POVEZANOST SERUMSKE KONCENTRACIJE VITAMINA D I AKUTNOG KORONARNOG SINDROMA U BRODSKO-POSAVSKOJ ŽUPANIJI

Knežević Praveček, Marijana

Doctoral thesis / Disertacija

2017

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:684896

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Marijana Knežević Praveček

POVEZANOST SERUMSKE KONCENTRACIJE VITAMINA D I AKUTNOG KORONARNOG SINDROMA U BRODSKO-POSAVSKOJ ŽUPANIJI

Disertacija

Osijek, 2016.

Mentor: doc. dr. sc. Blaženka Miškić, spec. interne medicine subspecijalist endokrinolog

Disertacija ima 76 stranicu.

All individuals with acute coronary syndrome in 2012 were followed until 10 July 2015 (median 36 months).

Hvala, Toniju i djeci na ljubavi, razumijevanju i strpljenju svih ovih godina.

Zahvala roditeljima na potpori, brizi i ljubavi.

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Blaženki Miškić na ideji, vođenju i podršci.

Posebna zahvala ide onima bez kojih izrada ovog istraživanja ne bi bila moguća; doc. dr. sc. Irzalu Hadžibegoviću i ostalim djelatnicima Odjela kardiologije, gospođi Branki Maljković, mag. med. biokemije djelatnici iz laboratorija Opće bolnice „Dr. J. Benčević“.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Općenito o aterosklerozi 2
1.2. Imunološki mehanizmi aterogeneze 3
1.3. Genetika ateroskleroze 4
1.4. Ateroskleroza koronarnih arterija 5
1.5. Akutni koronarni sindrom 6
1.6. Vitamin D 9
1.6.1. Metabolizam vitamina D 9
1.6.2. Biološki učinci 1,25-dihidroksivitamina D 13
1.6.3. Receptor vitamina D posreduje u prirođenoj imunosti i modulira stečeni imunološki odgovor 14
1.6.4. Povezanost hipovitaminoze D i akutne koronarne bolesti 15
1.6.5. Dosadašnji radovi o vitaminu D u Republici Hrvatskoj 16
2. HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA 17
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA 18
4. ISPITANICI I METODE 19
4.1. Ustroj studije 19
4.2. Ispitanici 19
4.2.1. Eksperimentalna skupina 19
4.2.2. Kontrolna skupina 20
4.2.3. Isključni kriteriji 20
4.3. Metode 21
4.3.1. Prognostički parametri 22
4.3.2. Statistička analiza 22
5. REZULTATI 24
5.1. Osobine ispitivanih skupina 24
5.2. Razlike u koncentraciji vitamina D između eksperimentalne i kontrolne skupine 26
5.3. Koncentracija vitamina D među promatranim skupinama ispitanika ovisno o relevantnim kliničkim značajkama 31
5.4. Povezanost serumske koncentracije vitamina D u bolesnika s AKS-om i prognoze tijekom 36 mjeseci praćenja 35
6. RASPRAVA 37

7. ZAKLJUČCI 47
8. SAŽETAK 51
9. SUMMARY 50
10. LITERATURA 52
11. ŽIVOTOPIS 63
12. PRILOZI 65
12.1. Informirani pristanak 65

Popis kratica

$1,25(OH)_2D_3$	1,25-dihidroksivitamin D_3 = kalcitriol
7-DHC	7-dehidrokolesterol (od engl. "7-dehydrocholesterol") = provitamin D_3
$25(OH)D_3$	25-hidroksivitamin D_3 = kalcidiol = kalcifediol
AKS	akutni koronarni sindrom BMI - indeks tjelesne mase (od engl. "body mass index")
CABG	aortokoronarno premoštenje (od engl. "coronary artery bypass graft")
CD	klaster diferencijacije (od engl. "cluster of differentiation")
DBP	vitamin D vežući protein (od engl. "vitamin D binding protein")
DKB	dvožilna koronarna bolest
HDL	lipoprotein velike gustoće (od engl. "high-density lipoprotein")
HLA	humani leukocitni antigen (od engl. "human leukocyte antigen")
hs-CRP	visokosenzitivni C-reaktivni protein (od engl. "high-sensitivity C-reactive protein")
IFNγ	interferon gama
IL	Interleukin
IFN	Interferon
IU	internacionalna jedinica (od engl. "international unit")
JKB	jednožilna koronarna bolest
KVB	kardiovaskularna bolest
LDL	lipoprotein male gustoće (od engl. "low-density lipoprotein")
MACE	veliki neželjeni kardijalni događaj (od engl. "major adverse cardiac event")
MMP	metaloproteinaza matriksa (od engl. "matrix metalloproteinase")
NSTEMI	infarkt miokarda bez ST elevacije (od engl. "non-ST-elevation myocardial infarction")
OMT	optimalna farmakološka terapija (od engl. "optimal medical therapy")
PCI	perkutana koronarna intervencija (od engl. "percutaneous coronary intervention")
PTH	paratireoidni hormon
RAS	renin-angiotenzinski sustav
RXR	retinoidni X receptor
STEMI	infarkt miokarda s ST elevacijom (od engl. "ST-elevation myocardial

	infarction“)
TIMP	tkivni inhibitor metaloproteinaze (od engl. “tissue inhibitor of metalloproteinase“)
TLR	toll-like receptor (od engl. “toll-like receptor“)
TNF-α	tumor nekrotizirajući faktor alfa (od engl. “tumor necrosis factor alpha“)
UA	nestabilna angina (od engl. “unstable angina)
UV zračenje	ultravioletno zračenje
VDR	receptor vitamina D (od engl. “vitamin D receptor“)
vitamin D_2	Ergokalciferol
vitamin D_3	Kolekalciferol
VKB	višežilna koronarna bolest

Popis tablica

1.6.1. Kategorije statusa vitamina D prema serumskim koncentracijama 25(OH)D-a 13
5.1.1. Demografske i kliničke značajke ispitanika..... 26
5.1.2. Udio bolesnika sa STEMI-jem i NSTEMI/U 27
5.1.3. Raspodjela bolesnika ovisno o težini koronarne bolesti 27
5.1.4. Raspodjela bolesnika ovisno o načinu liječenja 28
5.2.1. Usporedba vrijednosti biokemijskih parametara između ispitanika 29
5.2.2. *Post-hoc* analiza višestruke usporedbe vrijednosti vitamina D između skupina bolesnika s AKS-om i različitom težinom koronarne bolesti 32
5.3.1. Korelacije kontinuiranih varijabli i koncentracije vitamina D u serumu bolesnika s AKS-om i kontrolne skupine ispitanika 36

Popis slika

1.5.1. Shematski prikaz patofiziologije AKS-a..... 8
1.6.1. Sinteza i metabolizam vitamina D 12
5.2.1. Razlike u udjelima suficijencije, insuficijencije i deficita vitamina D između bolesnika s AKS-om i kontrolne skupine..... 30
5.2.2. Razlike u koncentracijama vitamina D između bolesnika sa STEMI-jem i bolesnika s NSTEMI/UA..... 31
5.2.3. Razlike u udjelima suficijencije, insuficijencije i deficita vitamina D između bolesnika sa STEMI-jem i bolesnika s NSTEMI/UA..... 31
5.2.4. Koncentracije vitamina D ovisno o težini koronarne bolesti procijenjene koronarografijom..... 32
5.3.1. Razlike u koncentracijama vitamina D u eksperimentalnoj odnosno kontrolnoj skupini ovisno o spolu 33
5.3.2. Razlike u koncentracijama vitamina D u eksperimentalnoj odnosno kontrolnoj skupini ovisno o pušenju..... 34
5.3.3. Razlike u koncentracijama vitamina D u eksperimentalnoj odnosno kontrolnoj skupini ovisno o šećernoj bolesti..... 35
5.4.1. Razlike u koncentraciji vitamina D između bolesnika s preboljenim AKS-om koji su u razdoblju praćenja preboljeli, i onih koji nisu preboljeli veliki nepoželjni kardijalni događaj..... 38
5.4.2. Preživljenje bez velikih nepoželjnih kardijalnih događaja u bolesnika s preboljelim AKS-om, s obzirom na status vitamina D..... 39

1. UVOD

Kardiovaskularne bolesti (KVB) vodeći su uzrok smrti u razvijenim zemljama svijeta, uz značajan udjel u prijevremenom umiranju, morbiditetu i onesposobljavanju stanovništva za rad. One su važan javnozdravstveni problem kako u svijetu tako i u Republici Hrvatskoj.

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, one godišnje dovode do smrti 17,3 milijuna ljudi diljem svijeta, uzrokujući 30% sveukupne smrtnosti. Procjenjuje se da će do 2030. godine 23,6 milijuna ljudi umrijeti zbog KVB. U Republici Hrvatskoj KVB su također vodeći uzrok smrti. U ukupnom mortalitetu 2014. godine sudjelovale su s udjelom od 47,4% (24,112 osoba). Navedeno je zapravo dobar pokazatelj, jer predstavlja pad udjela u odnosu na dvije prethodne godine, odnosno tri se godine zaredom bilježi udio manji od 50%, a to je u skladu s pozitivnim trendom smanjenja smrtnosti od ovih bolesti kroz zadnjih desetak godina u Republici Hrvatskoj. Analiza prema spolu pokazuje da su KVB u oba spola vodeći uzrok smrti, s udjelom od 53,3% u žena i 41,3% u muškaraca. Vodeća podskupina KVB je koronarna bolest s udjelom od 21,38% u ukupnom mortalitetu. Koronarna bolest obuhvaća akutnu i kroničnu ishemijsku bolest srca (1). U podlozi oba oblika koronarne bolesti je najčešće ateroskleroza. U akutnom obliku koronarne bolesti zbog disfunkcije endotela dolazi do rupture aterosklerotskog plaka, uz superpoziciju tromba i ograničavanje protoka koronarnim arterijama s posljedičnom ishemijom srčanog mišića (2). Mehanizam akutnog koronarnog sindroma (AKS) nije u potpunosti razjašnjen. Do sad je prihvaćeno da do razvoja koronarne bolesti dolazi zbog prisutnosti sljedećih čimbenika rizika: pušenje, hipertenzija, šećerna bolest i hiperlipidemija. Tjelesna neaktivnost, pretilost, nepravilna prehrana i niski socio-ekonomski status smatraju se predisponirajućim uvjetima za koronarnu bolest koji utječu posredno djelujući na već rizične čimbenike koji izravno utječu na patogenezu ateroskleroze. Neki drugi čimbenici, kao što su povišeni protrombotički čimbenici, biljezi infekcije i upale, povišeni homocistein, povišeni lipoproteini, kao i neki psihološki čimbenici također pokazuju povezanost s koronarnom bolesti (3). Ipak, etiologija AKS-a još uvijek nije do kraja istražena (4). Postoji nekoliko paradoksa u patogenezi KVB koje se ne mogu do kraja objasniti. Francuski paradoks ukazuje na vjerojatnu prisutnost do sad neprepoznatih čimbenika rizika budući da je u Francuskoj unatoč visokom unosu zasićenih masnih kiselina smrtnost od KVB relativno niska (5). Talijanski paradoks ukazuje na to da je pušenje

neizravni, a ne izravni čimbenik rizika za razvoj koronarne bolesti, budući da je prevalencija pušenja visoka, a stopa smrtnosti od koronarne bolesti niska (6). Paradoks sjeverne Irske očituje se u uočenim izrazito velikim razlikama stopa smrtnosti od koronarne bolesti kod muškaraca u dobi od 55 do 64 godine. Oni u Belfastu, sjeverna Irska, imali su 4,3 puta veću stopu smrtnosti od koronarne bolesti u odnosu na one u Toulouseu (Francuska), unatoč vrlo sličnim prehrambenim navikama (7). Albanski paradoks ukazuje na to da populacija niskog socioekonomskog statusa ima nisku stopu smrtnosti od KVB (8). Indijski paradoks upućuje na to da je stopa smrtnosti od KVB u urbanim populacijama viša u usporedbi s ruralnim stanovništvom, unatoč vrlo niskom unosu masnoća (9). Svi ovi paradoksi podržavaju pretpostavku da su jedan ili više važnih čimbenika u etiologiji KVB još uvijek nepoznati.

U svakodnevnom kliničkom radu vidimo da kod nekih bolesnika s AKS klasični čimbenici rizika izostaju, dok neki drugi bolesnici s više čimbenika rizika ne razvijaju AKS. Genetske varijacije i promjenjivi čimbenici okoliša kao što su infekcije, autoimune reakcije ili nedostatak vitamina D čimbenici su koji bi mogli pridonijeti razumijevanju tih slučajeva (10).

Nedostatak vitamina D (hipovitaminoza D) zabilježen je u cijelom svijetu. Prevalencija hipovitaminoze D u Sjedinjenim Američkim Državama iznosi oko 40% u odraslih muškaraca i oko 50% u odraslih žena (11). Procjene statusa vitamina D u različitim europskim zemljama pokazuju velike razlike. Prema objavljenim radovima prevalencija hipovitaminoze D kreće se između 2 i 30% u odraslih Europljana, a taj broj prema nekim studijama raste do 75% u institucionaliziranih starijih osoba (12). Navedeni podaci pokazuju da je hipovitaminoza D važan javnozdravstveni problem. Do sad u Republici Hrvatskoj nije bilo dostupnih podataka o hipovitaminozi D u kardiovaskularnih bolesnika. Ovim radom želimo ukazati na povezanost niske serumske razine vitamina D i akutne koronarne bolesti.

1.1.Općenito o aterosklerozi

Ateroskleroza je bolest kod koje dolazi do lokalnih zadebljanja stjenke arterija koje se nazivaju ateromi ili aterosklerotski plakovi. Ateromi se sastoje od meke, kašaste jezgre građene od lipida, raspadnutih i upalnih stanica, a prekriva ih „kapa“, sastavljena od glatkog mišićja, veziva, i često depozita kalcija (distrofična kalcifikacija) (13,14).

Danas je prihvaćeno da je aterogeneza upalni proces u kojeg su uključeni različiti tipovi stanica i poremećaj metabolizma lipida, a koji je pod utjecajem do kraja neutvrđenih genetskih čimbenika i tzv. klasičnih čimbenika rizika (kao što su starenje, pušenje, šećerna bolest, hipertenzija, hiperlipidemija i pozitivna obiteljska anamneza za ranu kardiovaskularnu smrt u obitelji (infarkt miokarda prije 55. godine života u muškaraca i prije 65. godine u žena). Iako je opće prihvaćeno da su u svim fazama progresije ateroskleroze uključene upalne reakcije, još uvijek se raspravlja o tome što je inicijalni korak. Postoje klasične teorije koje tumače inicijalne procese u aterogenezi: teorija tkivne reakcije na oštećenje i teorija ateriranog lipoproteina (15). U prvom slučaju endotel oštećen noksama kao što su hipertenzija, hiperlipidemija, dijabetes i pušenje, izlučuje medijatore i eksprimira adhezijske molekule koje omogućavaju adheziju monocita. Njihovom transformacijom nastaju makrofazi koji fagocitiraju lipidne čestice, pretvaraju se u pjenaste stanice (makrofagi s akumuliranim lipidima) i formiraju masne pruge na stjenkama arterija. Navedene masne pruge predstavljaju reverzibilni, rani oblik ateroskleroze (prisutan već u djece i adolescenata). Imunološki mehanizmi imaju ključnu ulogu u ranim fazama ateroskleroze. Migracijom glatkih mišićnih stanica iz medije masne se pruge pretvaraju u aterosklerotski plak. Prema drugoj teoriji, okidači su lipoproteini niske gustoće u oksidiranom obliku (alterirane LDL čestice – od engl. “low density lipoprotein“) koji u subendotelnom prostoru djeluju kao kemoreaktanti. Privučeni monociti dijapedezom prodiru u subintimalni prostor, započinju fagocitozu te se transformiraju u pjenaste stanice. Iste receptore za alterirani LDL (tzv. “scavenger“ LDL receptor; od engl. “scavenge“ = čistiti), kojima ga vežu prije fagocitoze, imaju i endotelne i glatke mišićne stanice pa je mehanizam ateroskleroze isti (16).

1.2. Imunološki mehanizmi aterogeneze

Ključnu ulogu u različitim stadijima aterosklerotskog procesa ima bilateralni odnos urođene i stečene imunosti. Nakon stresnog podražaja promptno se mobiliziraju komponente urođene imunosti kao što su fagocitoza, sustav komplementa i proinflamatorni citokini. Tijekom progresije aterosklerotskog procesa aterogenezu snažno modulira stečena imunost posredovana T-limfocitima, antitijelima i imunoregulatornim citokinima (17).

Uloga imunološkog sustava osobito je važna u stvaranju nestabilnog plaka. Intenzitet imunološke reakcije od ključne je važnosti, jer dovodi do transformacije stabilnog plaka u nestabilni, te time uvjetuje prijelaz latentne vaskularne bolesti u manifestnu. Nestabilni plak u odnosu na stabilni sadrži veći broj aktiviranih makrofaga, koji su prvenstveno smješteni na periferiji plaka. Ovdje pod utjecajem metaloproteinaza, IL-6 i proteolitičkih enzima, dolazi do stanjivanja fibrozne kape i posljedične ulceracije ateroma, tromboze i embolizacije. Nestabilni plak sadržava i veći broj aktiviranih T-limfocita koji izlučuju IFNγ -snažan inhibitor sinteze kolagena, što doprinosi navedenom procesu (18).

U populaciji T-limfocita prevladavaju CD4+ stanice (pomoćnički T-limfociti) koje na svojoj površini izražavaju HLA II molekule (humani leukocitni antigen) zajedno s receptorima za IL-2. One dominantno izlučuju TNF-α (tumor nekrotizirajući faktor alfa, od engl. "tumor necrosis factor alpha") i IFN-γ, a samo male količine IL-4. U populaciji CD4+ limfocita, subpopulacija regulatornih T-limfocita važna je u inhibiciji formiranja plaka, što je posredovano signalnom molekulom TGF-β (transformirajući faktor rasta beta, od eng. "transforming growth factor beta"). B-limfociti, čija je uloga u aterogenezi manje značajna, nalaze se uglavnom u masnim prugama i vanjskim slojevima krvožilne stjenke, za razliku od dendritičkih stanica koje se nalaze u subendotelnom prostoru (19). Depoziti imunoglobulina i komplementa, te pojačana ekspresija receptora za C3b komponentu komplementa u aterosklerotski promijenjenim arterijama još su neki od dokaza o postojanju imunoloških procesa u aterosklerotskom plaku. Navedene promjene nisu pronađene u krvnim žilama koje nisu zahvaćene aterosklerotskim procesom.

1.3. Genetika ateroskleroze

Ateroskleroza je proces koji je, uz mnoge rizične čimbenike okoliša, određen i genskim nasljeđem. Međutim, kompleksna etiologija ateroskleroze kao poligenske bolesti, ne dozvoljava jednoznačno povezivanje genskih čimbenika rizika s njenim razvojem (20). Najznačajniji geni za koje se pretpostavlja da predstavljaju rizik za razvoj ateroskleroze su geni uključeni u metabolizam lipida, regulaciju tlaka, metabolizam homocisteina, hemostazu, adheziju leukocita, lučenje upalnih molekula te metaloproteinaza matriksa (MMP, od engl. "matrix metalloproteinase"), odgovornih za

vaskularno remodeliranje. Najveći broj istraživanja molekularne osnove aterogeneze i disfunkcije endotela tijekom protekla dva desetljeća vezan je uz gene kandidate uključene u poremećaj metabolizma lipoproteina, regulacije tlaka ili hemostaze, dok se danas istraživanja sve više usmjeravaju prema genima MMP-a, renin-angiotenzinskog sustava (RAS) odgovornog za regulaciju tlaka, adhezijskih molekula te interleukina, koji su posredno ili neposredno povezani s nastankom aterosklerotskih lezija (21).

Genski polimorfizmi mogu se koristiti s ciljem primarne prevencije neželjenih kardiovaskularnih događaja. U tom smislu se kod osoba s aterosklerozom i klinički definiranom razinom rizika, a bez prethodnih velikih vaskularnih događaja mogu identificirati određeni genski čimbenici rizika na temelju kojih se zatim identificiraju i stratificiraju visoko rizični bolesnici s ciljem agresivnije modifikacije rizičnog profila i primarne prevencije neželjenih kardiovaskularnih događaja (22). S druge strane, ako je riječ o osobama s preboljenim kardiovaskularnim događajima, analizom genskih polimorfizama mogu se, s ciljem sekundarne prevencije, identificirati osobe koje profitiraju od agresivnijeg načina liječenja klasičnih čimbenika rizika (u prvom redu arterijske hipertenzije, hiperlipidemije i šećerne bolesti) te definirati razinu takve modifikacije rizičnog profila.

1.4. Ateroskleroza koronarnih arterija

Ateroskleroza je kronična progresivna bolest povezana sa starenjem, te kod mnogih ljudi predstavlja stanje koje ne izaziva nikakve simptome ili kliničke manifestacije. Mnogi bolesnici visoke životne dobi umiru od drugih nepovezanih bolesti s uznapredovalim stupnjem ateroskleroze koja nikad nije bila značajno klinički izražena. S druge strane, mnogi bolesnici doživjeli su životno ugrožavajuće akutne kliničke manifestacije ateroskleroze dok je ona bila još u samom početku svog razvoja. Kako objasniti ovakve različitosti u kliničkom spektru ateroskleroze? Remodelacija arterija tijekom formiranja aterosklerotskog plaka značajna je odlika progresije arterijske lezije koja bi mogla dati odgovor na to pitanje. Naime, arterije zahvaćene aterosklerozom u početnim fazama razvoja ateroma pokazuju sklonost povećanju vanjskog promjera, što je opće poznato kao „kompenzacijsko proširenje“. Rastući aterom stoga ne suzuje značajno lumen arterije sve dok ne dosegne oko 40% površine koju tvori interna elastična lamina. Proces dosezanja tolike površine je dugotrajan, tako da većina ateroma tijekom svog životnog vijeka neće značajno sužavati lumen arterije

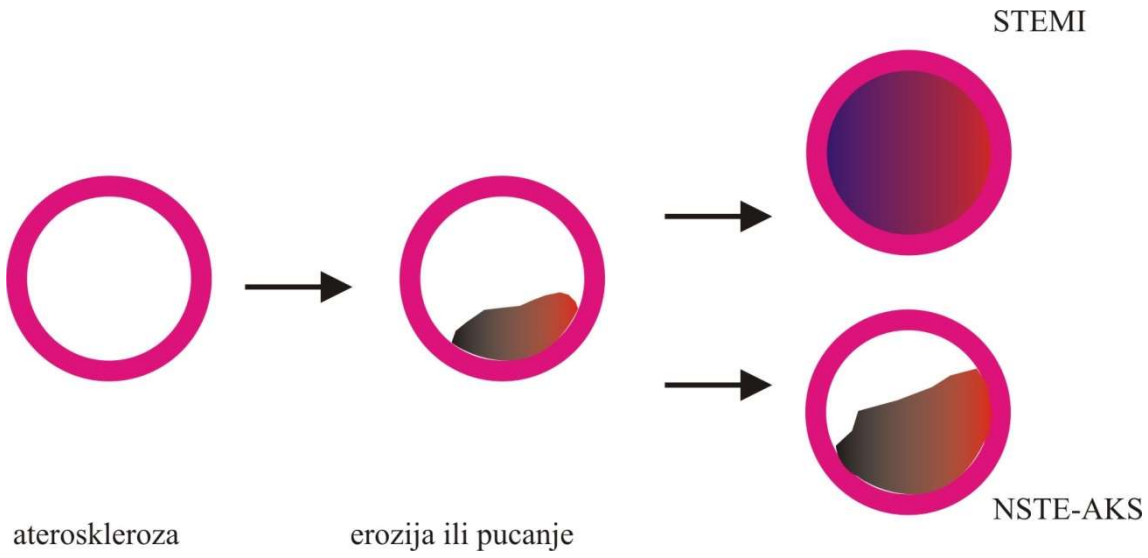
ni uzrokovati značajno smanjenje perfuzije pripadajućeg tkiva. Suženja koja remete normalni protok krvi i perfuziju tkiva nastaju vrlo kasno u životu ateroma. Tako u slučaju koronarnih arterija sporo progredirajući ateromi postupno dovode do razvoja ishemije srčanog mišića, poznate kao stabilna angina pektoris. U takvim situacijama čak i postupni razvoj potpune opstrukcije koronarne arterije ne dovodi do srčanog infarkta zbog stvaranja kolateralne cirkulacije u miokardu, koja umanjuje učinke potpunog prestanka perfuzije.

S druge strane, mikroanatomske analize aterosklerotskih plakova koji ne izazivaju hemodinamski značajnu stenozu, a skloni su nestabilnosti i rupturi, otkrivaju nekoliko specifičnih odlika. Plakovi skloni rupturi imaju tanke fibrozne kape, relativno veliki udio aktiviranih lipoproteina te veliki udio pjenastih stanica. Morfometrijskim studijama lezija koronarnih arterija odgovornih za nastanak rupture plaka i tromboze koronarne arterije otkriveno je kako makrofagi i T-limfociti dominiraju na mjestima rupture i da su vrlo aktivni u proizvodnji čimbenika upale poput TNF-α i IL-1. Ti proupalni citokini između ostalog mogu dovesti i do povećane ekspresije gena odgovornih za sintezu proteolitičkih enzima poput MMP-a, koji degradiraju ekstracelularni matriks i stanjuju fibroznu kapu plaka. Takva destabilizacija plaka u koronarnoj arteriji može dovesti do rupture plaka koja se onda klinički manifestira kao AKS (23).

1.5. Akutni koronarni sindrom

Akutni koronarni sindrom jedan je od mogućih kliničkih ishoda ateroskleroze koronarnih arterija. Većina AKS u bolesnika s aterosklerozom koronarnih arterija nastaje zbog pucanja ili erozije vezivne kape plaka. Navedeno je shematski prikazani na slici 1.1.Upala značajno utječe na pucanje plaka, jer je povezana s lučenjem MMP-a i s oksidacijskim stresom. Ona nije važna samo u početku procesa aterogeneze već i za stvaranje *vasa vasorum*, žilica koje snabdijevaju plak krvlju i koje mogu dovesti do krvarenja unutar plaka. Također, tkivni čimbenici iz upalnih stanica ključni su za nastanak tromba na plaku (24). Stoga su upala, aterogeneza i trombogeneza međuovisna zbivanja i sva tri procesa doprinose kliničkim posljedicama bolesti. U rijetkim slučajevima AKS ima i ne aterosklerotsku etiologiju kao što su arteritis, trauma,

disekcija, tromboembolizam, kongenitalne anomalije, predoziranje kokainom ili komplikacija kardijalne kateterizacije (25).



Slika 1.5.1. Shematski prikaz patofiziologije AKS-a.

Pucanje aterosklerotskog plaka u koronarnoj arteriji dovodi do akutne i potpune okluzije koronarne arterije svježe formiranim ugruškom sastavljenim od agregiranih trombocita i fibrinske mreže. U tom slučaju nastaje STEMI (infarkt miokarda s ST elevacijom [od engl. "ST-elevation myocardial infarction"]). Kad rupturirani plak dovodi do stvaranje ugruška koji značajno remeti protok krvi, a spontani fibrinolitički procesi dovedu do parcijalne rekanalizacije žile, nastaje NSTEMI/UA (infarkt miokarda bez ST elevacije [od engl. "non-ST-elevation myocardial infarction"] i nestabilna angina [od engl. "unstable angina"]). U tom je slučaju ugrušak bogat agregiranim trombocitima, ali ne i fibrinom.

Akutni koronarni sindrom obuhvaća tri klinička entiteta, a to su STEMI (transmuralni infarkt miokarda ili infarkt s Q-zupcem), NSTEMI (netransmuralni infarkt miokarda ili infarkt bez Q-zupca), te UA (protrahirana bol u prsima ishemijske etiologije, bez nekroze kardiomiocita) (26,27).

Etiologija i patogeneza sva tri entiteta akutnog koronarnog sindroma gotovo je jednaka, ali njihovo međusobno razlikovanje važno je u kliničkoj praksi, zbog različitih strategija liječenja. U bolesnika sa STEMI-jem dolazi do akutne i potpune okluzije koronarne arterije svježe formiranim ugruškom sastavljenim od agregiranih trombocita i fibrinske mreže. Posljedično brzo dolazi do transmuralne ishemije dijela miokarda

kojeg krvlju opskrbljuje okludirana žila, što se na EKG zapisu očituje elevacijom ST-segmenta. Cilj je liječenja što brža restitucija protoka kroz koronarnu arteriju mehaničkim uklanjanjem ugruška perkutanom koronarnom intervencijom ili pak farmakološki „otapanjem“ fibrinskog dijela ugruška fibrinolitičkom terapijom (37). U bolesnika s NSTEMI-jem ili UA rupturirani plak također potpomaže stvaranje ugruška i remeti protok krvi, ali spontani fibrinolitički procesi dovode do parcijalne razgradnje ugruška, koji je bogat agregiranim trombocitima, a ne fibrinom. Temelj terapije su antitrombocitna odnosno antiagregacijska i antikoagulacijska terapija, uz pravovremenu perkutanu koronarnu intervenciju u svrhu potpune stabilizacije protoka (27).

Klinička prezentacija AKS-a razlikuje se u različitih skupina bolesnika. Tijekom rupture aterosklerotskog plaka zbog superpozicije tromba dolazi do opstrukcije lumena s posljedičnim smanjenjem protoka krvi koronarnom arterijom i nedostatnom dopremom kisika miokardu. Dok ruptura samog plaka ne dovodi simptoma, ishemija miokarda klinički se manifestira anginoznim bolovima. Vodeći i tipični simptom je tupa retrosternalna bol, koja se može širiti u lijevo ili desno rame, lijevu ili desnu nadlakticu, vrat ili donju čeljust. Navedeno širenje boli iz retrosternalne regije naziva se fenomenom prenesene boli, a nastaje zbog dolaska senzornih impulsa iz navedenih područja u zajednički dio kralježničke moždine. Rjeđe se bol može širiti i u epigastrij ili interskapularnu regiju, što komplicira prepoznavanje AKS, pogotovo ako pritom izostane retrosternalna bol. U klasičnom AKS-u bol prema definiciji traje duže od 20 minuta. Ona nastupa već nakon minimalne vježbe (uz koju se također i intenzivira), ili čak u mirovanju, a može biti praćena znakovima aktivacije autonomnog živčanog sustava (znojenje, mučnina, povraćanje itd.). Atipični simptomi češće su prisutni u žena, osoba starije životne dobi, bolesnika sa šećernom bolesti ili zatajenjem srca stupnja NYHA III (treći stupanj zatajenja srca prema američkoj klasifikaciji; od engl. “New York Heart Association“).

Razlike u dobi bolesnika, etničkoj i spolnoj pripadnosti, te socioekonomskom statusu utječu i na razlike u incidenciji, kliničkoj prezentaciji, liječenju i ishodu AKS. Primjerice, u žena se infarkt miokarda prosječno javlja deset godina kasnije nego u muškaraca, dok je rana smrtnost u odnosu na muškarce viša. Tako je u žena s AKS mlađih od 40 godina rizik rane kardiovaskularne smrti značajno veći nego u muškaraca iste životne dobi. Za razliku od toga, dugoročni mortalitet zbog AKS nešto je niži u osoba ženskog spola (28).

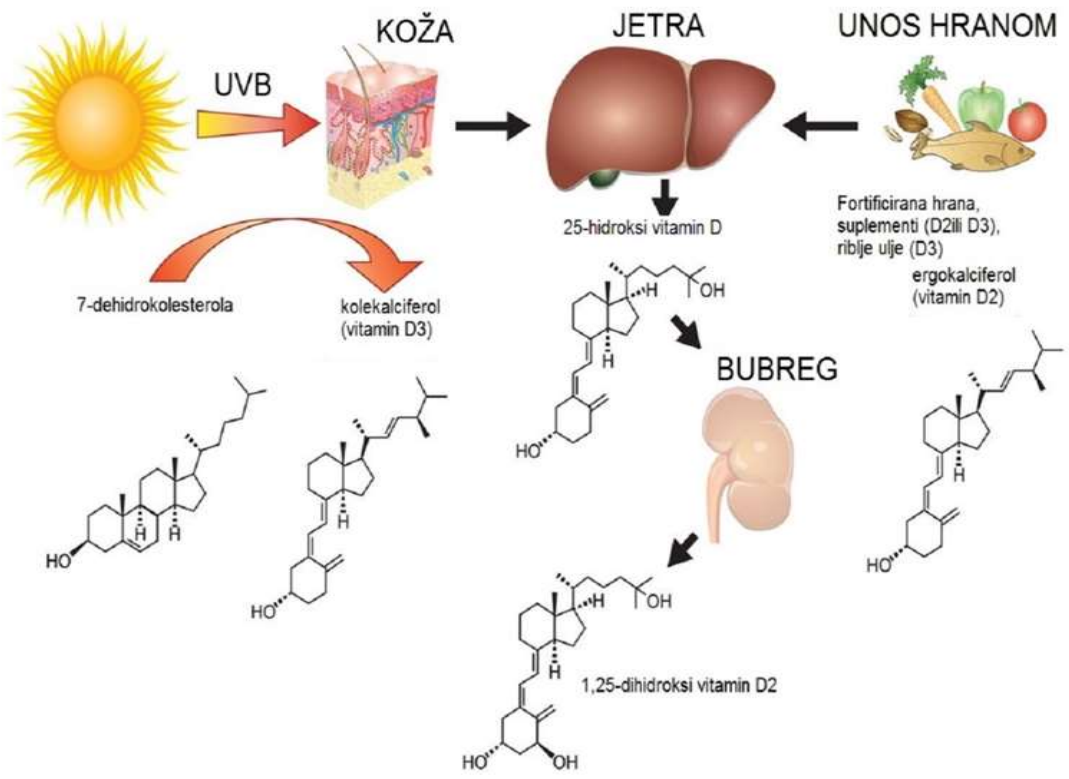
1.6. Vitamin D

Već su stari Grci poznavali blagotvorni učinak Sunca na zdravlje, a poznato je da se i sam Hipokrat izlagao Suncu. Prvi opisi kliničke slike rahitisa potječu iz 17. stoljeća, kad uzrok bolesti još nije bio poznat. Početkom 20. stoljeća kao antirahitična terapija preporuča se jetra bakalara, a spoznat je i ljekoviti učinak sunčanja, tj. izlaganja ultraljubičastom zračenju. Godine 1928. njemački je kemičar Adolf Windaus identificirao i sintetizirao kemijski spoj steroidne strukture koji predstavlja vitamin D, te je iste godine za svoja otkrića iz područja sterola i vitamina dobio Nobelovu nagradu za kemiju. Upotrebom biokemijskih testova konačno je dokazan nedostatak vitamina D kao uzrok rahitisa. Tako je spoznata njegova regulacijska uloga u homeostazi kalcija i metabolizmu kosti. Tijekom proteklih desetljeća, naše je znanje o metabolizmu vitamina D evoluiralo, a među važnim otkrićima valja spomenuti receptor vitamina D (VDR, od engl. "vitamin D receptor") i enzime koji aktiviraju vitamin D, koji se nalaze u raznim vrstama stanica, a ne samo u onima koje su uključene u homeostazu minerala i metabolizam kosti. Time je dokazana raznovrsnija uloga vitamina D nego što je to ranije prihvaćeno. Aktivacijom svih VDR-ova u različitim vrstama stanica ostvaruju se tzv. neklasični učinci vitamina D, koji uključuju modulaciju rasta i diferencijaciju tkiva i putem kojih vitamin D utječe na funkcije raznih stanica. Tako su otkrivene dodatne uloge vitamina D u regulaciji imunih odgovora, kardiovaskularnim procesima, te u prevenciji malignih bolesti (29,30). Istovremeno s porastom saznanja o neklasičnim učincima vitamina D i njihovoj važnosti za ljudsko zdravlje, u mnogim populacijama diljem svijeta zabrinjavajuća je visoka prevalencija insuficijencije vitamina D (31). Hipovitaminoza D se danas povezuje s povećanim rizikom od malignih bolesti, metaboličkih i kardiovaskularnih bolesti, kao i poremećaja imunološkog sustava, kao što su autoimune bolesti i visoke stope oboljelih od zaraznih bolesti (32-34).

1.6.1. Metabolizam vitamina D

Dva su osnovna oblika vitamina D: vitamin D_3 ili kolekalciferol i vitamin D_2 ili ergokalciferol. Također postoje dva osnovna izvora vitamina D: vitamin D može biti unesen u organizam hranom ili endogeno sintetiziran u koži pod utjecajem UV (ultravioletnog) zračenja. Biljke su izvor vitamina D_2, a masne ribe vitamina D_3. Iz hrane se vitamin D u tankom crijevu putem hilomikrona apsorbira u limfu, te potom

ulazi u cirkulaciju gdje se veže za vitamin D vežući protein (DBP, od engl. "vitamin D binding protein"). No glavni izvor vitamina D je endogena sinteza vitamina D_3 u koži koja opskrbljuje organizam s 80–90 % potrebne količine vitamina D. U dermisu pod utjecajem UV-B zraka valne duljine 290–315 nm fotokemijskom ne enzimskom reakcijom iz prekursora 7-dehidrokolesterola (7-DHC, od engl. "7-dehydrocholesterol", provitamin D_3) nastaje prekolekalciferol (previtamin D_3). Potom u koži termalnom izomerizacijom iz previtamina D_3 nastaje vitamin D_3 (kolekalciferol). Navedeno je prikazano na slici 1.6.1. Pedeset posto stvorenog previtamina D_3 izomerizira se termalnom reakcijom u vitamin D_3 u periodu od 3 dana. Jedan cm^2 kože pod djelovanjem UV-B zraka u optimalnim uvjetima stvara 160 IU (internacionalnih jedinica, od engl. "international unit") vitamina D dnevno. Vitamin D_3 stvoren u koži ulazi u cirkulaciju gdje se vezan za DBP transportira do jetre. Dio vitamina D_3 stvorenog u koži sekvestrira se i pohranjuje u masnom tkivu te time čini depo raspoloživ za kasniju uporabu. Oba oblika vitamina D (endogeni i egzogeni) biološki su neaktivni te se aktiviraju na isti način, hidroksilacijom u jetri i bubrezima (35). Prva hidroksilacija zbiva se u jetri, gdje se vitamin D_2 i vitamin D_3 na 25-om ugljikovom atomu pod djelovanjem mitohondrijskog enzima 25-hidroksilaze pretvaraju u 25(OH)D (kalcidiol) - glavni cirkulirajući oblik vitamina D. On odražava status vitamina D u organizmu (suficijenciju, insuficijenciju ili deficijenciju), jer ima duži biološki poluživot u plazmi (2-3 tjedna naspram 4 sata), i time veću koncentraciju od $1,25(OH)_2D$-a. Također, $1,25(OH)_2D$ ima puno izraženije fluktuacije koncentracije u plazmi. Serumska koncentracija 25(OH)D-a odražava vitamin D nastao sintezom u dermisu pod djelovanjem UV zračenja, kao i onaj koji je u organizam unijet hranom. Koncentracija 25(OH)D-a relevantna je i u kliničkom smislu, jer dobro korelira s pojavnošću sekundarnog hiperparatireoidizma, rahitisa i osteomalacije. Primjerice, vrijednosti 25(OH)D-a manje od 50 nmol/l uglavnom su udružene s povišenim vrijednostima paratireoidnog hormona (PTH), što odražava njihov recipročni odnos. Zato kad želimo utvrditi status vitamina D u organizmu, određujemo upravo koncentraciju 25(OH)D-a.



Slika 1.6.1. Sinteza i metabolizam vitamina D_3 (Preuzeto i modificirano Al Mheid I. European Heart Journal 2013)

Prema većini istraživanja, suficijentna koncentracija vitamina 25(OH)D_3 iznosi, oko 75nmol/l (30ng/ml), što je ujedno i najniža koncentracija 25(OH)D_3 dovoljna za supresiju porasta PTH, odnosno, za sprječavanje razvoja hiperparatireoidizma. Navedena je koncentracija 25(OH)D_3 također dostatna za postizanje učinkovite apsorpcije kalcija u cijevima, čime predstavlja preduvjet za zdravi razvoj skeleta i održavanje koštane gustoće (36). Koncentracije između 50 i 75 nmol/l (20-30 ng/ml) uglavnom se smatraju nedostatkom vitamina D, imaju negativni učinak na mineralnu gustoću kosti i potencijalno negativan učinak na mišićnu snagu (37).

Međutim, u znanstvenoj javnosti podijeljena su mišljenja o tome koja je razina vitamina D dostatna u organizmu. Procjenjuje se da prosječni unos vitamina D iz hrane iznosi do 400 IU dnevno, dok je prosječna serumska razina 25(OH)D-a u reprezentativnim uzorcima bila iznad 50 nmol/l (20 ng/ml). Dakle, na temelju tih podataka i serumska koncentracija 25(OH)D-a od 50 nmol/l prihvaćena je kao dostatna razina vitamina D koja zadovoljava potrebe kod najmanje 97,5 % stanovništva u svim dobnim skupinama. Prema preporukama američkog Instituta za medicinu, prehranu i nutricionizam, razina 25(OH)D-a u serumu ≥ 50 nmol /l smatra se normalnom razinom, dok je razina u rasponu od 30-50 nmol/l nedovoljna, a deficijentna je razina ≤ 30 nmol/l

(38). Preporuka o graničnoj vrijednosti od 50 nmol/l temelji se na dokazima o potrebnoj razini vitamina D za zdravlje kosti. S druge strane, prema preporukama Američkog društva za gerijatriju, Međunarodne zaklade za osteoporozu i američkog Društva za endokrinologiju, smatra se da je za smanjenje rizika fraktura i padova u starijih osoba potrebna razina 25(OH)D-a od 75 nmol/l. Navedene granične razine prikazane su u tablici 1.6.1.

Tablica1.6.1. Kategorije statusa vitamina D prema serumskim koncentracijama 25(OH)D-a. Različita stručna društva predlažu različite granične vrijednosti vitamina D u serumu.

$25(OH)D_3$	nmol/l	ng/ml
Suficijencija	≥50[1] ili ≥75[2]	≥20[1] ili ≥30[2]
Insuficijencija	30-49,9[1] ili 50-74,9[2]	12-19,9[1] ili 20-29,9[2]
Deficijencija	<30[1] ili <50[2]	<12[1] ili <20[2]

[1] Preporuka američkog Instituta za medicinu.

[2] Preporuke američkog Društva za endokrinologiju, Američkog društva za gerijatriju i Međunarodne zaklade za osteoporozu

Druga hidroksilacija zbiva se u bubregu na prvom ugljikovom atomu pod djelovanjem mitohondrijskog enzima 1-alfahidroksilaze, čime dolazi do sinteze $1,25(OH)_2D$-a (39). Koncentracija $1,25(OH)_2D$-a znatno je niža od koncentracije 25(OH)D-a i u odraslih osoba iznosi 60–108 pmol/l, no njegova je biološka aktivnost 500 do 1000 puta veća od aktivnosti 25(OH)D-a, pa je on aktivni oblik vitamina D. Upravo zbog toga je njegova produkcija visoko kontrolirana preko stroge regulacije aktivnosti 1-alfahidroksilaze. Sintezu $1,25(OH)_2D$-a potiče PTH, a koče ioni kalcija i sam $1,25(OH)_2D$ putem inhibicije sinteze PTH i aktivnosti 1-alfahidroksilaze. $1,25(OH)_2D$ inaktivira se u bubregu tako da ga enzim 24-hidroksilaza pretvara u 24,25-dihidroksivitamin D ($24,25(OH)_2D$). Navedeni je spoj inaktivni metabolit vitamina D koji je topljiv u vodi pa se izlučuje urinom. Aktivnost 24-hidroksilaze potiče sam $1,25(OH)_2D$ koji tako na dvojaki način negativnom povratnom spregom kontrolira svoju koncentraciju (kočeći 1-alfahidroksilazu i potičući 24-hidroksilazu u bubregu) (40). Vitamin D i njegovi metaboliti u cirkulaciji se transportiraju vezani za DBP, protein plazme sličan albuminu (41).

Osim renalne produkcije 1,25$(OH)_2$D-a koja je visoko regulirana s primarnim ciljem održavanja normokalcemije postoji i autonomna ekstrarenalna produkcija aktivnog oblika vitamina D u brojnim tkivima i stanicama. Tako primjerice u sarkoidozi dolazi do hiperprodukcije 1,25$(OH)_2$D-a u makrofazima te do posljedične hiperkalcemije praćene hiperkalciurijom (42).

1.6.2. Biološki učinci 1,25-dihidroksivitamina D

1,25$(OH)_2$D kao steroidni hormon direktno ili indirektno modulira funkciju brojnih gena. Rezultati najnovijih istraživanja pokazuju da je više od 900 različitih gena (oko 3% humanoga genoma) pod utjecajem 1,25$(OH)_2$D-a i da gotovo sva tkiva posjeduju VDR (nuklearni transkripcijski faktor koji pripada porodici receptora za steroidne hormone). U brojnim je tkivima i stanicama eksprimiran i mitohondrijski enzim 1-alfahidroksilaza (makrofagi, keratinociti, glatke mišićne stanice krvnih žila, beta-stanice gušterače, kardiomiociti, stanice debelog crijeva, prostate, dojke, mozga), što omogućava ekstrarenalnu i autonomnu produkciju 1,25$(OH)_2$D-a (neovisnu o PTH), koja je ograničena jedino bioraspoloživošću 25(OH)D-a, tj. statusom vitamina D u organizmu. Sve navedeno vitaminu D daje obilježja pravog hormona koji osim na klasične ciljne organe uključene u homeostazu kalcija i fosfata (crijevo, bubrezi, kost i paratireoidne žlijezde) djeluje i na brojne druge ciljne organe i tkiva (npr. skeletni mišići, koža, gušterača, imunološki sustav). Iz toga proizlaze i otkrića novih ekstraskeletalnih bioloških učinaka vitamina D (43). Aktivnost vitamina D ostvaruje se posredstvom genomskog i negenomskog učinka. Negenomski učinak nastaje vezanjem za membranski VDR, koji uzrokuje kaskadu događaja i rezultira intracelularnom sintezom sekundarnoga glasnika ili fosforilacijom intracelularnih proteina uzrokujući time aktivaciju intracelularnih enzima ili ionskih kanala. U konačnici navedeno dovodi do modulacije staničnih procesa. Genomski učinak ostvaruje se vezanjem za visokospecifični VDR u jezgri stanice koji pokazuje značajni polimorfizam. Receptor vitamina D je prisutan u gotovo svim tkivima ljudskog organizma. Tek je nekoliko vrsta stanica ili tkiva koje ne posjeduju VDR ili je njegova ekspresija u njima izrazito niska. Primjeri su crvene krvne stanice i neke visoko diferencirane moždane stanice (Purkinjeove stanice malog mozga). Genomski učinak nastaje tako da 1,25$(OH)_2$D ulazi u stanicu i u jezgri se veže za VDR. Kompleks vitamina D i VDR-a potiče heterodimerizaciju s retinoidnim X-receptorom (RXR). Novonastali kompleks

1,25$(OH)_2$D-VDR-RXR zatim se translocira u jezgru gdje se veže za mjesto osjetljivo na vitamin D (engl. "vitamin D-responsive element") na deoksiribonukleinskoj kiselini (DNK) i regulira gensku transkripciju. Dakle, heterodimer vitamina D veže se za gen osjetljiv na vitamin D u jezgri stanice (npr. gen za osteokalcin ili za 24-hidroksilazu) te dovodi do moduliranja aktivnosti tog određenoga gena i time moduliranja sinteze proteina kodiranog tim genom. Time se pod utjecajem 1,25$(OH)_2$D-a odvija genska transkripcija, odnosno sinteza glasničke ribonukleinske kiseline (glasnička RNK), te potom translacija, tj. *de novo* sinteza proteina (44).

1.6.3. Receptor vitamina D posreduje u prirođenoj imunosti i modulira stečeni imunološki odgovor

Modulacija prirođene imunosti očituje se djelovanjem vitamina D na monocite i makrofage koji čine prvu liniju obrane protiv invazije mikroorganizama. Aktivacija makrofaga preko TLR-liganda (od engl. "Toll-like receptor ligand") kao što su lipopolisaharidi mikroorganizama ili IFNγ, dovodi do indukcije mitohondrijske 1-alfa hidroksilaze i produkcije 1,25$(OH)_2D_3$ koja nije regulirana pomoću PTH, već ovisi samo o dostupnosti, tj. koncentraciji 25(OH)D. Tako se autokrino stvoreni 1,25$(OH)_2$D preko VDR-a veže na osjetljivi element na odgovarajućem genu kao dimer s RXR-om, dovodeći do ekspresije ciljnog gena, njegove transkripcije i *de novo* sinteze bjelančevina, poput aktivnog antimikrobnog peptida kathelicidina i β2 defenzina koji pojačavaju antimikrobnu aktivnost. Stoga je nedostatak vitamina D povezan s povećanom podložnošću infekcijama. Imunomodulacijska uloga vitamina D u stečenoj imunosti očituje se njegovim inhibitornim djelovanjem na dendritičke stanice (antigen prezentirajuće stanice), T i B-limfocite. Intracelularni VDR prisutan je u većini stanica imunološkog sustava. Neaktivirani (naivni) T i B-limfociti nemaju VDR, ali do njegove ekspresije dolazi prilikom njihove aktivacije.

Budući da 1,25$(OH)_2D_3$ inhibira diferencijaciju i sazrijevanje dendritičkih stanica, dolazi do smanjenja poticanja proliferacije T-limfocita. Mijenja se i sinteza citokina u dendritičkim stanicama te se smanjuje broj Th1 i Th17 limfocita sa skretanjem razvoja naivnih T-limfocita prema Th2 fenotipu. S druge strane, pojačava se oslobađanje antiupalnog citokina IL-10 i kemokina uključenih u diferencijaciju T-regulatornih stanica, koje su bitne za toleranciju vlastitih antigena. Navedenim se objašnjava povezanost manjka vitamina D i povećane aktivnosti autoimunih procesa.

Dakle, pod utjecajem aktivnog oblika vitamina D_3 dendritičke stanice potiču diferencijaciju T-regulatornih stanica. Vitamin D_3 također istovremeno i na dendritičkim i antigen prezentirajućim stanicama te T-limfocitima dovodi do smanjenja ekspresije gena tkivne podudarnosti i kostimulatornih molekula CD40, CD 80 i CD86. Nadalje, inhibira sintezu proinflamatornih citokina u monocitima uključujući IL-1, IL-6, TNF-α, IL-8 i IL-12, a za navedene je citokine poznato da su važni u nastanku nestabilnog plaka.

Zaključno, vitaminom D_3 posredovana modulacija funkcije dendritičkih stanica pokazuje njegovu značajnu ulogu u stečenom imunološkom odgovoru, a pokazuje i učinak na regulaciju T-staničnog odgovora. Iako modulacija funkcije T-limfocita neizbježno utječe i na B-limfocite, oni su također i pod direktnim utjecajem aktivnog vitamina D_3 koji inhibira njihovu proliferaciju, diferencijaciju u plazma stanice i sekreciju imunoglobulina (IgG i IgM), te istovremeno inducira njihovu apoptozu (45,46).

1.6.4. Povezanost hipovitaminoze D i akutne koronarne bolesti

Do sad nije razjašnjeno koji bi biološki mehanizmi bili odgovorni za povezanost hipovitaminoze D i koronarne bolesti. Na temelju dosadašnjih istraživanja može se pretpostaviti da je učinak vitamina D na koronarnu bolest dvojak. On posjeduje izravno imunomodulirajuće djelovanje, dok neizravno djeluje na poznate klasične čimbenike rizika za KVB.

Upala igra ključnu ulogu u patogenezi AKS-a i ateroskleroze (47). U odjeljku 1.6.3. je prikazano da $1,25(OH)_2D$ pokazuje protuupalno i imunosupresivno djelovanje, modulirajući brojne citokine i kostimulatorne molekule (48). CD40 receptori eksprimirani su na površini monocita, makrofaga i endotelnih stanica te kroz interakciju s T-limfocitima i trombocitima dovode do intenzivnog upalnog odgovora u stjenci krvne žile. U bazičnim je istraživanjima dokazano da $1,25(OH)_2D$ smanjuje ekspresiju CD 40 molekula na dendritičkim stanicama. Također, u jednom je istraživanju pokazano da $25(OH)D_3$ i njegovi analozi u monocitima smanjuju sintezu trombomodulina suprotstavljajući se tako djelovanju TNF-α i oksidiranih LDL čestica (49). Za stabilnost plaka važna je relativna ekspresija MMP-a i tkivnog inhibitora metaloproteinaze (TIMP, od engl. "tissue inhibitor of metalloproteinase"). Pokazano je da primjenom suplementa vitamina D dolazi do značajnog smanjenja ekspresije MMP

9, MMP 1, TIMP-a, te hsCRP-a (visokosenzitivni C-reaktivni protein [od engl. "high-sensitivity C-reactive protein"]), i posljedično tome do smanjenja proteolitičke aktivnosti (50). Sve je više dokaza o ulozi angiotenzina II u patogenezi ateroskleroze. Rezultati istraživanja pokazuju inverzan odnos između $1,25(OH)_2D_3$-a i reninske aktivnosti plazme u normotenzivnih i hipertenzivnih muškaraca. Poznato je da hipertenzija pridonosi razvoju ateroskleroze, a navedena istraživanja ukazuju na povezanost statusa vitamin D i vrijednosti arterijskog tlaka Također, u istraživanju provedenom na 100 ispitanika razina $1,25(OH)_2D_3$-a bila je statistički značajno niža kod onih s višim sistoličkim tlakom, unutar normalnog raspona arterijskog tlaka (51,52). Dokazano je da niska razina vitamina D dovodi do povećanog oslobađanja PTH, proliferacije glatkih mišićnih stanica u upali, inzulinske rezistencije, trombogenosti, dislipidemije i proliferacije ekstraceluralnog matriksa. Svi ovdje navedeni biološki mehanizmi predstavljaju moguća objašnjenja povezanosti niske razine vitamina D i AKS-a.

1.6.5. Dosadašnji radovi o vitaminu D u Republici Hrvatskoj

U Republici Hrvatskoj do sad su provedena samo istraživanja o vitaminu D u populaciji žena u postmenopauzi. U prvom istraživanju Kraljević i suradnici su utvrdili vrlo visoku prevaleciju nedostatka vitamina D u hrvatskih žena u postmenopauzi liječenih zbog osteoporoze. Deficit vitamina D zabilježen je u 75% žena (53). Istraživanje Laktašić-Žerjavić i suradnika potvrdilo je sličnu, vrlo visoku prevalenciju različitih stupnjeva nedostatka vitamina D u hrvatskih žena u postmenopauzi koje nisu liječene zbog osteoporoze (54). Oba istraživanja pokazuju vrlo loš status vitamina D u hrvatskih žena u postmenopauzi (bilo da su liječene ili da nisu liječene zbog osteoporoze), a utvrđeni status vitamina D lošiji je nego u većini europskih zemalja (55). U svojoj je disertaciji 2010. godine Miškić je ukazala na nisku serumsku razinu vitamina D u djece na početku puberteta, koja potencijalno može dovesti do ne postizanja optimalne vršne koštane mase tijekom perioda najintenzivnijeg razvoja i rasta skeleta (56). Moguća objašnjenja rezultata navedenih istraživanja uključuju geografski smještaj Hrvatske između 42. i 46.stupnja sjeverne zemljopisne širine, životne i prehrambene navike, te činjenicu da se mali broj namirnica obogaćuje vitaminom D.

2. HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA

Serumska koncentracija vitamina D niža je u ispitanika s akutnim koronarnim sindromom nego u kontrolnoj skupini bolesnika.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

U skladu s hipotezom, ciljevi disertacije su:

1. Odrediti serumsku koncentraciju vitamina D u ispitanika s akutnim koronarnim sindromom i u kontrolnoj skupini.

2. Ustanoviti razlike u serumskoj koncentraciji vitamina D između ispitanika s akutnim koronarnim sindromom i kontrolne skupine ispitanika.

3. Istražiti postojanje povezanosti razine vitamina D u ispitanika s akutnim koronarnim sindromom i drugim poznatim standardnim čimbenicima rizika za kardiovaskularne bolesti: indeks tjelesne težine, pušenje, povišeni krvni tlak, šećerna bolest, hiperlipidemija.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj studije

Znanstveno istraživanje za doktorsku disertaciju je prospektivno, nerandomizirano kontrolirano kliničko istraživanje. U ovo istraživanje je uključeno ukupno 120 ispitanika od kojih u eksperimentalnoj skupini 60 i u kontrolnoj skupini 60 ispitanika. Ispitanici eksperimentalne skupine su liječeni zbog AKS-a u Općoj bolnici „Dr. Josip Benčević“ u Slavonskom Brodu, u razdoblju od ožujka 2012. do listopada 2012. godine i praćeni su kroz sljedećih 36 mjeseci, do srpnja 2015. godine. Kontrolnu skupinu ispitanika predstavljali su bolesnici iz kardiološke ambulante koji su liječeni ambulantno u istom razdoblju i koji do uključenja u periodu od ožujka 2012. do listopada 2012. nisu liječeni zbog bilo kakvog oblika ishemijske bolesti srca.

4.2. Ispitanici

4.2.1. Eksperimentalna skupina

U istraživanje je prospektivno uključeno ukupno 60 bolesnika s AKS-om. Za uključenje bolesnika u istraživanje bila je potrebna dijagnoza AKS-a, odnosno prisutnost barem dva od tri standardna klinička kriterija za potvrdu AKS-a prema smjernicama Europskog kardiološkog društva, te nepostojanje bilo kojeg od isključnih kriterija (25, 26).

Klinički kriteriji za potvrdu AKS-a bili su: ishemijska bol u prsima u mirovanju (ili njezin ekvivalent) u trajanju dužem od 10 minuta, značajne promjene repolarizacijskog (ST) segment u EKG-u (elevacija ST-segmenta ili denivelacija ST-segmenta za više od 1 mm u dva srodna odvoda) i značajan porast kardioselektivnih enzima (kreatinin kinaza, MB-frakcija [od engl. “muscle brain“] kreatinin kinaza) ili biomarkera (troponin-I) za više od pet puta u odnosu na gornju granicu normalnog raspona određenu u laboratoriju ustanove u kojoj je provedeno istraživanje. Kriterij ishemijske boli u prsima bio je obvezan, uz bar još jedan od bilo koja dva ostala navedena kriterija.

Bolesnici s AKS-om podijeljeni su u dvije skupine: bolesnici sa STEMI-jem, koji su uvijek imali zadovoljena sva tri uključna kriterija, i bolesnici s akutnim koronarnim sindromom bez ST elevacije (NSTE-AKS) koji su uglavnom imali dva od

tri potrebna uključna kriterija te su većinom uključivali bolesnike sa NSTEMI-jem i u manjem broju slučajeva bolesnike s tipičnom UA kod kojih, prema definiciji, nije zabilježen porast kardioselektivnih enzima niti troponina-I.

Svi bolesnici bili su podvrgnuti koronarografiji i revaskularizacijskim postupcima ovisno o nalazu anatomije koronarnih arterija. Analizirani su demografski podaci, prisutnost klasičnih čimbenika rizika za aterosklerotsku koronarnu bolest, rutinski laboratorijski nalazi učinjeni tijekom liječenja, kao i nalaz koronarografije. Prema nalazu koronarografije bolesnici s AKS-om podijeljeni su u 3 skupine: skupina s jednožilnom koronarnom bolesti (JKB), skupina s dvožilnom koronarnom bolesti (DKB) i skupina s višežilnom koronarnom bolesti (VKB), odnosno bolesti sa zahvaćanjem triju ili više koronarnih arterija uključujući i glavno deblo lijeve koronarne arterije (57).

4.2.2. Kontrolna skupina

U kontrolnu skupinu uključeno je 60 osoba koje su ambulantno liječeni u kardiološkoj ambulanti Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“ u Slavonskom Brodu u istom razdoblju od ožujka do listopada 2012. godine. Ispitanici u kontrolnoj skupini ranije nisu bili liječeni ili promatrani zbog potvrđenog ili sumnjivog akutnog koronarnog sindroma ili ishemične bolesti srca sa zatajenjem srca te nisu imali ni jedan isključujući kriterij. Analizirani su demografski podatci i prisutnost čimbenika rizika za aterosklerotsku koronarnu bolest.

4.2.3. Isključni kriteriji

U istraživanje nisu uključeni ispitanici izvan dobnog raspona od 35 do 70 godina, kao niti pojedinci s nekom od sljedećih bolesti ili stanja: od ranije poznata KVB, kronična bolest bubrega ili jetre, hipertireoidizam, hiperparatireoidizam, sarkoidoza, tuberkuloza, autoimune bolesti, Crohnova bolest, limfoproliferative bolesti i maligne bolesti, malapsorpcija, metabolička bolest kosti, imobilizacija duža od jednog tjedna, trudnoća ili dojenje, nadomjesna terapija vitaminom D i kalcijem ili uzimanje lijekova koji utječu na vitamin D i metabolizam kalcija poput kortikosteroida ili antiepileptika.

4.3. Metode

Uključivanje ispitanika u istraživanje provodilo se od ožujka do listopada 2012. godine. Republike Hrvatske je smještena iznad 35. stupnja zemljopisne širine, točnije između 42. i 46. stupnja sjeverne zemljopisne širine radi toga u navedenom razdoblju od listopada do ožujka onemogućena je , odnosno izrazito smanjena, sinteza vitamina D u koži.

Uzorci krvi uzeti su po prijemu ispitanicima eksperimentalne skupine, a nakon ambulantnog pregleda ispitanicima kontrolne skupine. Kolorimetrijski se određivao u plazmi kreatinin, ukupni kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol; trigliceridi, glukoza, ukupni kalcij na automatskom analizatoru AU 680 (Beckman Coulter, Fullerton, SAD) i s pripadajućim originalnim reagensima istog proizvođača.

Serumska koncentracija vitamina D i PTH analizirana je, kao i ostali gore navedeni parametri, u Službi za laboratorijsku dijagnostiku Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“.

Mjerenje serumske koncentracije vitamina D vršeno je elektrokemiluminescentnom imunometodom na komercijalnom testu Elecsys 2010. Korišten je vitamin D ukupni test, koji je namijenjen za kvantitativno određivanje razine ukupnog 25(OH)D-a u ljudskom serumu i plazmi. On reflektira ukupni vitamin D uključujući vitamin D_3 sintetiziran u koži te vitamine D_2 i D_3 podrijetlom iz uzete hrane i dodataka prehrani. Elecsys 2010. je elektrokemiluminescentna imunometoda namijenjena za uporabu u Elecsys i Cobas e 411 imuno analizatorima. Princip metode bazira se na kompetitivnom vezanju proteina. Ukupno trajanje testa iznosi 27 minuta, a čine ga tri inkubacije. U prvoj inkubaciji uzorak se pretretira s 2 reagensa, uslijed čega dolazi do oslobađanja vitamina D od DBP-a. Nastao uzorak se inkubira s DBP-om obilježenim rutenijem i tako nastaje kompleks vitamina D i rutenijem obilježenog DBP-a. U trećoj inkubaciji nakon dodavanja vitamina D obilježenog biotinom i streptavidinom obilježenih mikročestica, dolazi do vezanja kompleksa biotinom obilježenog vitamina D i rutenijem obilježenog DBP-a za čvrstu fazu uslijed interakcije biotina i streptavidina. Reakcijska smjesa se aspirira u mjerne ćelije u kojima su mikročestice magnetski zarobljene na površini elektrode, a slobodne supstance se presele u ProCell/ProCell M. Primjena napona na elektrodi inducira kemiluminiscentnu emisiju koja se mjeri fotomultiplikatorom, nakon čega se radi kalibracija rezultata (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka).

Serumska koncentracija 25(OH) D je prema kriterijima američkog Instituta za medicinu klasificirana u deficijenciju ≥ 50 nmol/L (≥ 20 ng/ml), insuficijenciju od 30-50 nmol/L (12-20 ng/ml) i deficijenciju ≤ 30nmol/L (≤12 ng/ml) (38).

Zabilježeni su sljedeći demografski i medicinski podaci: spol, dob, indeks tjelesne težine, pušenje, šećerna bolest, hipertenzija. Indeks tjelesne mase - tjelesna težina izražena u kilogramima podijeljena s kvadratom tjelesne visine izražena u metrima (kg/m^2). Pušački status izražen u dvije kategorije kao sadašnji/ bivši pušač ili nepušač. Šećerna bolest obuhvaća novootkrivenu šećernu bolest vrijednost glukoze natašte veća od 6 mmol/L i poznata šećerna bolest u trajanju do pet godina, liječena inzulinom ili oralnim hipoglikemicima. Arterijska hipertenzija obuhvaća novootkrivenu hipertenziju dijastolički tlak viši od 90 mmHg (viši od 85 mmHg u bolesnika sa šećernom bolesti) ili sistolički tlak viši od 145 mmHg (viši od 130 mmHg u dijabetičara) i od prije poznata hipertenzija liječena antihipertenzivnom terapijom.

4.3.1. Prognostički parametri

Prognoza AKS-a je procijenjena na osnovu parametara koji definiraju veliki neželjeni kardijalni događaj (MACE, od engl. “major adverse cardiac event”): reinfarkt, revaskularizacija odgovorne lezije, rehospitalizacija zbog srčanog zatajenja, moždani udar i smrt). Praćenje bolesnika iznosilo je 36 mjeseci. Podaci su prikupljeni medicinskim pregledom, uvidom u medicinsku dokumentaciju i telefonskim kontaktom s bolesnikom ili članovima rodbine.

4.3.2. Statistička analiza

Kategoričke varijable prikazane su deskriptivno i testirane hi-kvadrat testom za procjenu razlika među skupinama.

S obzirom na broj ispitanika u skupinama, Shapiro-Wilk testom ispitana je normalnost raspodjele rezultata svih numeričkih kontinuiranih varijabli. Od svih promatranih varijabli, vrijednost vitamina D jedina je pokazala normalnu distribuciju u cijelom uzorku i unutar promatranih skupina, dok su se ostale varijable distribuirale nenormalno.

Numeričke varijable s normalnom raspodjelom prikazane su prosječnom vrijednošću i standardnom devijacijom, a razlike između pojedinih skupina ispitane su

Studentovim t-testom. Razlike numeričkih varijabli s normalnom raspodjelom između više od dvije skupine analizirane su ANOVA testom, uz *post-hoc* analize za koje je korišten Tukey HSD *post-hoc* test.

Numeričke varijable s nenormalnom raspodjelom prikazane su medijanom vrijednosti, uz raspon minimalne i maksimalne vrijednosti. Razlike među pojedinim skupinama za numeričke varijable s nenormalnom raspodjelom ispitane su Mann-Whitney testom za dva neovisna uzorka.

Korelacije između kontinuiranih numeričkih varijabli s normalnom raspodjelom testirane su Pearsonovim testom korelacije, a varijable s nenormalnom raspodjelom testirane su Spearmannovim testom korelacije. Razina povezanosti ispitivanih varijabli s vrijednostima vitamina D unutar skupina analizirana je linearnom regresijom.

Koristeći kalkulator za procjenu veličine uzorka programskog paketa Medcalc 8, uz prosječnu vrijednost vitamina D u kontrolnoj skupini od 65 nmol/l, očekujući 50% manju prosječnu vrijednost vitamina D u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom prema preliminarnim rezultatima sa standardnom devijacijom od 20, s razinom pogreške alfa od 0,10, te snagu testa od 0,80 minimalni broj ispitanika u svakoj skupini potreban za potvrdu statističke značajnosti je 14.

Razina značajnosti podešena je na 5% ($p < 0,05$). Za statističku analizu korišten je statistički paket *SPSS for Windows* 11.0.3. (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

5. REZULTATI

5.1. Osobine ispitivanih skupina

Demografske i kliničke osobine bolesnika s AKS-om i kontrolne skupine ispitanika prikazane su u tablici 5.1.1.

Tablica 5.1.1. Demografske i kliničke osobine ispitanika

Klinička osobina	Skupina ispitanika		p vrijednost
	AKS N=60	Kontrole N=60	
Spol, muški N (%)	40 (67)	38 (63)	0,424
Dob (godine) medijan (raspon)	58 (34-72)	58,5 (35-72)	0,423
BMI (kg/m^2) medijan (raspon)	28 (20-34)	27 (20-42)	0,082
Šećerna bolest N (%)	21 (35)	15 (25)	0,232
Pušenje N (%)	39 (67)	28 (47)	**0,024***
Hipertenzija N (%)	43 (72)	33 (55)	0,058
Hiperlipidemija N (%)	52 (87)	44 (73)	0,068

* hi-kvadrat testom dokazana statistički značajna razlika, $p<0,05$

Vidljivo je kako nije bilo statistički značajnih razlika u demografskim i relevantnim kliničkim osobinama između bolesnika s AKS-om i onih u kontrolnoj skupini, osim što je među bolesnicima s AKS-om nađen statistički značajno veći udio pušača. Iz tablice je vidljivo da su bolesnici u eksperimentalnoj i kontrolnoj skupini bili

izrazito slični prema životnoj dobi, BMI-ju i raspodjeli po spolu, dok su razlike bile prisutne u udjelu oboljelih od šećerne bolesti, hiperlipidemije i hipertenzije, ali nisu bile statistički značajne.

U tablici 5.1.2. prikazana je raspodjela bolesnika s AKS-om ovisno o dijagnozi STEMI-ja ili NSTEMI/UA, a u tablici 5.13. prikazana je raspodjela prema težini koronarne bolesti procijenjene kvantitativnom koronarografijom. Iz navedenih je podataka vidljivo da je većina ispitanika s AKS-om imala STEMI u podlozi kojega se u nešto više od 2/3 bolesnika nalazila jednožilna koronarna bolest.

Tablica 5.1.2. Udio bolesnika sa STEMI-jem i NSTEMI/UA

Dijagnoza	Bolesnici s AKS-om, N (%) N=60
STEMI[1]	36 (60)
NSTEMI[2]	24 (40)

[1]STEMI infarkt miokarda s ST elevacijom (od engl. "ST-elevation myocardial infarction")

[2]NSTEMI infarkt miokarda bez ST elevacije (od engl. "non-ST-elevation myocardial infarction")

Tablica 5.1.3. Raspodjela bolesnika ovisno o težini koronarne bolesti

Dijagnoza	Bolesnici s AKS-om, N (%) N=60
JKB[1]*	39 (68)
DKB[2]*	15 (26)
VKB[3]*	3 (6)

[1]JKB-jednožilna koronarna bolest, [2]DKB-dvožilna koronarna bolest, [3]VKB-višežilna koronarna bolest

*budući da su neki bolesnici liječeni konzervativno medikamentoznom terapijom, kod troje bolesnika bio je uredan koronarografski nalaz, zbog čega zbroj bolesnika s obzirom na proširenost koronarne bolesti ne čini 60 već 57

U tablici 5.1.4. prikazani su bolesnici s obzirom na način liječenja te se vidi da je više od 3/4 bolesnika liječeno perkutanom koronarnom intervencijom, dok je kod svega 5 bolesnika za strategiju liječenja odabrana optimalna farmakološka terapija.

Tablica 5.1.4. Raspodjela bolesnika ovisno o načinu liječenja

Način liječenja	Bolesnici s AKS-om, N (%) Ukupno N=60
PCI[1]	46 (77)
CABG[2]	9 (15)
OMT[3]	5 (8)

[1]perkutana koronarna intervencija (od engl. "percutaneous coronary intervention")

[2]aortokoronarno premoštenje (od engl. "coronary artery bypass graft")

[3]optimalna farmakološka terapija (od engl. "optimal medical therapy")

5.2. Razlike u koncentraciji vitamina D između eksperimentalne i kontrolne skupine

U tablici 5.2.1.prikazane su prosječne vrijednosti i standardne devijacije pojedinih biokemijskih parametara u bolesnika s AKS-om i onih u kontrolnoj skupini. Iz podataka se vidi da se skupine bolesnika nisu klinički niti statistički značajno razlikovale prema bubrežnoj funkciji, koncentraciji ukupnog kolesterola te vrijednostima kalcija i fosfata. S druge strane, serumska koncentracija 25(OH)D-a u eksperimentalnoj je skupini bila statistički značajno niža, dok je koncentracija PTH bila značajno viša nego u kontrolnoj skupini.

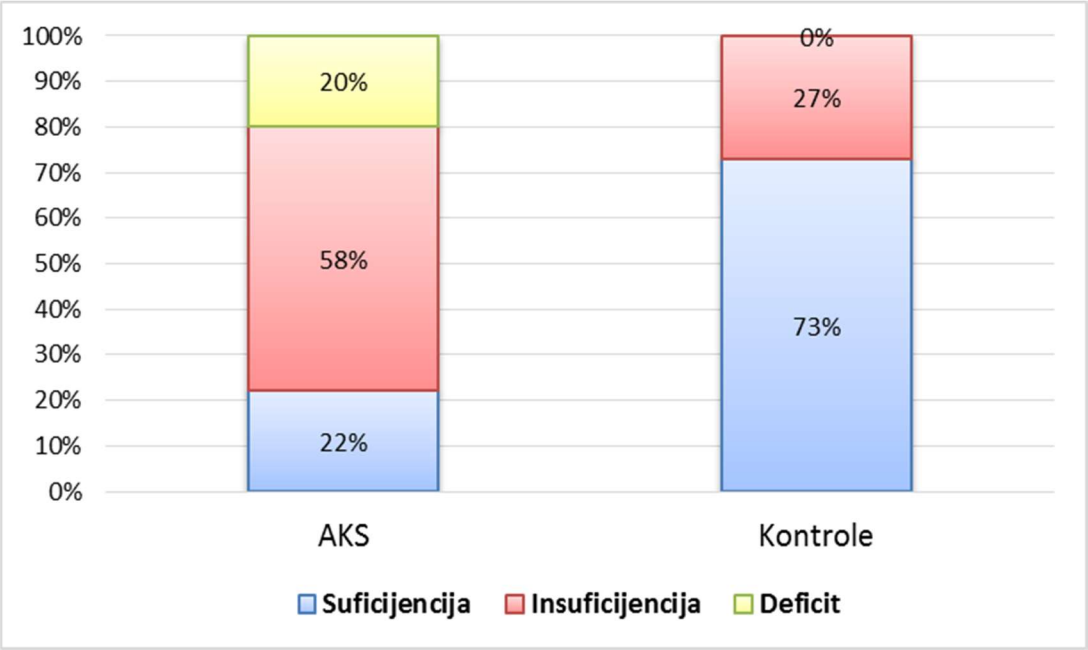
Tablica 5.2.1. Usporedba vrijednosti biokemijskih parametara između ispitanika

Biokemijski parametar, prosječna vrijednost ± SD	Skupina ispitanika	
	AKS	Kontrole
kreatinin [µmol/l]	89,98±13,12	81,73±13,2
ukupni kolesterol [mmol/l]	5,45±1,21	5,73±1,13
kalcij [mmol/l]	2,29±0,14	2,37±0,11
fosfat [mmol/l]	1,10±0,19	1,18±0,15
PTH [pg/ml]	36,14±10,69	31,79±9,12
25(OH)D_3 [nmol/l]	35,19±17,54	58,08±16,29*

*hi-kvadrat testom dokazana statistički značajna razlika, $p<0,05$

Prosječna vrijednost koncentracije vitamina D izmjerene u bolesnika s AKS-om iznosila je 35,19 nmol/l, uz standardnu devijaciju od 17,54 nmol/l i bila je statistički značajno niža u usporedbi s kontrolnom skupinom ispitanika čija je prosječna vrijednost iznosila 58,08 nmol/l uz standardnu devijaciju od 16,29 nmol/l (Studentov t-test, $p<0,001$).

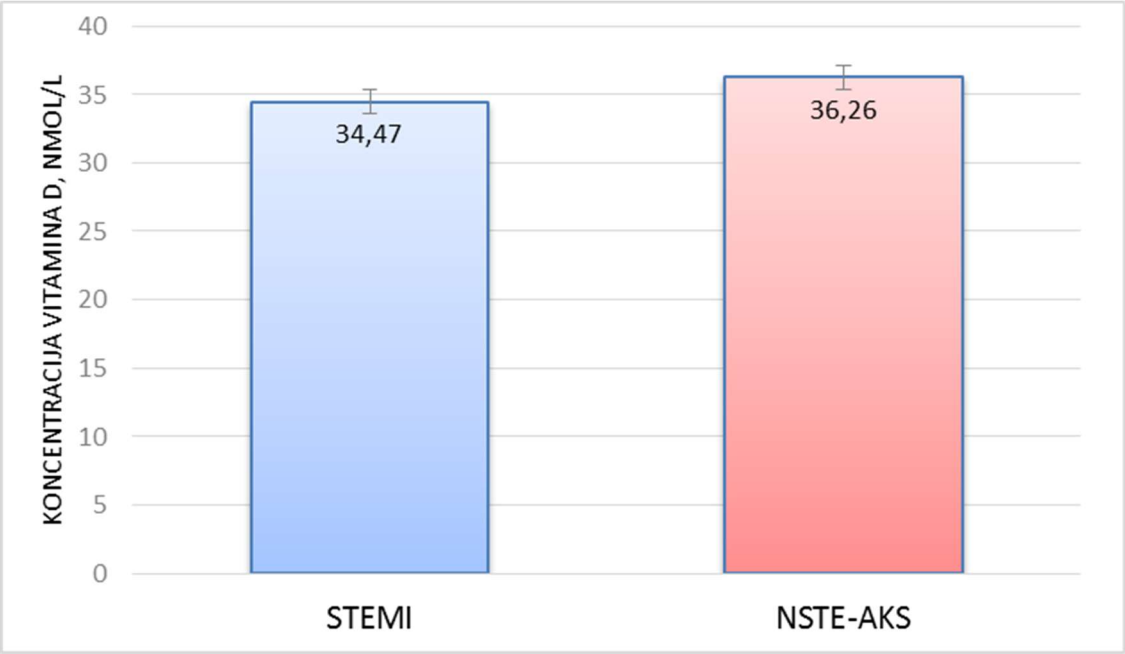
Uporabom referentnih graničnih vrijednosti za suficijenciju, insuficijenciju i deficit vitamina D američkog Instituta za medicinu, nađen je statistički značajno veći udio ispitanika s insuficijencijom vitamina D među bolesnicima s AKS-om u usporedbi s kontrolama (hi-kvadrat test, $p<0,001$). Također, među kontrolama nije bilo ispitanika s deficitom, dok je udio bolesnika s AKS-om koji su imali deficit vitamina D iznosio čak 20% (slika 5.2.2.)



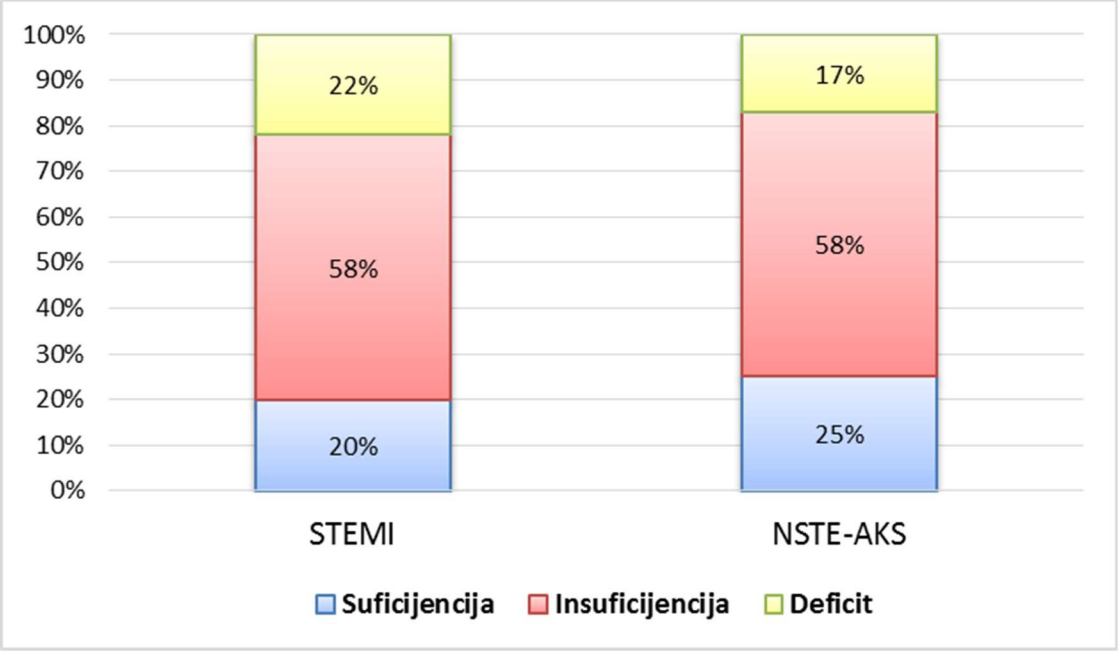
*statistički značajno veći udio insuficijencije u bolesnika s AKS u odnosu na kontrole (hi-kvadrat test, p<0,05)

Slika 5.2.1. Razlike u udjelima suficijencije, insuficijencije i deficita vitamina D između bolesnika s AKS-om i kontrolne skupine

Među bolesnicima s AKS-om učinjena je usporedba serumskih koncentracija 25(OH)D-a između bolesnika sa STEMI-jem i bolesnika s NSTE-AKS (34,47 nmol/l prema 36,26 nmol/l). Vrijednosti 25(OH)D-a među bolesnicima sa STEMI-jem bile su nešto niže (slika 5.2.3.), ali ta razlika nije bila statistički značajna (Studentov t-test, p=0,702). Također nije nađeno značajnih razlika u raspodjeli suficijencije, insuficijencije i deficita vitamina D u skupini bolesnika s AKS-om ovisno o tome jesu li imali STEMI ili NSTE-AKS. (slika 5.2.4.).



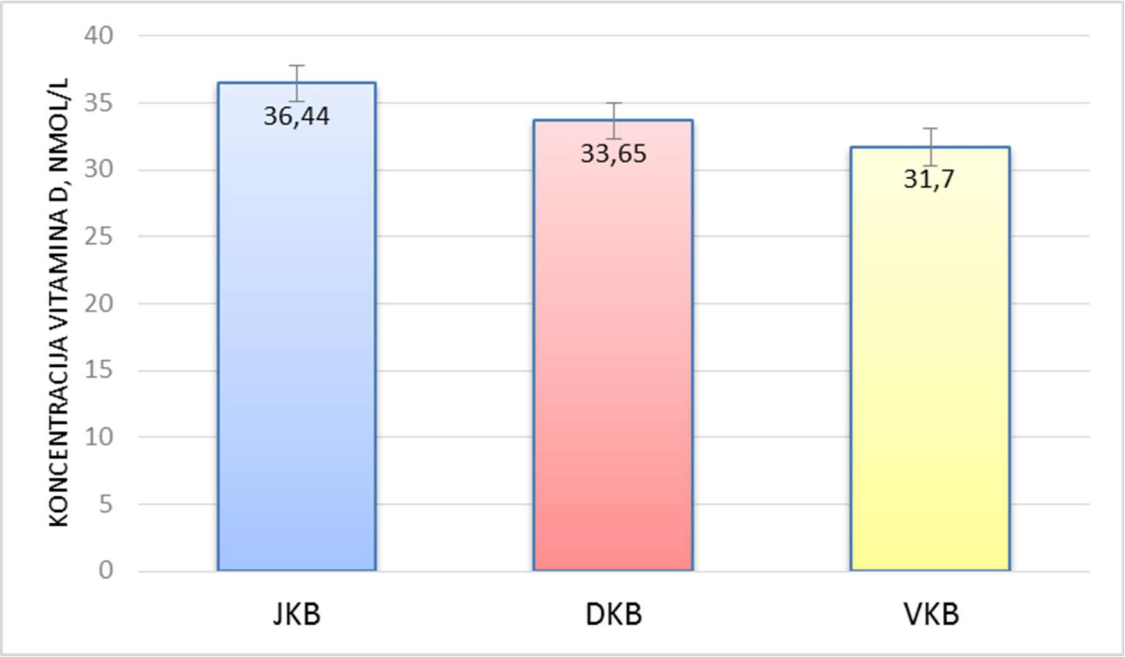
Slika 5.2.2. Razlike u koncentracijama vitamina D između bolesnika sa STEMI-jem i bolesnika s NSTE-AKS (Studentov t-test, P>0,05)



Slika 5.2.3. Razlike u udjelima suficijencije, insuficijencije i deficita vitamina D između bolesnika sa STEMI-jem i bolesnika s NSTE-AKS

Uspoređene su vrijednosti serumskih koncentracija 25(OH)D-a podskupina bolesnika s AKS-om ovisno o težini koronarne bolesti nađene na koronarografiji. Bolesnici s VKB-om imali su najniže izmjerene vrijednosti 25(OH)D-a (31,70 nmol/l),

a vrijednost vitamina D bila je niža u bolesnika s DKB-om u odnosu na one s JKB-om (33,65 nmol/l prema 36,44 nmol/l) (slika 5.2.5.), ali te razlike nisu bile statistički značajne (One-way ANOVA, p=0,818, *post-hoc* test Tukey HSD, tablica 5.2.2.).



JKB-jednožilna koronarna bolest, DKB-dvožilna koronarna bolest, VKB-višežilna koronarna bolest

Slika 5.2.4. Koncentracije vitamina D ovisno o težini koronarne bolesti procijenjene koronarografijom

Tablica 5.2.2. *Post-hoc* analiza višestruke usporedbe vrijednosti vitamina D između skupina bolesnika s AKS-omi različitom težinom koronarne bolesti, Tukey HSD

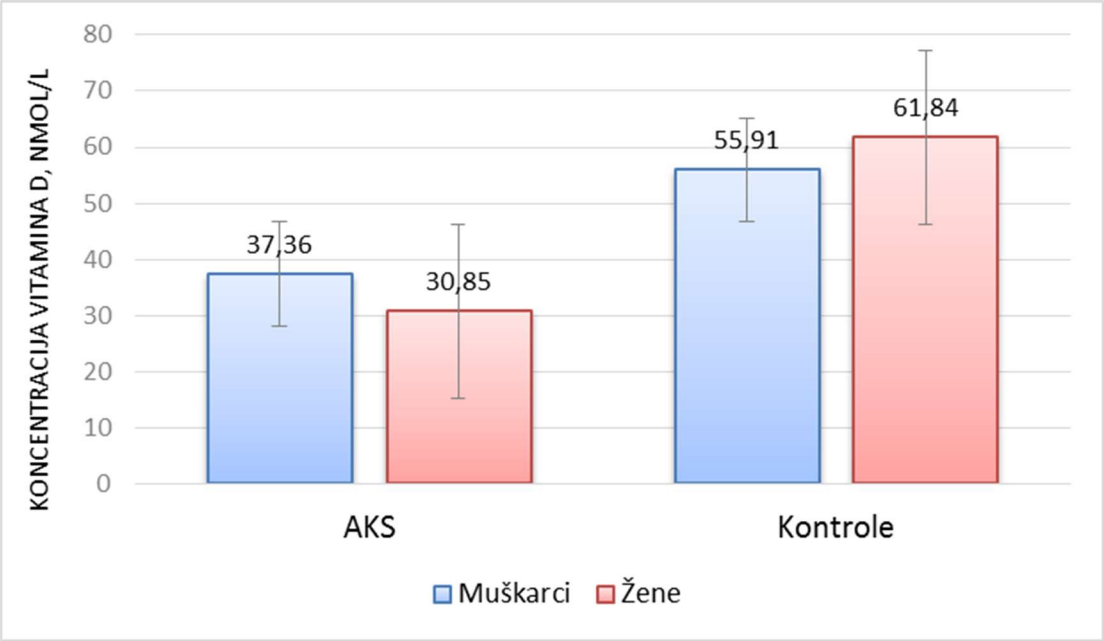
Varijabla	(X) Grupa	(Y) Grupa	Prosječna razlika (X-Y)	Standardna pogreška	P
Vitamin D, nmol/L	JKB[1]	DKB	2,79	5,45	0,865
		VKB	4,75	10,74	0,898
	DKB[2]	JKB	-2,79	5,45	0,865
		VKB	1,95	11,33	0,984
	VKB[3]	JKB	-4,75	10,74	0,898
		DKB	-1,95	11,33	0,984

[1]JKB-jednožilna koronarna bolest; [2]DKB-dvožilna koronarna bolest,[3]VKB-višežilna koronarna bolest

5.3. Koncentracija vitamina D među promatranim skupinama ispitanika ovisno o relevantnim kliničkim značajkama

Ispitane su razlike u prosječnim vrijednostima koncentracija 25(OH)D-a unutar skupine bolesnika s AKS-om i unutar kontrolne skupine ispitanika ovisno o relevantnim demografskim i kliničkim varijablama: dobi, spolu, BMI-ju, pušenju, šećernoj bolesti, te laboratorijskim parametrima koji su uključivali LDL i HDL-kolesterol i trigliceride.

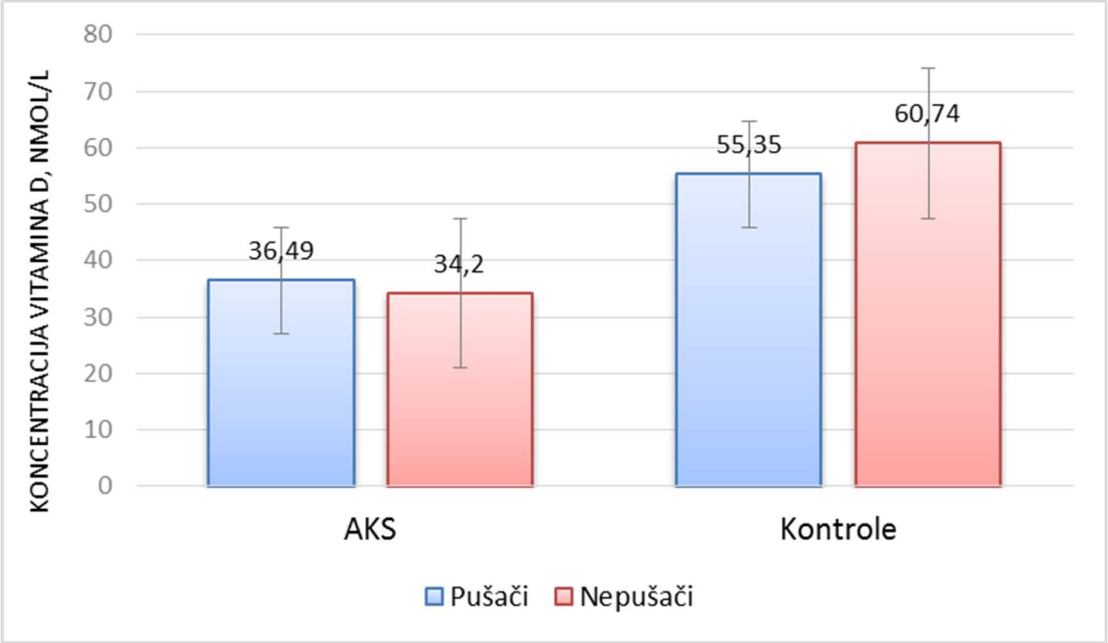
S obzirom na spol, nađena je niža prosječna vrijednost 25(OH)D-a među ženama s AKS-om (30,85 nmol/l prema 37,35 nmol/l), što nije bilo zamijećeno među kontrolama gdje su žene imale više prosječne vrijednosti (61,84 nmol/l prema 55,90 nmol/l) (slika 5.3.1.). Navedene razlike međutim nisu bile statistički značajne (Studentov t-test, P>0,05).



Slika 5.3.1. Razlike u koncentracijama vitamina D u eksperimentalnoj odnosno kontrolnoj skupini ovisno o spolu (Studentov t-test, p>0,05)

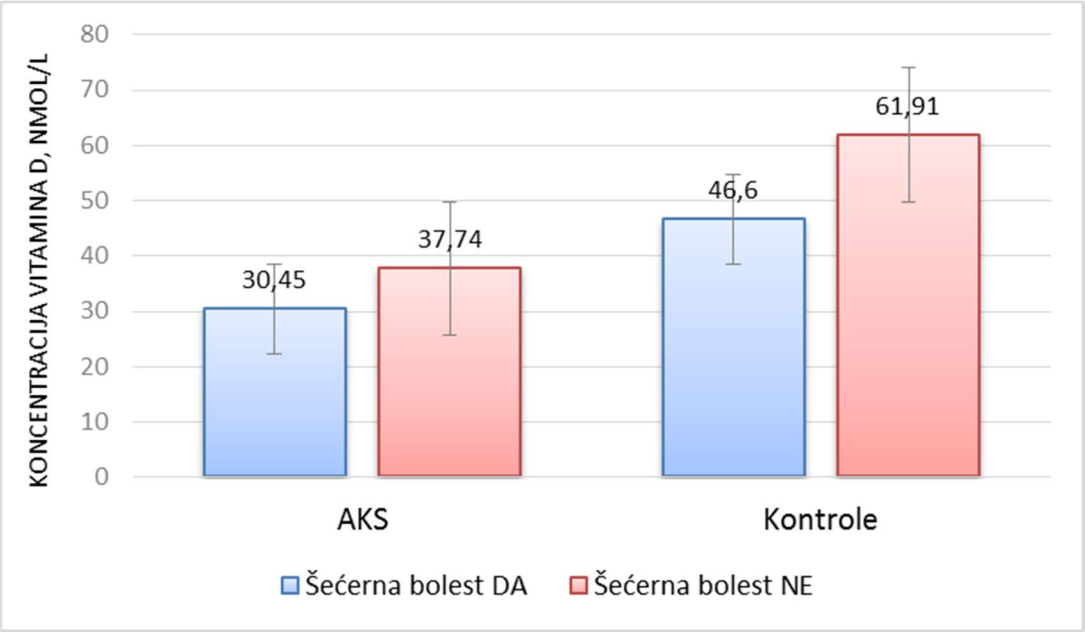
S obzirom na podatak o značajno većem udjelu pušača među bolesnicima s AKS-om uspoređene su razlike u koncentraciji 25(OH)D-a ovisno o anamnezi pušenja unutar svake ispitivane skupine. Zamijećeno je kako među bolesnicima s AKS-om pušači imaju neznačajno više prosječne vrijednosti 25(OH)D-a (36,49 nmol/l prema 34,20 nmol/l), za razliku od kontrolne skupine gdje pušači imaju nešto niže prosječne

koncentracije (55,03 nmol/l prema 60,73 nmol/l) (slika 5.3.2.), ali ta je razlika također bila bez statističke značajnosti (Studentov t-test, p>0,05).



Slika 5.3.2. Razlike u koncentracijama vitamina D u eksperimentalnoj odnosno kontrolnoj skupini ovisno o pušenju (Studentov t-test, p>0,05)

Prosječne koncentracije 25(OH)D-a među bolesnicima s AKS-om koji su imali šećernu bolest bile su neznačajno niže nego kod onih bez šećerne bolesti (slika 5.3.3.). Također, kod podskupine bolesnika s AKS-om koja je imala šećernu bolest zabilježena je najniža prosječna vrijednost 25(OH)D-a u odnosu na sve ostale podskupine (30,45±15,05 nmol/l). Isti trend niže prosječne koncentracije 25(OH)D-a među bolesnicima sa šećernom bolesti zabilježen je i među kontrolama (46,60±19,26 nmol/l), a ta razlika unutar kontrolne skupine bila je i statistički značajna (Studentov t-test, p<0,05) (slika 5.3.3.).



*statistički značajno viša vrijednost u odnosu na ispitanike sa šećernom bolesti (hi-kvadrat test, $p<0,05$)

Slika 5.3.3. Razlike u koncentracijama vitamina D u eksperimentalnoj odnosno kontrolnoj skupini ovisno o šećernoj bolesti

Testovi korelacije kontinuiranih varijabli: dobi i BMI-ja s koncentracijom 25(OH)D-a učinjeni su unutar svake od dvije ispitivane skupine i prikazani u tablici 5.3.1. Nađena je pozitivna signifikantna korelacija između BMI-ja i 25(OH)D-a, ali samo među kontrolnom skupinom ispitanika, što nije bilo zamijećeno među bolesnicima s AKS-om (tablica 5.3.1.).

Tablica 5.3.1. Korelacije kontinuiranih varijabli i koncentracije vitamina D u serumu bolesnika s AKS-om i kontrolne skupine ispitanika

Varijabla koja se korelira s vrijednostima vitamina D	AKS		Kontrole	
	Pearsonov koeficijent korelacije	p	Pearsonov koeficijent korelacije	P
Dob, godine	-0,132	0,314	0,019	0,885
BMI, kg/m^2	0,118	0,371	0,278	0,031*
LDL-kolesterol, µmol/l	0,243	0,061	-0,217	0,096
HDL-kolesterol, µmol/l	0,166	0,206	-0,204	0,118
Trigliceridi, µmol/l	-0,095	0,468	0,141	0,284

*statistički signifikantna korelacija, $p<0,05$.

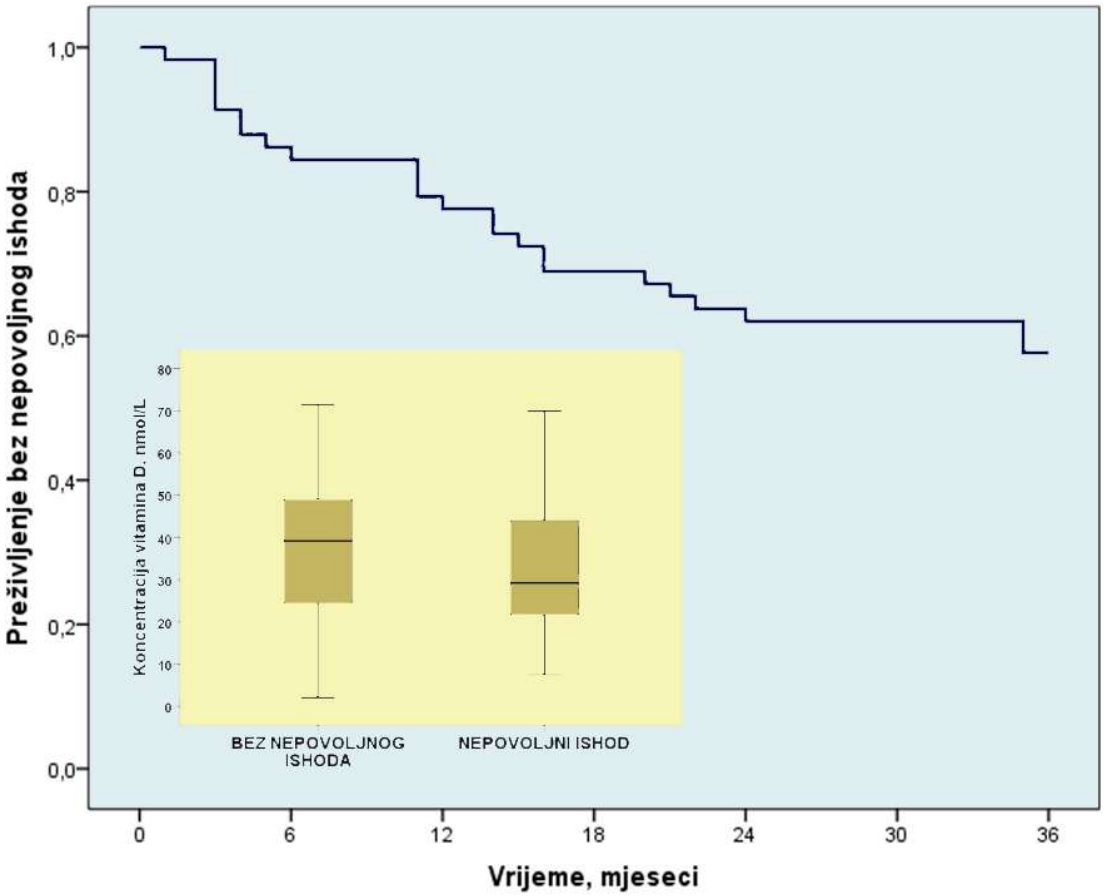
Povezanost vrijednosti koncentracije 25(OH)D-a i promatranih varijabli za koje je dobivena statistički značajna korelacija (samo 25(OH)D i BMI u kontrolnoj skupini) ispitana je linearnom regresijom. Potvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija BMI-ja i 25(OH)D-a u kontrolnoj skupini ispitanika (B 1,249, SE 0,567, β 0,278, p=0,031). Međutim, s obzirom na način formiranja krivulje linearne regresije između dvije promatrane varijable, s velikim brojem vrijednosti koje ne prate navedenu krivulju, uz izrazito nisku razinu povezanosti promatranih varijabli (R^2 0,077), navedena je korelacija slabo objašnjiva isključivo povezanošću BMI-ja i koncentracije 25(OH)D-a, te se ne može isključiti i utjecaj drugih faktora.

Koncentracija 25(OH)D-a i vrijednosti LDL-kolesterola, HDL-kolesterola i triglicerida nisu pokazale značajnih korelacija, ali su se dijametralno razlikovale između bolesnika s AKS-om i kontrola tako da je korelacija 25(OH)D-a i LDL i HDL-kolesterola bila pozitivna među bolesnicima s AKS-om, a negativna među kontrolama. Također, korelacija koncentracije triglicerida i 25(OH)D-a bila je negativna među bolesnicima s AKS-om, a pozitivna među kontrolama. Navedene korelacije nisu bile statistički značajne. Najbliže statističkoj značajnosti bila je pozitivna korelacija

koncentracije LDL-kolesterola i 25(OH)D-a među bolesnicima s AKS-om za koju je provedena analiza linearne regresije. Utvrđena je slaba povezanost navedenih varijabli, s obzirom na izgled krivulje linearne regresije s velikim brojem vrijednosti koje ne prate krivulju, uz nisku razinu povezanosti promatranih varijabli (R^2 0,059).

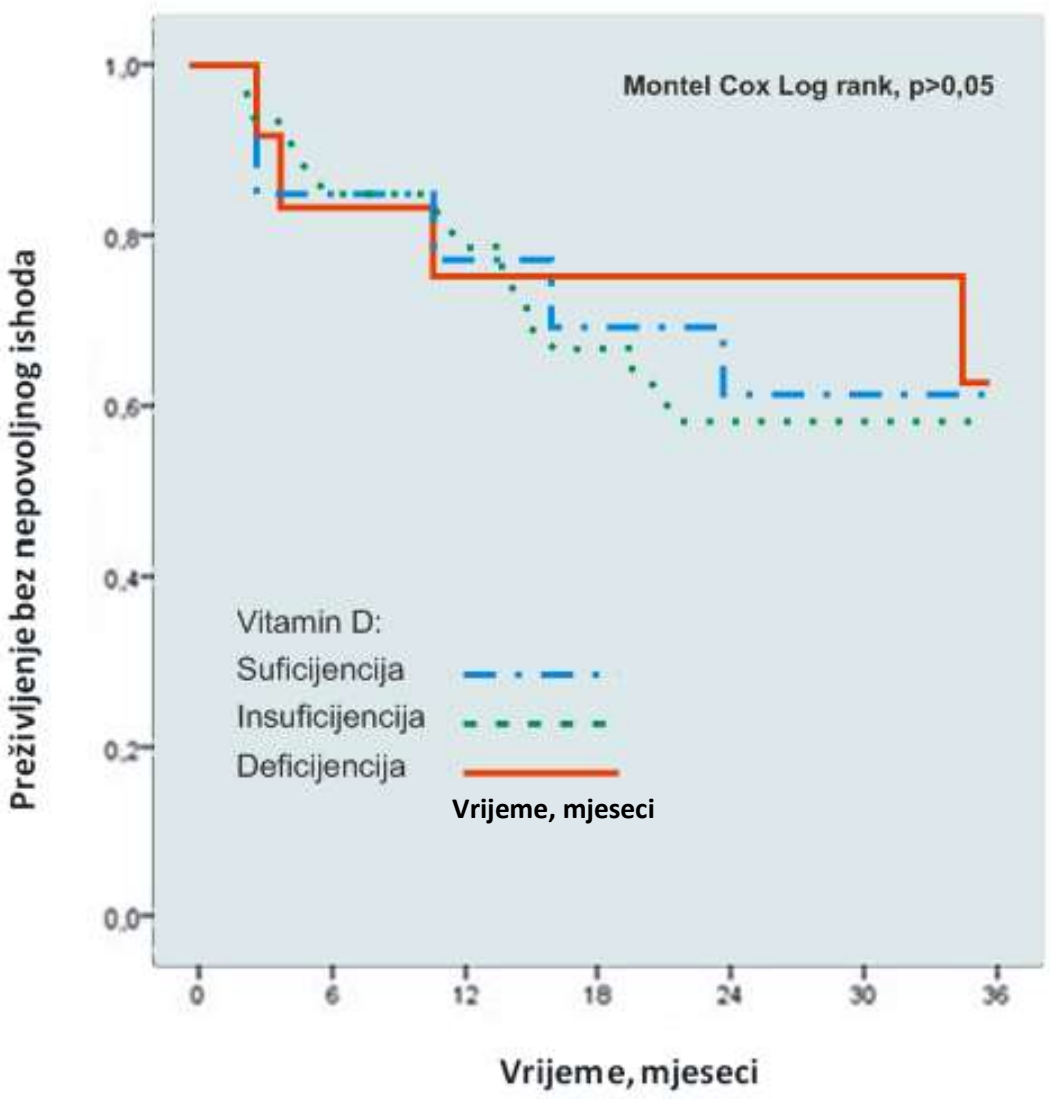
5.4. Povezanost serumske koncentracije vitamina D u bolesnika s AKS-om i prognoze tijekom 36 mjeseci praćenja

Tijekom trogodišnjeg praćenja ukupno je 40% ispitanika doživjelo MACE. Pacijenti s preboljenim AKS-om koji su doživjeli MACE imali su nižu serumsku koncentraciju 25(OH)D-a u akutnoj fazi u odnosu na pacijente koji su preboljeli AKS, a koji u razdoblju praćenja od 36 mjeseci nisu doživjeli MACE, no nije bilo statistički značajne razlike (32,64 nmol/l prema 37,01 nmol/l) (slika 5.4.1.).



Slika 5.4.1. Razlike u koncentraciji vitamina D između bolesnika s preboljenim AKS-om koji su u razdoblju praćenja preboljeli i onih koji nisu preboljeli veliki nepoželjni kardijalni događaj

Kroz 36 mjeseci podjednaki je broj pacijenta s AKS-om doživjelo MACE u sve tri podgrupe bolesnika s obzirom na serumsku koncentraciju 25(OH)D-a: s normalnom, insuficijentnom i deficitnom koncentracijom 25(OH)D-a (slika 5.4.2.). Bolesnici s deficijentnom serumskom koncentracijom 25(OH)D MACE su doživjeli ranije u odnosu na bolesnike u ostale dvije podgrupe.



Slika 5.4.2. Preživljenje bez velikih nepoželjnih kardijalnih događaja u bolesnika s preboljenim AKS-om, s obzirom na status vitamina D

6. RASPRAVA

Koronarna bolest srca, odnosno akutni koronarni sindrom kao njezina akutna komplikacija predstavlja jedan od najčešćih uzroka smrti u svijetu, posebice u razvijenim i srednje razvijenim zemljama, kao i Republici Hrvatskoj (1). Akutni koronarni sindrom jest kliničko stanje kojemu je u podlozi naglo nastala, kritična ishemija miokarda i podrazumijeva dva entiteta: nestabilnu anginu pektoris i infarkt miokarda. S obzirom na veliki rizik prijelaza nestabilne angine pektoris u infarkt miokarda i relativno visoku smrtnost u slučaju već razvijenoga (neliječenoga) infarkta miokarda, riječ je o sindromu koji se ubraja među najveće hitnosti u suvremenoj kardiologiji i medicini općenito. Budući da je za biokemijsku potvrdu odnosno definitivnu dijagnozu infarkta miokarda potrebno čekati i više sati od početka simptoma, suvremeni pristup nalaže promptno stupnjevanje bolesnika prema riziku smrti komplikacija na temelju elektrokardiografskih obilježja. Na temelju početnog EKG nalaza bolesnici se dijele na AKS s perzistentnom ST elevacijom (STEMI) i AKS bez perzistentne elevacije (NSTEMI). Ovakva podjela u okviru AKS uglavnom je podudarna s patofiziologijom kritične koronarne lezije i određuje način liječenja. Sveukupna smrtnost od akutnog koronarnog sindroma kreće se i do 30 %, a razvojem moderne intervencijske kardiologije unutarbolnička smrtnost u uvjetima suvremenog liječenja u Republici Hrvatskoj iznosi danas oko 5 % (58). Hrvatska je u području liječenja AKS metodama intervencijske kardiologije vrlo usko pratila svjetske rezultate. U posljednjih deset godina, otkako postoji unutar cijele Hrvatske mreža primarne perkutane koronarne intervencije (PCI) hitno je liječeno nešto više od 15 000 bolesnika sa STEMI-jem, a po istom principu liječe se i drugi bolesnici s NSTEMI-jem. U posljednjim godinama mreža zbrinjava oko 540-550 bolesnika s akutnim STEMI-jem na milijun stanovnika što se postupno približava optimalnom broju od najmanje 600 primarnih PCI-ja na milijun stanovnika i svrstava nas uz bok najrazvijenijih zemalja Europe i svijeta (59,60). Jedan od centara primarne PCI nalazi se u našoj ustanovi gdje je provedeno ovo istraživanje.

Do sada je prihvaćeno da do razvoja koronarne bolesti dolazi zbog prisutnosti čimbenika rizika: pušenje, hipertenzija, šećerna bolest, hiperlipidemija i genetske predispozicije. Tjelesna neaktivnost, pretilost, nepravilna prehrana i niski socio-ekonomski status smatraju se predisponirajućim uvjetima za koronarnu bolest koji utječu posredno djelujući na već rizične čimbenike koji izravno utječu na patogenezu

ateroskleroze. Neki drugi čimbenici, kao što su povišeni protrombotički čimbenici, biljezi infekcije i upale, povišeni homocistein, povišeni lipoproteini, kao i neki psihološki čimbenici također pokazuju povezanost s koronarnom bolesti (3). U svakodnevnom kliničkom radu vidimo da kod nekih bolesnika s AKS klasični čimbenici rizika izostaju, dok neki drugi bolesnici s više čimbenika rizika ne razvijaju AKS. Genetske varijacije i promjenjivi čimbenici okoliša kao što su infekcije, autoimune reakcije ili nedostatak vitamina D čimbenici su koji bi mogli pridonijeti razumijevanju tih slučajeva (10,11).

Obzirom da ja bolest multifaktorijalna, a prevencija ipak najučinkovitija još uvijek tragamo za novim čimbenicima rizika i markerima bolesti, a jedan od njih mogao bi biti serumska koncentracija vitamina D.

Odnos vitamina D i kardiovaskularnog morbiditeta proučavan je zadnja četiri desetljeća. Prva opažajna epidemiološka istraživanja o kardiovaskularnim bolestima ukazuju na porast mortaliteta zimi i na višim geografskim širinama, te nižim mortalitetom na višim nadmorskim visinama što autori hipotetski tumače da veća UV radijacija povećava razinu vitamina D, koji ima zaštitni učinak na kardiovaskularne bolesti (61). Od 2008. počinju se objavljivati rezultati kohortnih istraživanja provedenih na izoliranim zajednicama koji ukazuju na recipročnu povezanost razine vitamina D u krvi i rizika razvoja kardiovaskularnih bolesti ili umiranja tijekom razdoblja praćenja (62-67). Važno je naglasiti da u navedenim studijama kohortu činili ljudi stariji od 65 godina. Uzorci kohorte formirane su iz populacijskih registara. Nadalje, manja studija istraživanja parova na heterogenoj skupini ispitanika uzetih iz dvaju populacijskih registara u Sjedinjenim Američkim Državama objavljena 2011. nije našla značajnu razliku u vrijednosti razine vitamina D u plazmi u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom i kontrola. Važno je naglasiti da je ispitivač proučavao izrazito heterogene skupine i nije imao podatke o uzimanju suplementa vitamina D i kalcija. Dokazali su da etnička pripadnost, spol, dob i tjelesna težina, te 2 od 11 analiziranih pojedinačnih nukleotidnih polimorfizama (SPN) na 7 gena uključenih u metabolizam vitamina D imaju nezavisnu povezanost s razinom vitamina D u serumu (68).

Grupa autora s Mayo klinike, u srpnju 2011. objavila je rezultate meta analize 51 objavljene studije do kolovoza 2010. koja je proučavala povezanost razine vitamina D, hipertenzije, kalcifikacije koronarnih arterija i bolesti srca. Svojim radom željeli su sažeti dokaze o utjecaju vitamina D na kardiovaskularne ishode. I njihovi rezultati iz

raspoloživih podataka nisu pokazali statistički značajno smanjenje smrtnosti i kardiovaskularnog rizika povezanog s insuficijencijom vitamina D (69).

Za razliku spomenute studije u studenom 2012. objavljeni su rezultati danske skupne istraživača i njihovog do tada najvećeg kohortnog prospektivnog istraživanja (eng. The Cophenhagen City Heart study) provedenog na općoj populaciji Kopenhagena. Mjerena je vrijednost 25(OH) vitamina D u više od 10 000 Danaca, koji su praćeni 29 godina ili do razvoja ishemične bolesti srca, srčanog infarkta ili smrti. Ovi autori u opažajnom istraživanju uočili su statistički značajno veći rizik od razvoja ishemične bolesti srca, infarkta miokarda i rane smrti u praćenih bolesnika sa sniženom razinom vitamina D. Svoja opažanja su potkrijepili i meta analizom objavljenih studija koje su proučavale povezanost razine vitamina D i rizika od ishemične bolesti srca ili rane smrti čiju su rezultati objavljeni na Pub Med-u do siječnja 2011. Tim studijama obuhvaćena je heterogena populacija, pratila se sezonska varijacija vitamin D i fortifikacija u pojedinim zemljama (70). Rezultati navedenih istraživanja su oprečna. Velik broj dokaza upućuje na vezu između vitamina D i kardiovaskularnih bolesti, ali dostupni podaci su još uvijek nedovoljni za zaključiti da niska razina vitamina D dovodi do povećanja kardiovaskularnog rizika.

U tim prilikama je 2012. započeto ovo prospektivno istraživanje u kojem su po prvi puta u Republici Hrvatskoj izmjerene serumske koncentracije 25(OH)D u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom i uspoređene sa serumskom koncentracijom 25(OH)D u kontrolnoj skupini ispitanika iste dobi, BMI-ja i spola koji ne boluju od akutnog koronarnog sindroma, a imaju jedna ili više čimbenika za kardiovaskularnu bolest. U našem istraživanju ispitivana populacija bolesnika bila je homogena, ispitivane su skupine prema tri gore spomenuta pokazatelja bile vrlo slične i nisu se značajno razlikovale niti u drugim važnim kliničkim pokazateljima poput prevalencije šećerne bolesti, hipertenzije i hiperlipidemije (tablica 5.1.1.).

U skupini ispitanika s akutnim koronarnim sindromom dokazali smo statistički značajno nižu serumsku koncentraciju 25(OH)D-a u odnosu na kontrolnu skupinu (Studentov t-test, $p<0,001$). U 80% bolesnika s akutnim koronarnim sindromom potvrđena je insuficijencija ili deficijencija vitamina D što je u skladu s podatcima istraživanja koji povezuju kardiovaskularne bolesti i mnoge njihove čimbenike rizika s deficijencijom vitamina D (71-74).

U 27% ispitanika kontrolne skupine zabilježena je insuficijencija vitamina D. Procjene statusa vitamina D u različitim europskim zemljama pokazuju velike razlike.

Prevalencija nedostatka vitamina D, prema objavljenim radovima, kreće se između 2 i 30% u odraslih Europljana, a taj broj prema nekim studijama raste do 75% u institucionaliziranih starijih osoba (75). Nedostatak vitamina D postao je javno zdravstveni problem.

U znanstvenoj javnosti podijeljena su mišljenja o tome koja je razina vitamina D dostatna u organizmu. Otkrićem receptora vitamina D u gotovo svim tjelesnim stanicama; kao stanicama imunosnog sustava, vaskularnim ili miokardnim stanicama, dokazana je raznovrsnija uloga vitamina D nego što je to ranije prihvaćeno. To je dovelo do opsežnih istraživanja o ulozi vitamina D u patogenezi kroničnih ne-koštanih bolesti, poput zaraznih, autoimunih, malignih ili kardiovaskularnih bolesti (42-45, 76). Više o tome navedeno je u odjeljcima 1.6.3. i 1.6.4.

Među stručnim tijelima postoje, dakle, varijacije u pogledu graničnih vrijednosti za nedovoljnu razinu vitamina D. Serumska koncentracija 25(OH)D-a od 50 nmol/l (20 ng/ml) prihvaćena je kao dostatna razina vitamina D koja zadovoljava potrebe kod najmanje 97,5% stanovništva u svim dobnim skupinama (38,77). Preporuka o graničnoj vrijednosti od 50 nmol/l temelji se na dokazima o potrebnoj razini vitamina D za zdravlje kosti, a zagovara je američki Institut za medicinu. S druge strane, prema preporukama Američkog društva za gerijatriju, Međunarodne zaklade za osteoporozu i američkog Društva za endokrinologiju, smatra se da je za smanjenje rizika prijeloma i padova u starijih osoba potrebna razina 25(OH)D-a od 75 nmol/l (78). Različite granične vrijednosti pojedinih stručnih društava navedene su u tablici 1.6.1.

Obje skupine ispitanika su imale nisku razinu vitamina D po preporukama američkog Društva za endokrinologiju, američkog Društva za gerijatriju i Međunarodne zaklade za osteoporozu. Koristeći kriterije američkog Instituta za medicinu, vidi se statistički značajna razlika u udjelima insuficijencije i deficijencije vitamina D kod bolesnika s akutnim koronarnim sindromom i kontrolnom skupinom (tablica 5.2.1) (slika 5.2.2) .

Smatramo da je značajno niža prosječna koncentracija 25(OH)D-a u serumu posljedica povezanosti hipovitaminoze D s patofiziologijom akutne koronarne bolesti, a ne posljedica djelovanja neprepoznatih “confounding“ faktora. Razlika u koncentraciji 25(OH)D-a nije bila značajna samo statistički nego i klinički.

Brodsko-posavska županija nalazi se na 45. stupnju sjeverne geografske širine što onemogućava, odnosno značajno smanjuje sintezu vitamina D u koži pri izlaganju suncu u jesenskom i zimskom periodu. Radi posljedičnih sezonskih varijacija u statusu

vitamina D, istraživanje se provodilo u razdoblju od ožujka do listopada (79). Naime, iako bi se i u periodu od listopada do ožujka mogla očekivati razlika u prevalenciji hipovitaminoze D između eksperimentalne i kontrolne skupine, dobivene vrijednosti 25(OH)D-a mogle bi biti značajno niže u obje skupne ispitanika pa bi time prevalencija hipovitaminoze D mogla biti lažno visoka. Ispitivanje u jesenskom i zimskom periodu te u primorskom kraju moguće je stoga kao nastavak istraživanja. Namirnice u Hrvatskoj uobičajeno se ne obogaćuju vitaminom D, a prosječna konzumacija ribe (poglavito masne ribe, kao prirodnog izvora vitamina D) je malena. Nadoknada vitamina D rutinski se propisuje samo djeci do dvije godine života te ženama s dijagnosticiranom osteoporozom, i to uz, nažalost, lošu suradljivost bolesnica pri uzimanju suplemenata (42).

Smanjeno izlaganje suncu, zagađenost atmosfere, niska tjelesna aktivnost, starija životna dob, osteoporoza, malapsorpcija i druge bolesti probavnog trakta, bolesti jetre i gušterače, maligne bolesti, kao i upotreba brojnih lijekova, značajno snižava koncentraciju vitamina D (80-82). Potvrđena je povezanost polipragmazije u gerijatrijskoj populaciji s manjkom vitamina D (83). Osobe s gore navedenim osobinama ili stanjima su izuzete iz istraživanja. Isključene su i osobe starije od 70 godina.

Dosadašnja istraživanja o vitaminu D provedena u RH, vezana uz osteoporozu, potvrdila su da tri četvrtine žena u postmenopauzi ima koncentraciju 25(OH)D-a manju od 50 nmol/l (20ng/ml) (53,54). Slične rezultate imaju i bolesnice s akutnim koronarnim sindromom u našem istraživanju, a razine vitamina D su bile niže u odnosu na muškarce (30,85 nmol/L prema 37,35 nmol/L). U svom radu isto pokazuje i G. Rodrigues sa suradnicima, gdje je potvrđena spolna razlika serumske razine vitamina D u akutnom koronarnom sindromu, ali nije nađena značajna razlika u vrijednosti serumske razine vitamina D između bolesnika s akutnim koronarnim sindromom i kontrola. Važno je naglasiti da je ispitivačica proučavala izrazito heterogene skupine i nije imala podatke o uzimanju suplementa vitamina D i kalcija (68). Verdoia je u svom radu pokazao da spol značajno utječe na razinu vitamina D, te da uočene niže koncentracije 25(OH) vitamina D kod žena imaju značajniji utjecaj na težinu koronarne bolesti u odnosu na muškarce (84). Važno je istaknuti da su žene s AKS u većini studija starije u odnosu na muškarce, zbog čega se i lošija prognoza žena uglavnom pripisuje njihovoj dobi (85).

Iako je pretilost prepoznata kao nezavisni čimbenik rizika nedostatka vitamina D u našem istraživanju nije potvrđena negativna korelacija indeksa tjelesne mase s

vitaminom D. Većina ispitanika nije bila pretila, prosječna vrijednosti BMI iznosila je u ispitivanim skupinama 27 i 28 kg/m^2 (tablica 5.1.1). Pretile osobe (BMI >30 kg/m^2) imaju nižu prosječnu koncentraciju 25(OH)D-a od osoba normalne tjelesne težine i posljedično tome, višu vrijednost PTH. Glavni je razlog smanjena bioraspoloživost vitamina D (ponajprije onog sintetiziranog u koži) zbog pohrane u masnom tkivu. Manje važan dodatni razlog jest smanjena pokretljivost pretilih osoba, niža razina tjelovježbe i zbog toga smanjeno izlaganje suncu. Smanjena pokretljivost vjerojatno postaje važniji razlog nedostatka vitamina D tek u morbidno pretilih osoba (BMI >40 kg/m^2) (86,87).

Pušenje kao stil života je i dalje značajno zastupljeno među stanovništvom u Republici Hrvatskoj, a osobito u našoj županiji, što potvrđuje i naše istraživanje (88). Unatoč visokom udjelu pušača u obje skupine, postoji statistička značajnost u skupini s AKS u odnosu na kontrolu. Pušači s AKS-om su u odnosu na nepušače s AKS-om imali neznačajno više prosječne vrijednosti 25(OH)D-a, što nije potvrđeno u drugim studijama. Mahdavi i suradnici su u svojoj studiji imali 30% pušača među ispitanicima s AKS i kod njih su dokazali statistički značajno niže vrijednosti vitamina D u odnosu na nepušače (89). Takve je rezultate za sad teško protumačiti, obzirom na činjenicu da je u našoj kontrolnoj skupini ispitanika koncentracija vitamina D bila nešto niža među pušačima, nego u AKS skupini. Unatoč poznatom proupalnom djelovanju dima cigarete i protuupalnog djelovanja vitamina D za sad ne postoje radovi koji proučavaju njihove međuodnose.

Velik broj bazičnih i kliničkih istraživanja podupiru ulogu vitamina D u patogenezi dijabetesa tipa 1 i tipa 2 (90,91). Insuficijencija vitamina D povezuje se s disfunkcijom beta stanica gušterače, poremećajem sinteze i sekrecije inzulina, inzulinskom rezistencijom i kroničnom upalom gušterače koji utječu na kontrolu glikemije i mogu pogodovati nastanku šećerne bolesti (92-94). U odnosu na sve promatrane podskupine, osobe s dijabetesom u skupini s AKS-om su imale najniže prosječne vrijednosti serumske koncentracije vitamina D (30,45±15,05 nmol/l). U svojim radovima Rodrigues i Mahdavi ukazuju na povezanost niske serumske koncentracije vitamina D i šećerne bolesti u bolesnika s preboljelim srčanim infarktom (68, 89). Najnovija istraživanja pokazuju da su niske koncentracije vitamina D povezane s povećanim rizikom od makrovaskularnih i mikrovaskularnih komplikacija u dijabetesu tipa 2, što odgovara i našim rezultatima (95). Osobe oboljele od šećerne bolesti s deficijencijom vitamina D imaju dodatno povišen kardiovaskularni rizik za

razvoj akutnog koronarnog sindroma. Upravo te osobe potrebno je prepoznati i stratificirati kao visoko rizične bolesnike s ciljem agresivnije modifikacije rizičnog profila i primarne prevencije neželjenih kardiovaskularnih događaja. Za potvrdu tih pretpostavki potrebna su daljnja randomizirana klinička istraživanja.

U istraživanju je bilo teško razjasniti potencijalne korelacije između vrijednosti LDL i HDL-kolesterola i koncentracije vitamina D zbog terapije statinima koje je uzimala većina ispitanika u obje skupine. Nitko od ispitanika nije uzimao fibrate niti ezetimib. Negativna korelacija koncentracije triglicerida i vitamina D među bolesnicima s AKS-om nije bila statistički značajna, ali je u skladu s rezultatima ranijeg istraživanja Yiu i suradnika gdje se niska koncentracija vitamina D povezuje s povećanim rizikom za metabolički sindrom, porast koncentracije triglicerida, glukoze natašte i inzulinske rezistencije (96). Poznato je da postoje genske varijante koje utječu na serumsku koncentraciju triglicerida povezane s rizikom za koronarnu bolest što nije bio predmet našeg istraživanja (97).

Odnosi između serumske razine vitamina D i ateroskleroze za sada nisu u potpunosti razjašnjeni. Rezultati nekih istraživanja ukazuju na to da bi razina vitamina D mogla biti prediktor kalcifikacije koronarnih arterija, koja predstavlja osjetljivu mjeru subkliničke ateroskleroze koronarnih arterija i snažan kardiovaskularni čimbenik rizika (98). Potencijalne posljedice nedostatka vitamina D uključuju pogoršanje ateroskleroze; ubrzanje arterijskih kalcifikata, upalu i endotelnu disfunkciju što dovodi do povećanog rizika od kardiovaskularnih događaja (99). U skladu s tim su i naši rezultati, niža serumska koncentracija vitamina D bila je među bolesnicima s akutnim koronarnim sindromom sa STEMi-jem u odnosu na bolesnike sa NSTEM/UA, ali razlika nije bila statistički značajna.

Prema nalazima angiografije koronarnih arterija ispitanika s akutnim koronarnim sindromom težina koronarne bolesti negativno korelira sa serumskom razinom vitamina D. Slične rezultate pokazuje i Correia sa suradnicima; u stabilnoj koronarnoj bolesti pokazao je povezanost između insuficijencije vitamina D i težine aterosklerotskog nalaza (100). Lim i suradnici dokazuju povezanost tek kod značajne stenoze koronarnih arterija (101). U zadnjem radu Verdoia i suradnici su našli značajnu povezanost nedostatka vitamina D i teške koronarne bolesti, samo u bolesnika sa deficijencijom vitamina D u akutnom koronarnom sindromu (102). Goleniewska i suradnici u svom radu nisu našli povezanost između razine vitamina D i težine koronarografskog nalaza u bolesnika s prvim STEMI-jem (103).

Nedostatak vitamina D uočen je bolesnika s akutnim koronarnim sindromom. Započete preliminarne studije ukazuju na moguću povezanost nedostatka vitamina D s prognozom. Za sada uvjerljivi dokazi koji potvrđuju mogući utjecaj insuficijencije ili deficijencije vitamina D na morbiditet i mortalitet pacijenata s akutnim koronarnim sindromom još uvijek nedostaju (104).

Dugotrajno praćenje ispitanika (36 mjeseci) omogućilo je i promatranje pojavnosti velikih nepoželjnih kardiovaskularnih događaja (reinfarkt, revaskularizacija odgovorne lezije, ponovna hospitalizacija zbog srčanog zatajenja, moždani udar i smrt) ovisno o serumskoj koncentraciji vitamina D u akutnoj fazi AKS.

Biološki mehanizam djelovanja niske serumske koncentracije vitamin D u akutnom koronarnom sindromu nije jednostavan. Može se pretpostaviti da je učinak vitamina D u patofiziologiji akutne koronarne bolesti dvojak: jedan izravno imunomodulirajući i drugi, neizravnim djelovanjem na poznate klasične čimbenika rizika za kardiovaskularnu bolest.

Upala igra ključnu ulogu u patogenezi AKS-a i ateroskleroze (47,48). U odjeljku 1.6.3. je prikazano da $1,25(OH)_2D$ pokazuje protuupalno i imunosupresivno djelovanje, modulirajući brojne citokine i kostimulatorne molekule (49,50).

Postoje dokazi da vitamin D suprimira renin angiotenzinski sustav i utječu na endotelnu funkciju, funkciju trombocita, inzulinsku otpornost i krvni tlak (105-107).

Svi ti učinci su značajni tijekom akutnog koronarnog sindroma i utječu na klinički tijek pacijenta. Osim toga, niska razina vitamina D povezuje se nadalje i s disfunkcijom klijetke i srčanim remodeliranjem nakon srčanog infarkta, te sa srčanim zatajenjem i iznenadnom srčanom smrti (108-112). Tako je za pretpostaviti da razina vitamina D može utjecati na kratkoročne i dugoročne ishode bolesnika s preboljelim akutnim koronarnim sindromom. Prognoza akutnog kornarnog sindroma je procijenjena na osnovu parametara koji definiraju veliki neželjeni kardijalni događaj.

Svojim istraživanjem pokazali smo nisku serumsku koncentraciju vitamina D u akutnoj fazi AKS; ali nismo uspjeli dokazati značajnu povezanost niske serumske koncentracije vitamina D i prognoze u trogodišnjem praćenju incidencije velikih nepoželjnih kardiovaskularnih događaja. To je u skladu s poznatim spoznajama da vitamin D nije jedini čimbenik progresije aterosklerotske bolesti, te da je bolest multifaktorijalna.

U posljednjih nekoliko godina, raste interes za moguće posljedice niske razine vitamina D u akutnom koronarnom sindromu. U svom radu Correia i suradnici ukazuju

na moguću nezavisnu povezanost između nedostatka vitamina D i unutar bolničke kardiovaskularne smrtnosti (100). Ng i suradnici potvrdili su povezanost najniže koncentracije vitamina D i dugoročno nepovoljnih nesmrtonosnih kardiovaskularnih ishoda u bolesnika s akutnim koronarnim sindrom (113). De Metrio i suradnici nisu dokazali razliku u smrtnosti između bolesnika s akutnim koronarnim sindromom s normalnim i niskim razinama vitamina D (114). Trenutno dostupni podaci ne nude jednoznačan odgovor o kliničkoj značajnosti nedostataka vitamin D u akutnom koronarnom sindromu, sve studije imaju mali broj ispitanika.

Ova studija je mala i ima ograničenja; uključili smo populaciju hospitaliziranu u jednom centru. Mala studijska populacija smanjuje snagu analize preživljavanja bez događaja, tako dobiveni rezultati ne mogu primijeniti na opću populaciju pacijenata s akutnim koronarnim sindromom. Naši podaci su samo za generiranje hipoteza, jer oni ne pružaju dokaze koji podupiru uzročnu vezu, a oni zahtijevaju potvrdu u prikladno randomiziranom kliničkom ispitivanju.

Prednost ovog istraživanja je detaljan opis karakteristika sudionika i ovisnih varijabli. Određivanje koncentracije vitamina D je rađeno u jednom laboratoriju, te je na taj način izbjegnuta međulaboratorijska varijabilnost. Uzorak ispitanika je bio dovoljno velik da se razlika među skupinama proglasi statistički značajnom, jer je razlika među skupinama bitno veća.

Prognostička i kardioprotektivna uloga vitamina D još nije jasna. Naši rezultati ukazuju na nisku serumsku koncentraciju vitamina D kod ispitanika s akutnim koronarnim sindromom na statistički značajnoj razini.

Prognoziranje tj. predviđanje AKS-a na osnovu karakteristika aterosklerotskog plaka, razine kardioselektivnih biomarkera ili procjene genskog rizika (22), nije se pokazalo uspješnijim u odnosu na dosadašnje standardne procjene rizika, poput kalkulatora SCORE (od engl. “Systematic COronary Risk Evaluation“) ili Framinghamskog kalkulatora rizika koronarne bolesti srca, u kojima se u obzir uzimaju tradicionalni faktori rizika. Nekonvencionalne strategije potencijalno će u budućnosti biti korisne u prognoziranju AKS-a u bolesnika s niskom ili umjerenim rizikom (116). S obzirom na nesavršenu prediktivnu vrijednost standardnih metoda procjene rizika u kojima se u obzir uzimaju klasični čimbenici rizika, neophodno je potpuno razumijevanje patofiziologije događaja koji rezultira AKS-om (10). To znanje bi nam omogućilo identificiranje visokorizičnih bolesnika i, nadamo se, dovelo do razvoja novih farmakoterapijskih pristupa u liječenju AKS-a.

U budućnosti se od genomike, proteomike, metabolomike i sustavnih biologijskih pristupa očekuje rasvjetljavanje patofiziologije AKS-a. Poboljšane slikovne metode trebale bi pomoći u utvrđivanju prirodnog tijeka nastanka aterosklerotskog plaka. Prevencija koronarne bolesti može biti usmjerena na sprječavanje čimbenika rizika ateroskleroze, što se naziva primordijalnom prevencijom. U fokusu primordijalne prevencije su djeca i adolescenti, a primjeri strategija mogu biti promjene prehrambenih navika i raniji početak primjene statina u osoba s nepovoljnim lipidnim profilom. Inovativni terapijski pristupi uključuju terapiju pluripotentnim matičnim stanicama, primjerice u liječenju zatajenja srca nakon infarkta miokarda. Također se očekuje daljnji napredak farmakogenomike kao preduvjeta razvoja personalizirane medicine, dok se u daljoj budućnosti može očekivati napredak genske terapije (116). U razvoju su također i različite strategije liječenja usmjerene protiv upalnih reakcija, važnih u procesu aterogeneze gdje bi upravo mogla biti potencijalna uloga i vitamina D.

Ostaje nepoznato koja je serumska razina vitamina D kardioprotektivna i kroz koje vrijeme ju je potrebno održavati za prevenciju velikih nepoželjnih kardiovaskularnih događaja. Potrebno je razmotriti način, vrstu i trajanje nadoknade vitamina D. Odgovore očekujemo od velikih budućih randomiziranih kliničkih studija.

7. ZAKLJUČCI

1. Serumska koncentracija vitamina D je smanjena kod ispitanika s akutnim koronarnim sindromom u odnosu na kontrolnu skupinu.

2. Smanjena serumska koncentracija vitamina D mogući je biomarker visokog kardiovaskularnog rizika.

3. Smanjena koncentracija vitamina D u bolesnika sa šećernom bolesti i hipertrigliceridemijom može upućivati na dodatno povećan rizik za razvoj akutne koronarne bolesti.

4. Teži nalaz koronarne bolesti povezan je s manjom serumskom koncentracijom vitamina D u ispitanika s akutnom koronarnom bolesti što može govoriti o zaštitnom učinku vitamina D na progresiju aterosklerotske koronarne bolesti.

5. Smanjena serumska koncentracija vitamina D u akutnom koronarnom sindromu ne utječe na prognozu bolesti.

8. SAŽETAK

Povezanost serumske koncentracije vitamina D i akutnog koronarnog sindroma u Brodsko-posavskoj županiji

Uvod i cilj istraživanja

Nedostatak vitamina D predstavlja veliki javnozdravstveni problem. Procjenjuje se da se prevalencija nedostatka vitamina D u populaciji odraslih Europljana kreće između 2 i 30%. Cilj ovog rada bio je ispitati odnos serumske koncentracije 25(OH)D-a u bolesnika akutnim koronarnim sindromom (AKS), težinom koronarografskog nalaza i prognozom pacijenata kroz tri godine praćenja.

Ispitanici i metode

U istraživanje je ukupno uključeno 120 pacijenata. Eksperimentalnu skupinu je činilo 60 bolesnika (od toga 40 muškaraca (67%), sa srednjom dobi od 58 godina) hospitaliziranih na kardiologiji sAKS-om između ožujka i listopada 2012. godine. U kontrolnu skupinu je u istom razdoblju uključeno 60 pacijenata (od toga 38 muškaraca (63%), sa srednjom dobi od 58,5 godina) bez AKS-a i s barem jednim poznatim čimbenikom rizika za kardiovaskularnu bolest (KVB). Svim pacijentima su učinjene laboratorijske pretrage i određena koncentracija 25(OH)D-a i PTH. Pacijentima s AKS-om učinjena je koronarografija i praćeni su kroz 36 mjeseci.

Rezultati

Pacijenti s AKS-om imali su statistički značajno nižu razinu 25(OH)D-a u odnosu na kontrolnu skupinu (35,19 nmol/l prema 58,08 nmol/l, $p<0.001$). Dijabetičari s AKS-om su imali najnižu serumsku koncentraciju 25(OH)D-a (30,45 nmol/l). Pacijenti s AKS-om su s obzirom na težinu koronarne bolesti podijeljeni u tri podskupine, te se serumska koncentracija 25(OH)D-a smanjivala s porastom težine koronarne bolesti (36,44 nmol/l, 33,65 nmol/li 31,70 nmol/l). Šezdeset posto pacijenata s preboljelim AKS-om kroz 36 mjeseci praćenja nije doživjelo veliki neželjeni kardijalni događaj (MACE). Pacijenti koji su doživjeli MACE imali su nižu serumsku koncentraciju 25(OH)D-a, ali ta razlika nije bila statistički značajna (32,64 nmol/l prema 37,01 nmol/l).

Zaključak

Serumska koncentracija vitamina D je smanjena kod bolesnika s akutnim koronarnim sindromom. Smanjena koncentracija vitamina D u bolesnika sa šećernom bolesti može upućivati na dodatno povećanje rizika za razvoj akutne koronarne bolesti. Smanjena serumska koncentracija vitamina D je povezana s težinom koronarne bolesti, ali ne utječe na prognozu. Snižena serumska koncentracija vitamina D mogući je biomarker visokog kardiovaskularnog rizika.

9. SUMMARY

Correlation of serum concentrations of vitamin D and acute coronary syndrome in Brod-Posavina County

Background and aim

Vitamin D deficiency represents a major public health problem. It is estimated that the prevalence of vitamin D deficiency in adult Europeans is between 2 and 30%. The objective of this study was to determine the relationship of 25(OH)D serum concentration and the extent of coronary artery disease at coronarography as well as with prognosis of patients with acute coronary syndrome (ACS) during a three-year follow up period.

Subjects and Methods

The study included 60 ACS patients hospitalized at cardiology department for ACS between March 2012 and October 2012 and 60 matched controls without ACS. Standard laboratory testing and vitamin D determination were performed in all study patients. In addition, ACS patients underwent coronarography and were followed-up for 36 months for ACS for major adverse cardiac event (MACE).

Results

Patients with ACS had a statistically significantly lower mean 25(OH)D level as compared with control group (35,19 nmol/l vs. 58,08 nmol/l, $p<0.001$). The lowest mean level of 25(OH)D was recorded in diabetic patients with ACS (30,45 nmol/l). After coronarography, ACS patients were divided into three subgroups regarding coronary artery disease severity: single, double and multiple vessel disease with 25(OH)D serum levels of 36,44 nmol/l, 33,65 nmol/l and 31,70 nmol/l, respectively. Event free survival rate at 36 months in the ACS group was 60%. Patients with a MACE had lower average 25(OH)D level, but the difference was not statistically significant (32,64 nmol/l vs. 37,01 nmol/l in event-free patients).

Conclusion

Serum vitamin D concentration is low in ACS. Decreased levels of vitamin D in diabetic patients increases the risk of ACS. Low vitamin D levels correlated with the

severity of coronary artery disease, but does not influence prognosis in ACS patients. Low vitamin D serum concentration can be used as a biomarker connected with ACS as a cardiovascular disease.

Key words: Acute Coronary Syndrome; Coronary Angiography; 25-hydroxyvitamin D; Diabetes; Vitamin D Deficiency

10. LITERATURA

1. Kralj V, Brkić Miloš I. Svjetski dan srca. Dostupno na: www.hzjz.hr/epidemiologija/kron_mas/dan_srca12.htm[29.10.2015]
2. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. N Engl J Med 2005;352:1685-95.
3. Yusuf A, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact or urbanization. Circulation 2001;104:2746-53.
4. Yancy WS Jr, Westman EC, French PA, Califf RM. Diets and clinical coronary events: the truth is out there. Circulation 2003;107:10-6.
5. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. Lancet 1992;339:1523-6.
6. Grimes DS, Hindle E, Dyer T. Respiratory infection and coronary heart disease: progression of a paradigm. QJM 2000;93:375-83.
7. Evans GW, Hygge S, Bullinger M. Chronic noise and psychological stress. Psychol Sci 1995;6:333-8.
8. Gjonça A, Bobak M. Albanian paradox, another example of protective effect of Mediterranean lifestyle? Lancet 1997;350:1815-7.
9. Singh RB, Niaz MA, Ghosh S, Beegom R, Agarwal P, Nangia S, Moshiri M, Janus ED. Low fat intake and coronary artery disease in a population with higher prevalence of coronary artery disease: the Indian paradox. J Am Coll Nutr 1998;17(4):342-50.
10. Berry JD, Dyer A, Cai X, Garside DB, Ning H, Thomas A, Greenland P, Van Horn L, Tracy RP, Lloyd-Jones DM. Lifetime risks of cardiovascular disease. N Engl J Med 2012;366:321-9.
11. Kim DH, Sabour S, Sagar UN, Adams S, Whellan DJ. Prevalence of hypovitaminosis D in cardiovascular diseases (from the National Health and Nutrition Examination Survey 2001 to 2004). Am J Cardiol 2008;102:1540-4.
12. Lips P. Vitamin D status and nutrition in Europe and Asia. J Steroid Biochem Mol Biol 2007;103:620-5.
13. Virchow R, Osler W, Welch WH. Cellular Patology. Birmingham, Ala.: The Classics of Medicine Library, Division of Gryphon Editions, 1978.

14. Ross R, Glomset JA. The pathogenesisof atherosclerosis (first of two parts). N Engl J Med 1976;295:369-77.
15. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. Nature 2002; 420:868-74.
16. Badimon L,Vilahur G, Padro T. Lipoproteins, platelets and atherothrombosis. Rev Esp Cardiol 2009;62:1161-78.
17. Hansson GK. Atheroclerosis - An immune disease: The Antischkov Lecture 2007. Atheroschlerosis 2009;202:2-10.
18. Matsuura E, Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Turiel M, Lopez LR, Nurmohamed MT. Is atherosclerosis an autoimune disease? BMC Med 2014;12:47.
19. Shirai T, Hilhorst M, Harrison DG, Goronzy JJ, Weyand CM. Macrophages in vascular inflammation-from aherosclerosisi to vasculitis. Autoimmunity 2015;48:139-51.
20. Lusis AJ. Genetics of atherosclerosis. Trends Genet 2012;28:267-75.
21. Ho E, Bhindi R, Ashley EA, Figtree GA. Genetic analysis in cardiovascular disease: a clinical perspective. Cardiol Rev 2011;19:81-9.
22. Thanassoulis G, Peloso GM, Pencina MJ, Hoffmann U, Fox CS, Cupples LA, Levy D, D'Agostino RB, Hwang SJ, O'Donnell CJ. A genetic risk score is associated with incident cardiovascular disease and coronary artery calcium: the Framingham Heart Study. Circ Cardiovasc Genet 2012;5:113-21.
23. Wassermann EJ, Shipley NM. Atherothrombosis in acute coronary syndromes: mechanisms, markers, and mediators of vulnerability. Mt Sinai J Med 2006;73:431-9.
24. Virmani R, Burke AP, Farb A, Kolodgie FD. Pathology of the vulnerable plaque. J Am Coll Cardiol 2006;47:C13-8.
25. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS et al. Third universal definition of myocardial infarction.J Am Coll Cardiol. 2012;60:1581-98.
26. Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology (ESC), Steg PG, James SK, Atar D, Badano LP, Blömstrom-Lundqvist C, Borger MA, Di Mario C, Dickstein K, Ducrocq G, Fernandez-Aviles F, Gershlick AH, Giannuzzi P, Halvorsen S, Huber K,Juni P, Kastrati A, Knuuti J, Lenzen MJ, Mahaffey KW, Valgimigli M, van 't Hof A, Widimsky P, Zahger D.ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. Eur Heart J 2012;33:2569-619.

27. Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, Bax J, Boersma E, Bueno H, Caso P, Dudek D, Gielen S, Huber K, Ohman M, Petrie MC, Sonntag F, Uva MS, Storey RF,Wijns W, Zahger D; ESC Committee for Practice Guidelines. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J 2011;32:2999-3054.
28. Claassen M, Sybrandy KC, Appelman YE, Asselbergs FW. Gender gap in acute coronary heart disease: Myth or reality? World J Cardiol 2012;4:36-47.
29. Bikle D. Nonclassic actions of vitamin D. J Clin Endocrinol Metab 2009:94:26-34.
30. Baeke F, Takiishi T, Korf H, Gysemans C, Mathieu. Vitamin D: modulator of the immune system. Curr Opin Pharmacol 2010;10:482-96.
31. Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP, Burckhardt P, wson-Hughes B, Eisman JA, El-Hajj FG, Josse RG, Lips P, Morales-Torres J, IOF Committee of Scientific Advisors (CSA) Nutrition Working Group.Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. Osteoporos Int 2009;20:1807-20.
32. Pilz S, Tomaschitz A, Obermayer-Pietsch B, Dobnig H, Pieber TR. Epidemiology of vitamin D insufficiency and cancer mortality. Anticancer Res 2009;29:3699-704.
33. Judd SE, Tangpricha V. Vitamin D deficiency and risk for cardiovascular disease. Am J Med Sci 2009;338:40-4.
34. Adams JS, Liu PT, Chun R, Modlin RL, Hewison M. Vitamin D in defense of the human immune response. Ann N Y Acad Sci 2007;1117:94-105.
35. DeLuca HF. Evolution of our understanding of vitamin D. Nutr Rev. 2008;66:S73-87.
36. Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic and consequences for nonskleletal health: mechanisms of action. Mol Aspect Med 2008;29:361-8.
37. Lee JH, O'Keefe JH, Bell D, Hensrud DD, Holick MF. Vitamin D deficiency an important, common, and easily treatable cardiovascular risk factor? J Am Coll Cardiol 2008;52:1949-56.
38. Ross C, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB. (eds.) Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington, DC: National Academy Press, 2010.

39. Prosser DE, Jones G. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. Trends Biochem Sci 2004;29:664-73.
40. Omdahl JL, Morris HA, May BK. Hydroxylase enzymes of the vitamin D pathway: expression, function, and regulation. Annu Rev Nutr 2002;22:139-66.
41. Zella LA, Shevde NK, Hollis BW, Cooke NE, Pike JW. Vitamin D-binding protein influences total circulating levels of 1,25-dihydroxyvitamin D3 but does not directly modulate the bioactive levels of the hormone in vivo. Endocrinology 2008;149:3656-67.
42. Laktasić-Zerjavić N, Korsić M, Crncević-Orlić Z, Anić B. Vitamin D: vitamin from the past and hormone of the future. Lijec Vjesn 2011;133:194-204.
43. Lips P. Vitamin D physiology. Prog Biophys Mol Biol 2006;92:4-8.
44. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, Lieben L, Mathieu C, Demay M. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. Endocr Rev 2008;29:726-76.
45. Bikle D. Nonclassic actions of vitamin D. J Clin Endocrinol Metab 2009;94:26-34.
46. Sun J. Vitamin D and mucosal immune function. Curr Opin Gastroenterol 2010;26:591-5.
47. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease.N Engl J Med 1999;340:115-26.
48. von Essen MR, Kongsbak M, Schjerling P, Olgaard K, Odum N, Geisler C. Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. Nat Immunol2010;11:344-9.
49. Oshawa M, Koyama T, Yamamoto K, Hirosawa S, Kamei S, Kamiyama R. 1 alpha,25 dihydroxyvitamin D(3) and its potent synthetic analogs downregulate tissue factor and upregulate thrombomodulin expression in monocytic cells, counteracting the effects of tumor necrosis factor and oxidized LDL. Circulation 2000;102:2867-72.
50. Koenig W. Heart disease and inflammatory response. BMJ 2000;321:187-8.
51. Strawn WB, Chappell MC, Dean RH, Kivlighn S, Ferrario CM. Inhibition of early atherogenesis by losartan in monkeys with diet-induced hypercholesterolemia. Circulation 2000;101:1586-93.
52. Kristal-Bonch E, Froom P, Harari G, Ribak J. Association of calcitriol and blood pressure in normotensive men. Hypertension 1997;30:1289-94.

53. Kraljević I, Kastelan D, Gorsić I, Solak M, Giljević Z, Kasović M, Sertić J, Korsić M.Vitamin D deficiency in postmenopausal women receiving osteoporosis therapy.Lijec Vjesn. 2007 Aug-Sep;129(8-9):304.
54. Laktašić Zerjavic N, Koršić M, Crnčević Orlić Z, Kovač Z, Polašek O, Soldo Jureša D. Vitamin D status dependence on age and seasonal variations in the concentration of vitamin D in Croatian postmenopausal women initially screened for osteoporosis. Clin Rheumatol 2010;29:861-7.
55. Bruyere O, Malaise O, Neuprez A, Collette J, Reginster JY. Prevalence of vitamin D inadequacy in European postmenopausal women. Curr Med Res Opin 2007;23:1939-44.
56. Miškić B. Ovisnost ultrazvučnih parametara petne kosti u dječjoj dobi o genskim polimorfizmima, disertacija, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2010.
57. Palmerini T, Genereux P, Caixeta A, Cristea E, Lansky A, Mehran R, Dangas G, Lazar D, Sanchez R, Fahy M, Xu K, Stone GW. Prognostic value of the SYNTAX score in patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention: analysis from the ACUITY (Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage StrategY) trial. J Am Coll Cardiol. 2011 Jun 14; 57(24):2389-97
58. Babić Z, Pavlov M. Acute Coronary syndrome in Croatia.Cardiol Croat. 2016;11(8):313.
59. Babić Z, Nikolić Heitzler V, Miličić D. Ten years of working group for acute coronary syndrome of the Croatian Cardiac Society and Croatian Primary Percutaneus Coronary Intervention Network. Cardiol Croat. 2014;9(9-10):334
60. Kristensen SD, Laut KG, Fajadet J, Kaifoszova Z, Kala P, Di Mario C, Wijns W, Clemmensen P, Agladze V, Antoniades L, Alhabib KF, De Boer MJ, Claeys MJ, Deleanu D, Dudek D, Erglis A, Gilard M, Goktekin O, Guagliumi G, Gudnason T, Hansen KW, Huber K, James S, Janota T, Jennings S, Kajander O, Kanakakis J, Karamfiloff KK, Kedev S, Kornowski R, Ludman PF, Merkely B, Milicic D, Najafov R, Nicolini FA, Noč M, Ostojic M, Pereira H, Radovanovic D, Sabaté M, Sobhy M, Sokolov M, Studencan M, Terzic I, Wahler S, Widimsky P; European Association for Percutaneous Cardiovascular Interventions. Reperfusion therapy for ST elevation acute myocardial infarction: current status in 37 ESC countries. Eur Heart J.2014;35(29):1957-70.

61. Scragg R. Seasonality of cardiovascular disease mortality and the possible protective effect of ultra-violent radiation. IntJ Epidemiol 1981;10(4):337-41.
62. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lainer K, i sur. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. Circulation. 2008;117:503-511.
63. Giovannucci E, Liu Y, Hollis BW and Rimm EB. 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction: a prospective study. Arch Intern med. 2008;168(11):1174-80.
64. Ginde AA, Scragg R, Schwartz RS and Camagro CA. Prospective study of serum 25-hydroxyvitaminD level, cardiovascular disease mortality and all-cause mortality in older U.S. Adults. J Am Geriatr Soc. 2009;57(9):1595-603.
65. Kilkkinen A, Knekt P, Aro A, Rissanen H, Marniemi J, Heliovaara M, i sur. Vitamin D status and the risk of cardiovascular disease death.Am J Epidemiol. 2009;170(8):1032-39.
66. Pilz S, Dobnig H, Nijpels G, Heine RJ, Stehouwer CD, Snijder MB, i sur. Vitamin D status and mortality in older men and women. Clin Endocrinol (OXF). 2009;71(5):666-72.
67. Semba RD, Houston DK, Bandienelli S, Sun K, Cherubini A, Cappola AR, i sur. Relationship of 25-hydroxyvitamin D with all- cause and cardiovascular disease mortality in older community-dwelling adults. Eur J Clin Nutr. 2010;64(2):203-9.
68. Rodriguez G, Starr AZ, Czernuszewicz GZ, Manhas A, Alhariri A, Willerson JT, Reist CJ, Pieper K, Mahaffey KW, Marian AJ, Kleiman NS. Determinants of plasma vitamin D levels in patients with acute coronary syndromes. Eur J Clin Invest. 2011;41(12):1299-309.
69. Elamin MB., Abu Elnour NO, Elamin KB, Fatourechi MM, Alkatib AA, Almandoz JP, Mullan RJ, Lane MA, Liu H, Erwin PJ, Hensrud DD , Montori VM. Vitamin D and cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96(7):1931-42.
70. Brondum-Jacobsen P, Benn M, Jensen GB, Nordestgaars BG. 25-hydroxyvitamin D levels and risk of ischemic heart disease, myocardial infarction and early death: population-based study and meta-analyses of 18 and 17 studies. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2012;32(11)2794-802.

71. Lee JH, Gadi R, Spertus JA, Tang F, O'Keefe JH. Prevalence Of Vitamin D deficiency in patients with acute myocardial infarction. Am J Cardiol.2011 Jun 1;(107(11):1636-8.
72. Kienreich K, Grübler M, Tomaschitz A, Schmid J, Verheyen N, Rutters F, Dekker JM, Pilz S.Vitamin D, arterial hypertension & cerebrovascular disease. The Indian Journal of Medical Research. 2013;137(4):669-679.
73. Zittermann A, and Prokop S. The role of vitamin D for cardiovascular disease and overall mortality. Adv Exp Med Biol 2014;810:106-19.
74. Aleksova A, Belfiore R, Carriere C, Kassem S, La Carrubba S, Barbati G, Sinagra G. Vitamin D Deficiency in Patients with Acute Myocardial Infarction: An Italian Single-Center Study. Int J Vitam Nutr Res. 2015;85(1-2):23-30.
75. Hilger J, Friedel A, Herr R, Rausch T, Roos F, Wahl DA, Pierroz DD, Weber P, Hoffmann K. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. Br J Nutr. 2014 Jan 14;111:23-45.
76. Ryan JW, Anderson PH, Morris HA. Pleiotropic activities of vitamin D receptors – adequate activation for multiple health outcomes. Clin Biochem Rev. 2015;36(2):53-61.
77. Zittermann A, Iodice S, Pilz S, Grant WB, Bagnardi V, Gandini S. Vitamin D deficiency and mortality risk in the general population: a meta-analysis of prospective cohort studies. Am J Clin Nutr 2012;95:91-100.
78. Spiro A, Buttriss JL. Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe. Nutrition Bulletin / Bnf. 2014;39(4):322-350.
79. Matsuoka LY, Wortsman J, Dannenberg MJ, Hollis BW, Lu Z, Holick MF. Clothing prevents ultraviolet-B radiation-dependent photosynthesis of vitamin D3. J Clin Endocrinol Metab 1992;75:1099-103.
80. Lips P. Vitamin D status and nutrition in Europe and Asia. J Steroid Biochem Mol Biol 2007;103:620-5.
81. Bruyere O, Decock C, Delhez M, Collette J, Reginster JY. Highest prevalence of vitamin D inadequacy in institutionalized women compared with noninstitutionalized women: a case-control study. Womens Health (Lond Engl) 2009;5:49-54.
82. Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. Chem Biol. 2014;21(3):319-29

83. Van Orten-Lutein AC, Janse A, Dhonukshe-Rutten RA, Witkamp RF. Vitamin D deficiency as adverse drug reaction: a cross-sectional study in Dutch geriatric outpatients. Eur J Clin Pharmacol. 2016 ;72(5):605-14.

84. Verdoia M, Schaffer A, Barbieri L, di Giovine G, Marino P,Suryapranata H et al. Impact of gender difference on vitamin D status and its relationship with the extent of coronary artery disease. Nutr Metab Cardiovasc Dis.2015;25(5):464-70.

85. Valero-Masa MJ, Velasquez-Rodriques J, Diez-Delhoyo F, Devesa C, Juarez M, Suosa-Casasnovas et al. Sex differences in acute myocardial infarction: Is it only the age? Int J Cardiol 2016 Nov 9 [Epub ahead of print]

86. Snijder MB, Van Dam RM, Visser M, Deeg DJ, Dekker JM, Bouter LM, Seidell JC, Lips P. Adiposity in relation to vitamin D status and parathyroid hormone levels: a population-based study in older men and women. J Clin Endocrinol Metab 2005;90:4119-23.

87. Arunabh S, Pollack S, Yeh J, Aloia JF. Body fat content and 25-hydroxyvitamin D levels in healthy women. J Clin Endocrinol Metab 2003;88:157-61

88. Padjen I, Dabic M, Glivetic T, Biloglav Z, Biocina-Lukendas D, Lukenda J. The analysis of tobacco consumption in Croatia – are we successfully facing the epidemic? Cent Eur J Public Health. 2012;20:5–10

89. Mahdavi K, Amirajam Z, Yazdankhah S, Majidi S, Adel MH, Omidvar B, Alasti M. The prevalence and prognostic role of vitamin D deficiency in patients with acute coronary syndrome: a single centre study in south-west of Iran. Heart Lung Circ. 2013;22(5):346-51

90. Takiishi T, Gysemans C, Bouillon R, Mathieu C, Vitamin D and diabetes. Endocrinol Metab Clin North Am 2010;39:419-46.

91. Danescu LG, Levy S, Levy J. Vitamin D and diabetes mellitus. Endocrine 2009;35:11-7.

92. Pittas AG,Chung M, Trikalnos T, Mitri J, Brendel M, Patel K, Lichtestein AH, Lau J, Balk EM. Systematic review: vitamin D and cardiometabolic outcomes. Ann Intern Med. 2010;152:307-14.

93. Yiu YF, Yiu KH, Siu CW, Chan YH, Li SW, Wong LY, Lee SW, Tam S, Wong EW, Lau CP, Cheung BM, Tse HF. Randomized controlled trial of vitamin D

supplement on endothelial function in patients with type 2 diabetes. Atherosclerosis 2013;227:140-6.

94. Al-Sofiani ME, Jammah A, Racz M, Khawaja RA, Hasanato R, El-Fawal HA, Mousa SA, Mason DL. Effect of vitamin D supplementation on glucose control and inflammatory response in type II diabetes: a double blind, randomized clinical trial. Int J Endocrinol Metab 2015;13:e22604.
95. Alam U, Arul-Devah V, Javed S, Malik RA. Vitamin D and diabetic complications: true or false prophet? Diabetes Ther. 2016 Mar;7(1):11-26.
96. Gagnon C, Lu ZX, Magliano DJ, Dunstan DW, Shaw JE, Zimmet PZ, Sikaris K, Ebeling PR, Daly RM. Low serum 25-hydroxyvitamin D is associated with increased risk of the development of the metabolic syndrome at five years: results from a national, population-based prospective study (The Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study: AusDiab).J Clin Endocrinol Metab2012;97:1953-61.
97. Do R, Willer CJ, Schmidt EM et al. Common variants associated with plasma triglycerides and risk for coronary artery disease. Nat Genet 2013;45:1345-52.
98. Young KA, Snell-Bergeon JK, Naik RG, Hokanson JE, Tarullo D, Gottlieb PA, Garg SK, Rewers M.Vitamin D deficiency and coronary artery calcification in subjects with type 1 diabetes. Diabetes Care 2011;34:454-8.
99. Christodoulidis G, Vittorio TJ, Fudim M, Lerakis S, Kosmas CE. Inflammation in coronary artery disease. Cardiol Rev. 2014;22(6):279-88
100. Correia LC, Sodré F, Garcia G, Sabino M, Brito M, Kalil F, Barreto B, Lima JC, Noya-Rabelo MM.Relation of severe deficiency of vitamin D to cardiovascular mortality during acute coronary syndromes. Am J Cardiol 2013;111:324-7.
101. Lim S, Shin H, Kim MJ, Ahn Hy, Kang SM, Yoon JW, Choi SH, Kim KW, Song JH, Choi SI, Chun EJ, Shin CS, Park KS, Jang HC.Vitamin D inadequacy in associated with significant coronary artery stenosis in a community-based eldery cohort: the Korean Longitudinal Study on Health and Aging. J Clin Endocrinol Metab 2012; 97:169-78.
102. Verdoia M, Schaffer A, Sartori C, Barbieri L, Casseti E, Marino P, Galasso G,De Luca G. Vitamin D deficiency is independently associated with extent of coronary artery disease. Eur J Clin Invest. 2014 Jul;44(7):634-42.

103. Goleniewska B, Kacprzak M, Zielinska M. Vitamin D level and extent of coronray stenotic lesions in patients with first acute myocardila infarction. Cardiology Journal 2014.Vol.21, No 1,pp. 18-23.

104. Eren E, Ellidag HY, Yılmaz A, Aydın Ö, Yılmaz N. No association between vitamin D levels and inflammation markers in patients with acute coronary syndrome. Adv Med Sci. 2015;60(1):89-93.

105. Crea F, Luizzo G. Pathogenesis of acute coronary syndromes. J Am Coll Cardiol 2013;61:1-11.

106. von Essen MR, Kongsbak M, Schjerling P, Olgaard K, Odum N, Geisler C. Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. Nat Immunol 2010;11:344-9.

107. Albert PJ, Proal AD, Marshall TG. Vitamin D: the alternative hypothesis. Autoimmun Rev 2009;8:639-44.

108. Santoro D, Caccamo D, Lucisano S, Buemi M, Sebekova K, Teta D, De Nicola L. Interplay of vitamin D, erythropoiesis, and the renin-angiotensin system. BioMed Res Int. 2015;2015:145828.

109. Karakas M, Thorand B, Zierer A, Huth C, Meisinger C, Roden M, Rottbauer W, Peters A, Koenig W, Herder C. Low levels of serum 25-hydroxyvitamin D are associated with increased risk of myocardial infarction, especially in women: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study. J Clin Endocrinol Metab. 2013;98(1):272-80

110. Naesgaard PA, Pönitz V, Aarsetoey H, Brügger-Andersen T, Grundt H, Harris WS, Staines H, Nilsen DW. Prognostic utility of vitamin D in acute coronary syndrome patients in coastal Norway. Dis Markers 2015;2015:283178.

111. Naesgaard PA, Leon de la Fuente RA, Nilsen ST, Ponitz V, Brugger-Andersen T, Grundt H, Staines H, Nielsen DW. Suggested cut-off values for vitamin D as a risk marker for total and cardiac death in patients with suspected acute coronary syndrome. Front Cardiovasc Med. 2016; 26:3-4.

112. Belen E, Tipi FF, Aykan AC, Findikçioğlu U, Karakuş G, Yeşil A, Helvaci A, Kalaycioğlu E, Cetin M. Clinical staging in chronic heart failure associated with low vitamin D and elevated parathormone levels. Acta Cardiol 2014;69:665-71.

113. Ng LL, Sandhu JK, Squire IB, Davies JE, Jones DJ. Vitamin D and prognosis in acute myocardial infarction. Int. J. Cardiol. 2013;168:2341–2346.

114. De Metrio M, Milazzo V, Rubin M, Cabiati A, Moltrasio M, Marana I, Campodonico J, Cosentino N, Veglia F, Bonomi A, Camera M, Tremoli E, Marezi G. Vitamin D plasma levels and in-hospital and 1-year outcomes in acute coronary syndromes: a prospective study. Medicine (Baltimore). 2015;94(19):e857

115. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ, Budoff MJ, Fayad ZA, Foster E, HlatkyMA, Hodgson JM, Kushner FG, Lauer MS, Shaw LJ, Smith SC, Jr., Taylor AJ, WeintraubWS, Wenger NK, Jacobs AK, American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines.2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Circulation 2010;122:e584-636.

116. Braunwald E. The Rise of Cardiovascular Medicine. Eur Heart J 2012;33:838-45, 845a.

11. ŽIVOTOPIS

Marijana Knežević Praveček rođena je 16. svibnja 1976. godine u Friedrichshafenu (Njemačka). Udana je, majka dva sina i jedne kćerke, a s obitelji živi i radi u Slavonskom Brodu. Osnovnu školu završila je 1990. godine, a Opću gimnaziju 1994. godine u Slavonskom Brodu. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala je 1994.godine, te ga završila u lipnju 2000. godine s prosječnom ocjenom 4,28. Liječnički staž provela je u Općoj bolnici „Dr. Josip Benčević“ u Slavonskom Brodu te položila pripravnički ispit u rujnu 2001. godine. Specijalizaciju iz interne medicine započela je u listopadu 2002. godine, a specijalistički ispit položila je u svibnju 2007. godine od kada radi kao odjelni liječnik specijalist na Odjelu kardiologije Službe za internističke djelatnosti Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“ u Slavonskom Brodu. Član je Hrvatskog kardiološkog društva i Europskog udruženja za aritmije. Do sada je objavila nekoliko znanstvenih radova u časopisima indeksiranim u relevantnim bazama podataka. Doktorski studij „Biomedicina i zdravstvo“ na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Osijeku upisala je 2006. godine. Od 2011. godine ima naslovno suradničko zvanje asistenta iz znanstvenog područja Biomedicine i zdravstva, znanstvenog polja kliničke medicinske znanosti, znanstvene grane interna medicina u Katedri za internu medicinu, povijest umjetnosti i medicinsku etiku na Medicinskom fakultetu u sastavu Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

Popis radova objavljenih u stručnim časopisima:

1. Knežević Praveček M, Jandrić Balen M, Miškić B, Samardžić P: Imitacija kliničke slike infarkta miokarda u bolesnika s karcinomom pluća. Med Vjesn 2002;34(1-4) i 2003;35(1-4):69-72
2. Reiner Z, Mihatov S, Miličić D, Bergovec M, Planinc D; TASPIC-CRO Study Group Investigators. Treatment and secondary prevention of ischamic coronary events in Croatia (TASPIC-CRO study). Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.2006:13(4):646-54
3. Coha B, Holik H, Knezevic Pravecek M. Prevention and treatment of osteonecrosis of the jaw. Health (Irvine Calif) 2011;3(9):557-9
4. Coha B, Samardžić P, Dunđer I, Knezevic Pravecek M. Cardiac Arrhytmia as a Side Effect of Ketanserin Therapy in a Patient with sytemic Scleroderma. Acta Dermatovenerol Croat 2012:20(1):54-6.
5. Knežević Praveček M, Hadžibegović I, Coha B, Samardžić P, Miškić B, Jandrić Balen M. Pericardial effusion complicating swine –influenza A/H1N1/infection in 50-years old woman MG Vol 10 No 1 (feb.2013)
6. Vuković Arar Z, Vatavuk Z, Miskić B, Janjetović Z, Sekelj S, Knežević Praveček M. with 15-year follow up. Optic nerve sheath meningioma: a case report Semin Ophthalmol.2014 Jan;29(1):52-5.
7. Vuković Arar Ž, Knežević Praveček M, Miškić B, Vatavuk Z, Vuković Rodriguez J, Sandra Sekelj S. Association between serum vitamin D level and glaucoma in women. Acta Clin Croat 2016;55:203-208.
8. Knežević Praveček M, Vuković Arar Ž, Miškić B, Hadžibegović I; Vitamin D deficiency in acute coronary syndrome- clinically relevant or an incidental finding. the Central European Journal of Public Health. Prihvaćen za objavu

12.PRILOZI

12.1. Informirani pristanak

Obavijest za pristanak ispitanika u istraživanju:

Povezanost serumske koncentracije vitamina D i akutnog koronarnog sindroma u Brodsko-posavskoj županiji

Znanstveno istraživanje na Odjelu za unutarnje bolesti Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“ u Slavonskom Brodu u suradnji s Medicinskim fakultetom Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Poštovani gospodine/gospođo,

Molimo Vas za sudjelovanje u istraživanju serumske razine vitamina D u akutnoj srčano-krvožilnoj bolesti. Ova obavijest će Vam pružiti podatke čija je svrha pomoći Vam odlučiti se da li želite sudjelovati u ovom znanstvenom istraživanju. Prije nego što odlučite, želimo da shvatite zašto se ovo istraživanje provodi i što ono uključuje. Zato Vas molimo da pažljivo pročitate ovu obavijest. Ukoliko u ovoj obavijesti ne razumijete neke riječi, izvolite pitati liječnike i/ili istraživače koji sudjeluju u ovom znanstvenom istraživanju.

Podaci objavljeni u literaturi upućuju na veliko kliničko značenje vitamina D, a s druge strane i na visoku učestalost nedostatka vitamina D. Nedostatak vitamina D se povezuje s brojnim bolestima, i to ne samo s bolestima koštano-mišićnog sustava, nego i s malignim, autoimunim i kardiovaskularnim bolestima. Cilj ovog istraživanja je ispitati povezanost nedostatka vitamina D i akutne srčano-krvožilne bolesti.

Provodit će se analize uzoraka krvi bolesnika koji su oboljeli od akutne srčano-krvožilne bolesti i ispitanicima koji dokazano nemaju srčano-krvožilnu bolest. Krajnji cilj ovog istraživanja je doprinijeti razumijevanju nastanka srčano-krvožilne bolesti, te na taj način i razvoju dijagnostičkih metoda i specifičnih lijekova koji bi mogli pomoći u sprječavanju i liječenju srčano-krvožilne bolesti.

Osim uzoraka krvi koji će se rutinski uzimati za potrebe Vašeg liječenja u bolnici biti ćete dodatno zamoljeni za jedan uzorak krvi (volumena do 5 ml) koji će biti izvađen s Vašim dopuštenjem od strane medicinskog osoblja. **Na uzorku krvi neće pisati Vaše ime, već šifra koja omogućava potpunu zaštitu Vaših osobnih podataka tijekom istraživanja**. Vaša krv uzeta za analize neće biti korištena u druge svrhe, a nakon analiza uzorak će biti uništen. Ovo istraživanje ne uključuje nikakve druge invazivne pretrage, osim onih zbog kojih ste u bolnici, i koje su se i do sad rutinski obavljale u postupku liječenja Vama sličnih bolesnika. **Svi uključeni istraživači se obavezuju na potpunu zaštitu Vaših osobnih podataka, te se Vaši osobni podaci neće pojavljivati niti u jednom znanstveno istraživačkom dokumentu niti na bilo koji način biti dostupni ili objavljeni pod vašim imenom.**

Vi možda nećete imati osobne koristi od sudjelovanja u ovom istraživanju, ali spoznaje koje će se u okviru njega steći mogu pomoći u pronalaženju novog načina ranog otkrivanja i liječenja osoba koje boluju od srčano-krvožilnih bolesti. Također, biti ćete obaviješteni o svim važnim novim informacijama dobivenim za vrijeme istraživanja, a koje mogu utjecati na vašu spremnost za nastavak sudjelovanja u ovom istraživanju.

Jedini rizik kojemu vas izlažemo je neugodnost pri dodatnom vađenju krvi. Na vama je da odlučite želite li sudjelovati ili ne. Ako odlučite sudjelovati dobit ćete na potpis ovu obavijest (jedan primjerak zadržavate za sebe). Vaša odluka o sudjelovanju u ovom istraživanju je dobrovoljna i možete se slobodno i bez ikakvih posljedica povući u bilo koje vrijeme, bez navođenja razloga, i to bez mogućnosti ikakve kazne ili gubitka bilo kakvih pogodnosti na koje imate pravo. Nastavit ćete se dalje liječiti na način koji je uobičajen za vašu bolest. Ako odlučite prekinuti svoje sudjelovanje, molimo Vas da o tome na vrijeme obavijestite glavnog istraživača i njegove suradnike.

Vaši će se osobni podaci obrađivati elektronički, a istraživač i njegovi suradnici pridržavat će se interne procedure za zaštitu osobnih podataka. U bazu podataka bit ćete uneseni pomoću koda i prema inicijalima. Vašu medicinsku dokumentaciju će pregledavati glavni istraživač i njegovi suradnici, a vaše ime nikad neće biti otkriveno. Pristup dokumentaciji mogu imati i predstavnici etičkog povjerenstva u ustanovi u kojoj se liječite (lokalno etičko povjerenstvo) i etičkog povjerenstva medicinskog fakulteta. Podaci iz ovog znanstvenog istraživanja mogu biti od praktične, ali i znanstvene

važnosti. Stoga će se objavljivati u znanstvenim publikacijama, ali vaš identitet će uvijek ostati anoniman.

Ovo je istraživanje odobrilo etičko povjerenstvo za istraživanja Medicinskog fakulteta Sveučilišta Josipa Juraja Strossmayera u Osijeku te etičko povjerenstvo Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“ u Slavonskom brodu nakon uvida u potpunu dokumentaciju. Istraživanje se provodi u skladu sa svim primjenjivim smjernicama, čiji je cilj osigurati pravilno postupanje s osobama i sigurnost osoba koje sudjeluju u znanstvenom istraživanju, uključujući ***osnove dobre kliničke prakse i Helsinšku deklaraciju***.

Ako trebate dodatne podatke, slobodno se obratite glavnom istraživaču ili njegovom mentoru:

Ime i prezime istraživača: Marijana-Knežević-Praveček.
Adresa: Kraljice Jelene 4, Slavonski Brod
Broj telefona: 035 415 244 / 098 550 328

Ime i prezime mentora istraživača: doc. dr.sc.Blaženka Miškić

Vaš obiteljski liječnik bit će obaviješten o Vašem sudjelovanju u ovom znanstvenom istraživanju, te ukoliko izrazite želju, i netko od članova vaše obitelji.
Presliku dokumenta (potpisne stranice) koji ćete potpisati ako želite sudjelovati u istraživanju, dobit ćete vi i glavni istraživač, a originalni primjerak dokumenta će zadržati i čuvati glavni istraživač.

Hvala Vam što ste pročitali ovaj dokument i razmotrili sudjelovanje u ovom znanstvenom istraživanju.

Ova obavijest je sastavljena u skladu sa Zakonom o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske (NN 121/03) i Zakonom o pravima pacijenata Republike Hrvatske (NN 169/04).