac necrosis in patients undergoing aortic valve replacement and revascularization surgeries. *Physiol Res* 2020;69:261-274.
2. Dojder A, Vuljanić D, Špoljarić V, Saračević A, Dukić L, Leniček-Krleža J et al.. Reporting categories in urine test strip analysis: Croatian survey and call for action. *Biochem Med (Zagreb)* 2019;29:020709.
3. Saracevic A, Dukic L, Simundic AM. Haemolysis and lipemia interfere with resistin and myeloperoxidase BioVendor ELISA assays. *Biochem Med (Zagreb)* 2019;29:020703.
4. Vuljanić D, Dojder A, Špoljarić V, Saračević A, Dukić L, Leniček-Krleža J et al. Analytical verification of 12 most commonly used urine dipsticks in Croatia: comparability, repeatability and accuracy. *Biochem Med (Zagreb)* 2019;29:010708.
5. Saracevic A, Dukic L, Juricic G, Milevoj Kopcinovic L, Mirosevic G, Simundic AM. Various glycolysis inhibitor-containing tubes for glucose measurement cannot be used interchangeably due to clinically unacceptable biases between them. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:236-241.
6. Juricic G, Saracevic A, Kopcinovic LM, Bakliza A, Simundic AM. The evidence for clinically significant bias in plasma glucose between liquid and lyophilized citrate buffer additive. *Clin Biochem* 2016;49:1402-1405.
7. Juricic G, Bakliza A, Saracevic A, Kopcinovic LM, Dobrijevic S, Drmic S, Simundic AM. Glucose is stable during prolonged storage in un-centrifuged Greiner tubes with liquid citrate buffer, but not in serum and NaF/KOx tubes. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:411-8.
8. Juricic G, Milevoj Kopcinovic L, Saracevic A, Bakliza A, Simundic AM. Liquid citrate acidification introduces significant glucose bias and leads to misclassification of patients with diabetes. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:363-71.
9. Dukic K, Zoric M, Pozaic P, Starcic J, Culjak M, Saracevic A, Miler M. How compliant are technicians with universal safety measures in medical laboratories in Croatia? - A pilot study. *Biochem Med* 2015;25:386-92.
10. Saracevic A, Nikolac N, Simundic AM. The evaluation and comparison of consecutive high speed centrifugation and LipoClear® reagent for lipemia removal. *Clin Biochem* 2014;47:309-14.

11. Saracevic A, Simundic AM, Dukic L. The stability of ethanol in unstoppered tubes. *Clin Biochem* 2014;47:92-5.
12. Saracevic A, Simundic AM, Celap I, Luzanic V. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism genotyping error: the cause and a possible solution to the problem. *Mol Biol Rep* 2013;40:4459-63.
13. Nikolac N, Simundic AM, Saracevic A, Katalinic D. ABCC8 polymorphisms are associated with triglyceride concentration in type 2 diabetics on sulfonylurea therapy. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012;16:924-30.
14. Saracevic A, Nikolac N, Reljic A, Simundic AM. Insulin receptor H1085H C>T and insulin receptor substrate 1 G972R polymorphisms and prostate cancer risk: a pilot study. *Genet Test Mol Biomarkers* 2011;15:127-31.
15. Nikolac N, Simundic AM, Katalinic D, Topic E, Cipak A, Zjadic Rotkvic V. Metabolic control in type 2 diabetes is associated with sulfonylurea receptor-1 (SUR-1) but not with KCNJ11 polymorphisms. *Arch Med Res* 2009;40:387-92.
16. Simundic AM, Nikolac N, Miler M, Cipak A, Topic E. Efficiency of test report delivery to the requesting physician in an outpatient setting: an observational study. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:1063-6.
17. Cipak A, Stanic P, Duric K, Serdar T, Suchanek E. Sperm morphology assessment by WHO and strict criteria: method comparison and interobserver agreement. *Biochem Med* 2009;19:87-94.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Doktorska disertacija

BIOKEMIJSKI POKAZATELJI SISTEMSKOG UPALNOG ODGOVORA, STRESA I SRČANE NEKROZE U KARDIOKIRURŠKIH BOLESNIKA

Andrea Saračević

Sažetak: Ciljevi istraživanja bili su ispitati promjenu sistemskog upalnog odgovora, biokemijskih i hematoloških parametara te biljega stresa i srčane nekroze u periodu do 5 dana nakon operativnog zahvata aortokoronarnog premoštenja sa i bez izvantjelesnog krvotoka (ITK) i zamjene aortalnog zaliska; povezanost biljega sistemskog upalnog odgovora sa biljezima stresa i srčane nekroze; te može li koncentracija ili intenzitet promjene pojedinih biljega tijekom perioperativnog perioda predvidjeti ishod bolesnika i nastanak komplikacija. U istraživanje je uključeno 90 ispitanika, podijeljenih u 3 skupine po 30 ispitanika - revaskularizacija miokarda sa i bez upotrebe ITK te zamjena aortalnog zaliska. Svim ispitanicima su određivani biokemijski, hematološki biljezi te biljezi upale, stresa i srčane nekroze u 5 točaka.

Kardiokirurški postupci uzrokovali su porast aktivnosti CK i izoezima CK-MB, koncentracije CRP-a, kortizola, hsTnT, IL-6, IL-10, rezistina, MCP-1, broja leukocita i postotka granulocita, te pad koncentracije albumina, mokraćne kiseline, broja eritrocita, koncentracije hemoglobina, vrijednosti MCV-a i pH u sve tri ispitivane skupine. Pronađena je slaba korelacija između IL-6 s hsTnT. Razlika u koncentraciji leptina i rezistina prije i nakon operativnog zahvata te razlika rezistina na kraju i 24 sata nakon operacije pokazao značajnu ulogu u predviđanju potreba za transfuzijom. Razlika u koncentracijama rezistina prije i nakon operativnog zahvata te i kortizola neposredno nakon i 24 sata poslije operacije mogu doprinijeti u predviđanju postoperativne količine izgubljene krvi. Od biokemijskih biljega aktivnost CK, broj leukocita, pH vrijednost i koncentracije ioniziranog kalcija u pojedinim točkama mjerenjasu ukazivale na duljinu hospitalizacije, boravka u jedinici intenzivne skrbi i mehaničke ventilacije te gubitak krvi.

Kardiokirurški zahvati uzrokuju snažnu reakciju organizma te oslobađanje upalnih biljega te biljega stresa i srčane nekroze u cirkulaciju. Od upalnih biljega samo je IL-6 korelirao s jačinom srčane nekroze. Koncentracije pojedinih biokemijskih biljega te promjene u koncentracijama leptina, rezistina i kortizola mogu predvidjeti ishode bolesnika podvrgnutih kardiokirurškom zahvatu.

Rad sadrži: 107 stranica; 13 slika; 16 tablica; 106 literaturnih navoda; izvornik je na hrvatskom jeziku

Ključne riječi: operativni zahvat aortokoronarnog premoštenja, operativni zahvat aortalnog zaliska, upala, stres, ishemija miokarda

Mentor: prof. dr. sc. Ana-Maria Šimundić

Ocjenjivači: prof. dr. Sc. József Petrik
prof. dr. sc. Dunja Rogić
prof. dr. sc. Željko Sutlić

Rad je prihvaćen: 16. studenog 2021.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Doctoral dissertation

BIOCHEMICAL MARKERS OF SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE, STRESS AND CARDIAC NECROSIS IN PATIENTS UNDERGOING CARDIAC SURGERY

Andrea Saračević

Abstract: The aims of the study were to examine the change in the systemic inflammatory response, biochemical, hematological parameters, stress and cardiac markers in the period up to 5 days after coronary artery bypass graft surgery using on-pump and off-pump technique and aortic valve replacement surgery; the association of inflammatory markers with markers of stress and cardiac necrosis; and whether concentration or the change in concentration certain markers during the perioperative period can predict patient outcome and occurrence of complications.

The study included 90 subjects, divided into 3 groups, 30 participants each – on-pump and off-pump coronary bypass surgery and aortic valve replacement. The following parameters were measured: complete blood count, CRP, CK, CK-MB, albumin, glucose, lactate, uric acid, acid-base status, ionized calcium, IL-6, IL-10, leptin, resistin, monocyte chemotactic protein - 1 (MCP-1), cortisol and troponin T (hsTnT) at 5 points.

Cardiac surgery caused an increase in CK and CK-MB isoenzyme activity, CRP, cortisol and hsTnT, IL-6, IL-10, resistin and MCP-1 concentration, and leukocytes and granulocytes count. On the other hand, surgery caused a decrease in albumin, uric acid, hemoglobin concentration erythrocyte count, MCV and pH values in all three study groups. A weak correlation was found between IL-6 with hsTnT. The difference in leptin and resistin concentrations before and after surgery and the difference in resistin at the end and 24 hours after surgery significantly predicted transfusion needs. The difference between resistin before and after surgery, together with the difference in cortisol at the end and 24 hours after surgery predicted the amount of blood loss. CK activity, leukocyte count, pH and ionized calcium concentration in different time points significantly predicted hospitalization, intensive care and mechanical ventilation duration as well as blood loss.

Cardiac surgery causes a strong response and a consequential release of inflammatory, stress and cardiac necrosis markers into the circulation. Interleukin 6 correlated weakly with cardiac necrosis. Concentration of certain biochemical markers as well as changes in leptin, resistin and cortisol concentrations predicted patients' outcome.

Dissertation includes: 107 pages, 13 figures, 16 tables, 106 references, original in Croatian

Keywords: Coronary artery bypass surgery, heart valve surgery, inflammation, stress, myocardial ischemia

Supervisor: Professor Ana-Maria Šimundić, Ph.D.

Reviewers: Professor József Petrik, Ph.D.

Professor Dunja Rogić, Ph.D.

Professor Željko Sutlić, Ph.D.

Dissertation accepted: 16th November 2021