

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Marija M. Polovina

**PROCENA I PROGNOŠTIČKE
IMPLIKACIJE ENDOTELNE FUNKCIJE
KOD OBOLELIH OD ATRIJALNE
FIBRILACIJE**

Doktorska disertacija

Beograd, 2016

UNIVERSITY OF BELGRADE

SCHOOL OF MEDICINE

Marija M. Polovina

**ASSESSMENT AND PROGNOSTIC
IMPLICATIONS OF ENDOTHELIAL
FUNCTION IN PATIENTS WITH ATRIAL
FIBRILLATION**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2016

Mentor:

Profesor dr Miodrag Ostojić, profesor emeritus Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu,

Članovi komisije:

1. Profesor dr Bosiljka Vujsić – Tešić, redovni profesor na Katedri interne medicine Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu,
2. Profesor dr Petar Seferović, redovni profesor na Katedri interne medicine Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu,
3. Profesor dr Jelena Stepanović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu,
4. Docent dr Milika Ašanin, docent na Katedri interne medicine Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu,
5. Profesor dr Miodrag Grujić, profesor u penziji na Katedri interne medicine, Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Zahvaljujem se:

Svom mentoru, profesoru emeritusu dr Miodragu Č. Ostojiću, na nesebičnoj podršci, zalaganju i poverenju koje mi ukazuje od početka mog stručnog i naučnog rada.

Svim članovima komisije na korisnim savetima kojima su doprineli realizaciji disertacije.

Svim zaposlenima na Odeljenju intenzivne nege Klinike za kardiologiju KCS na pomoći u realizaciji disertacije.

Posvećujem ovu disertaciju uspomeni na docenta dr Biljanu Radojković-Ćirović.

PROCENA I PROGNOŠTIČKE IMPLIKACIJE ENDOTELNE FUNKCIJE KOD OBOLELIH OD ATRIJALNE FIBRILACIJE

REZIME

UVOD: u atrijalnoj fibrilaciji (AF) povišen je rizik od tromboembolijskih (TE) komplikacija praćenih visokim mortalitetom ili trajnim invaliditetom. Poslednjih godina je pokazano da povišenom TE riziku, pored staze krvi u levoj pretkomori (LP), doprinose strukturne i funkcionalne promene endotela LP, kao i povišeni nivoi cirkulišućih medijatora koji odražavaju proinflamatorno (npr. C-reaktivni protein, CRP, fibrinogen), prokoagulantno (npr. D-dimer), prooksidativno stanje (npr. oksidisani lipoproteini male gustine, oxLDL) i neurohormonalnu aktivaciju (npr. B-tip natriuretskog peptida, BNP). Endotelno oštećenje je najčeće povezano sa povišenom koncentracijom von Willebrandovog faktora (vWF) u krvi, za koji se smatra da potiče iz oštećenog endokarda LP. Kod jednog broja obolelih, dokumentovani su i znaci disfunkcije endotela arterijskih krvnih sudova (snižena endotel-zavisna dilatacija, *flow-mediated dilation*, FMD), a pokazana je i povezanost endotelnog oštećenja, prokoagulantnih medijatora i remodelovanja LP. Međutim, ostalo je nerazjašnjeno da li je endotelna disfunkcija prisutna kod svih obolelih od AF (nezavisno od kliničkog tipa aritmije ili pridruženog kardiovaskularnog oboljenja), da li je endotelna disfunkcija ograničena na LP ili obuhvata i disfunkciju vaskularnog endotela i da li doprinosi prokoagulantnom, proinflamatornom i prooksidativnom stanju. Takođe, prognostički značaj endotelne (dis)funkcije u pogledu uticaja na morbiditet i mortalitet obolelih od AF nedovoljno je ispitan.

CILJEVI ISTRAŽIVANJA: (I) Procena vaskularne endotelne funkcije ultrazvučnom metodom endotel-zavisne vazodilatacije brahijalne arterije (FMD) kod obolelih od AF sa i bez strukturnog srčanog oboljenja i kardiovaskularnih (KV) faktora rizika. (II) Poređenje pokazatelja endotelne funkcije obolelih od AF i zdravih osoba. (III) Procena povezanosti pokazatelja endotelne funkcije određenih pomoću FMD metode i laboratorijskih pokazatelja endotelnog oštećenja (vWF), inflamacije (CRP, fibrinogen), tromboze (D-dimer), neurohormonalne aktivacije (BNP) i oksidativnog stresa (oxLDL). (IV) Ispitivanje povezanosti endotelne funkcije (FMD i vWF) i remodelovanja LP, izraženog ehokardiografskom procenom volumena LP. (V) Ispitivanje značaja endotelne

funkcije za prognozu različitih oblika AF (paroksizmalne, perzistentne, permanentne) kod osoba sa i bez strukturnog srčanog oboljenja.

MATERIJAL I METODE: Istraživanje je sprovedeno kao prospektivna, opservaciona klinička studija. Uključeni su konsekutivni pacijenti sa AF (n=446) lečeni u Klinici za kardiologiju Kliničkog centra Srbije. Uključene su 3 grupe: 1) I grupu je činilo 50 pacijenata sa idiopatskom (lone) AF (srednja starost: 48.6 ± 11.5 g, 74.0% muškarci), kod kojih je detaljnim kliničkim ispitivanjem na početku studije isključena KV bolest, oboljenje drugih organa ili provocirajući faktori za nastanak AF; 2) II grupu je činilo 352 pacijenata sa AF (srednja starost: 64.2 ± 9.7 g, 60.2% muškarci) i prodruženim KV oboljenjem; 3) III, kontrolnu grupu je činilo 44 zdravih osoba u sinusnom ritmu (srednja starost: 47.9 ± 10.9 g, 72.7% muškarci). Na početku studije endotelna funkcija je ispitana FMD metodom i određivanjem koncentracije biomarkera endotelnog oštećenja (vWF), a pored toga određeni su i biomarkeri proinflamatornog (CRP, fibrinogen), prokoagulantnog (D-dimer) i prooksidativnog stanja (oxLDL) i neurohormonske aktivacije (BNP) kod svih učesnika. Tokom kliničkog praćenja srednjeg trajanja 48 meseci (IQR, 40 do 60 meseci) registrovana je pojava ishoda: novonastalo KV oboljenje kod I grupe; pojava novog ili pogoršanje postojećeg KV oboljenja kod II grupe (infarkt miokarda [IM], koronarna revaskularizacija, TE komplikacije, periferna arterijska bolest, novonastala srčana insuficijencija i/ili disfunkcija leve komore, pogoršanje hronične srčane insuficijencije); ukupni i KV mortalitet; progresija AF od paroksizmalne i perzistentne ka permanentnoj (trajnoj) AF.

REZULTATI: Procena i poređenje endotelne funkcije primenom FMD metode i određivanjem vWF kod pacijenata sa AF i zdravih kontrola je pokazala sledeće rezultate:

Vrednost FMD pacijenata obolelih od lone AF ($6.4\% \pm 1.9\%$), kao i pacijenata sa AF i KV oboljenjem ($5.9\% \pm 1.6\%$) bila je niža u odnosu na FMD zdravih osoba ($7.4\% \pm 1.8\%$), oba $P < 0.001$. Nije nađena razlika vrednosti FMD-a kod pacijenata sa lone AF i pacijenata sa KV oboljenjem.

Vrednost FMD-a kod pacijenata sa paroksizmalnom AF ($6.7\% \pm 1.6\%$), bila je viša u odnosu na FMD pacijenata sa perzistentnom AF ($6.3\% \pm 1.7\%$) i permanentnom AF ($6.4\% \pm 1.7\%$), oba $P < 0.001$, dok između perzistentne i permanentne AF nisu nađene razlike.

Produženo trajanje AF (više od mesec dana pre određivanja FMD-a) bilo je povezano sa nižom vrednošću FMD-a u kontrolisanoj regresionoj analizi ($R=-0.607$, 95% CI=-1.390 do -0.356, $P<0.001$) dok je paroksizmalna AF (nasuprot dugotrajnoj AF) bila povezana sa višom vrednošću FMD-a ($R=0.722$, 95% CI, 0.354 do 1.090, $P<0.001$).

Srednja vrednost vWF kod pacijenata sa lone AF (155.1 ± 28.1 U/dL), kao i kod pacijenata sa AF i KV oboljenjem (156.2 ± 29.3 U/dL) bila je povišena u odnosu na zdrave osobe (112.4 ± 29.4 U/dL), oba $P < 0.001$. Nije nađena razlika u srednjoj vrednosti vWF između pacijenata sa lone AF i pacijenata sa pridruženim KV oboljenjem.

Ispitivanje povezanosti FMD-a i biomarkera endotelnog oštećenja (vWF), kao i biomarkera inflamacije (CRP, fibrinogen), tromboze (D-dimer), neurohormonalne aktivacije (BNP) i oksidativnog stresa (oxLDL) je pokazalo da postoji negativna korelacija između FMD-a i biomarkera endotelnog oštećenja (vWF, $R=-0.584$), inflamacije (CRP, $R=-0.175$; fibrinogen, $R=-0.210$), tromboze (D-dimer, $R=-0.135$), oksidativnog stresa (oxLDL, $R=-0.388$) i neurohormonalne aktivacije (BNP, $R=-0.231$) svi $P<0.05$.

Ispitivanje povezanosti pokazatelja endotelne funkcije (FMD i vWF) i volumena LP je pokazalo negativnu korelaciju između volumena LP i vrednosti FMD-a kod pacijenata sa lone AF ($R=-0.144$, $P<0.05$) i pacijenata sa KV oboljenjem ($R=-0.151$, $P<0.05$). Volumen LP je bio pozitivno povezan sa koncentracijom biomarkera endotelnog oštećenja, vWF kako kod pacijenata sa lone AF ($R=0.314$, $P<0.05$), tako i kod pacijenata sa pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem ($R=0.685$, $p<0.001$).

Ispitivanje prognostičkog značaja endotelne funkcije (FMD i vWF) i ostalih ispitivanih biomarkera (CRP, fibrinogen, D-dimer, oxLDL i BNP) za pojavu ili pogoršanje KV oboljenja, mortalitet i progresiju aritmije pokazalo je sledeće rezultate:

U I grupi pacijenata sa lone AF tokom srednjeg perioda kliničkog praćenja od 48 meseci (IQR, 40 do 60 meseci) registrovana je pojava arterijske hipertenzije kod 14 (28.0%) pacijenata. Nisu registrovani drugi definisani KV događaji, niti smrtni ishodi. Utvrđena je negativna povezanost rastućih vrednosti FMD-a sa rizikom od hipertenzije (HR, 0.4; 95% CI, 0.2-0.6; $P=0.034$), dok su rastuće vrednosti vWF-a (HR, 2.1; 95% CI, 1.1-3.9; $P=0.023$), CRP-a (HR, 2.5; 95% CI, 1.3-5.1; $P=0.009$) i oxLDL-a (HR, 2.2; 95% CI, 1.1-4.4; $P=0.019$) bile povezane sa povišenim rizikom za nastanak hipertenzije u multivarijantnoj statističkoj analizi. U univarijantnoj analizi, CRP (HR, 1.3; 95% CI, 1.2 - 2.8; $P=0.004$) i oxLDL (HR, 1.5, 95% CI, 1.1 - 3.8, $P<0.001$) bili su povezani sa rizikom

od nastanka permenetne AF, međutim nakon kontrole za kliničke prediktore razvoja permenetne AF, ova povezanost je izgubila statističku značajnost.

U II grupi pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem, tokom perioda kliničkog praćenja od 48 meseci (IQR, 40 do 60 meseci) definisani ishodi istraživanja su registrovani kod 92 (26.1%) pacijenta (smrtni ishod, n=39; IM, n=14; koronarna revaskularizacija perkutanom intervencijom ili hirurškom revaskularizacijom miokarda, n=21; TE komplikacije, n=24; periferna arterijska bolest, n=5; novonastala srčana insuficijencija/sistolna disfunkcija leve komore, n=13; pogoršanje hronične srčane slabosti, n=32). Univarijantna analiza je pokazala da su rastuće vrednosti FMD povezane sa nižim ukupnim i KV mortalitetom, kao i sa nižim rizikom od IM i koronarne revaskularizacije. U multivarijantnoj analizi, održala se statistička značajnost za povezanost rastućih vrednosti FMD-a i nižeg rizika od IM (HR, 0.7; 95% CI, 0.9 - 0.9; P=0.002). Rastuće vrednosti vWF bile su u univarijantnoj analizi povezane sa rizikom za nastanak svih definisanih KV događaja, a nakon kontrole za kliničke prediktore, značajna povezanost se održala za povišen ukupni (HR, 1.7; 95% CI, 1.1-2.5; P=0.011) i KV mortalitet (HR, 1.7, 95% CI, 1.1-2.7; P<0.001), kao i povišen rizik od IM (HR 2.5, 95% CI, 1.9-2.9; P=0.003), koronarne revaskularizacije (HR, 2.2, 95% CI, 1.7-2.9; P<0.001), TE komplikacija (HR, 3.3, 95% CI, 1.9-4.1; P<0.001) i pogoršanja srčane insuficijencije (HR, 2.6, 95% CI, 1.6-4.3; P<0.001). U univarijantnoj analizi, rastuće vrednosti CRP-a (HR, 1.3, 95% CI, 1.1-3.1; P=0.023) i fibrinogena (HR, 1.7, 95% CI, 1.2-2.5; P=0.003) bile su povezane sa ukupnim mortalitetom, a fibrinogen je bio povezan i sa povišenim KV mortalitetom (HR, 1.7, 95% CI, 1.2-2.4; P=0.006), međutim, ove povezanosti su izgubile statistički značaj nakon adjustacije za kliničke prediktore. U multivarijantnoj analizi, D-dimer je bio povezan sa ukupnim (HR, 1.6, 95% CI, 1.1-2.5; P=0.018) i KV mortalitetom (HR, 1.6, 95% CI, 1.1-2.5; P=0.026) i TE komplikacijama (HR, 1.6, 95% CI, 1.192.5; P=0.013) a BNP je bio povezan sa ukupnim (HR, 2.5, 95% CI, 1.5-3.9; P<0.001) i KV mortalitetom (HR, 2.7, 95% CI, 1.6-4.4; P<0.001), novonastalom (HR, 3.7, 95% CI, 2.8-5.9; P<0.001) i pogoršanjem hronične srčane insuficijencije (HR, 3.7, 95% CI, 2.1-6.5; P<0.001). U univarijantnoj analizi, oxLDL je bio povezan sa mortalitetom, pogoršanjem koronarne bolesti i srčane insuficijencije i pojavom permanentne AF, a u multivarijantnoj održala se značajna povezanost oxLDL-a sa rizikom od TE komplikacija (HR, 1.9, 95% CI, 1.2-2.9; P=0.001).

ZAKLJUČCI: Na osnovu rezultata ove doktorske disertacije mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Kod obolelih od AF, uključujući i pacijente sa lone AF, postoji sistemska endotelna disfunkcija okarakterisana sniženim vrednostima endotel-zavisne dilatacije (FMD) u arterijskim krvnim sudovima i povišenim vrednostima vWF u plazmi u poređenju sa pokazateljima endotelne funkcije kod zdravih osoba. Produženo trajanje AF doprinosi većem stepenu endotelne disfunkcije.

2. Remodelovanje leve pretkomore, odnosno povećanje volumena leve pretkomore kod obolelih od AF je povezano sa endokardnim oštećenjem okarakterisanim povišenjem nivoa vWF u plazmi. Međutim, pokazana je i povezanost volumena leve pretkomore i endotelne disfunkcije u arterijskim krvnim sudovima (snižena vrednost FMD-a). Ova povezanost može biti posledica zajedničkog patološkog procesa koji ostvaruje sistemski nepovoljan uticaj na endotelnu funkciju putem povećanog inflamatornog i oksidativnog stresa i neuroendokrine aktivacije, uz potenciranje protrombotskog stanja, što potkrepljuju rezultati ovog istraživanja.

3. Kod pacijenata sa lone AF povišene vrednosti biomarkera endotelnog oštećenja (vWF), inflamacije (CRP) i oksidativnog stresa (oxLDL) povišavaju rizik za nastanak KV bolesti, dok bolja endotel-zavisna vazodilatacija (FMD) ima protektivni efekat na ispoljavanje KV bolesti. Imajući u vidu da determinatne razvoja KV bolesti u lone AF nisu detaljno ispitane, ovaj nalaz može pomoći u identifikaciji pacijenata pod rizikom za nastanak KV oboljenja koji zahtevaju redovno kliničko praćenje, modifikaciju životnih navika i preventivne terapijske intervencije kako bi se izbegle komplikacije.

4. Kod pacijenata sa AF i kardiovaskularnim oboljenjem povišene vrednosti vWF nezavisni su prediktor povišenog mortaliteta, progresije koronarne bolesti, srčane insuficijencije i TE komplikacija. Suprotno tome, bolja endotel-zavisna dilatacija (FMD) ima protektivni efekat za nastanak vaskularnih komplikacija. Prognostički značaj FMD-a je do sada bio ispitivan prevashodno kod pacijenata u sinusnom ritmu, a ovim istraživanjem prognostički značaj FMD-a je prvi put pokazan i kod obolelih od AF. I ostali ispitivani biomarkeri imaju značajnu prediktivnu vrednost za različite nepoljne ishode u AF. Moguće je da bi određivanje FMD-a i navedenih biomarkera

doprinelo stratifikaciji rizika za nastanak nepovoljnih ishoda u kliničkoj praksi i olakšalo identifikaciju pacijenata pod rizikom od komplikacija AF.

Ključne reči: atrijalna fibrilacija, endotelna funkcija, Von Villebrandov faktor, C-reaktivni protein, fibrinogen, D-dimer, oksidativni stres, B-tip natriuretskog peptida, endotel zavisna vazodilatacija.

Naučna oblast: Interna medicina

Uža naučna oblast: Kardiologija

ASSESSMENT AND PROGNOSTIC IMPLICATIONS OF ENDOTHELIAL FUNCTION IN PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION

ABSTRACT

INTRODUCTION: atrial fibrillation (AF) confers an increased risk of thromboembolic (TE) complications, associated with high mortality and disability rates. Besides blood stasis in the left atrium (LA), recent evidence attributed increased TE risk in AF to the structural and functional changes of the atrial endocardium and to the raised blood levels of pro-inflammatory (i.e C-reactive protein, CRP, fibrinogen), pro-thrombotic (i.e D-dimer), and pro-oxidative (oxidized low density lipoprotein, oxLDL) mediators and increased neurohormonal activity (i.e. B-type natriuretic peptide, BNP). Endothelial dysfunction in AF was associated with increased plasma levels of von Willebrand factor (vWF), considered a marker of endocardial damage. In some instances, decreased-endothelium dependent vasodilation (FMD) was documented in the peripheral blood vessels of AF patients, accompanied by increased levels of procoagulant factors and evidence of LA remodeling. However, whether endothelial dysfunction is present in all AF subjects (regardless of AF type or associated comorbidities) and whether endothelial dysfunction is systemic or confined to the LA endocardium remains unclear. The association of endothelial dysfunction with markers of inflammation, oxidative and prothrombotic state and neurohormonal activation is also unclear. The prognostic significance of endothelial dysfunction in AF remained largely un-investigated.

AIMS: (I) Assessment of brachial artery FMD by vascular ultrasound in AF patients with and without associated cardiovascular (CV) disease. (II) Comparison of FMD in AF patients with healthy controls in sinus rhythm. (III) Assessment of the association between markers of endothelial (dys)function (FMD, vWF) and biomarkers of inflammation (CRP, fibrinogen), thrombosis (D-dimer), oxidative stress (oxLDL) and neurohormonal activity (BNP). (IV) Assessment of the association of markers of endothelial (dys)function (FMD, vWF) with LA remodeling as evidenced by echocardiographic determination of the LA volume. (V) Evaluation of the prognostic significance of endothelial (dys)function for adverse vascular events in AF patients with and without CV disease.

MATERIALS AND METHODS: The study prospectively enrolled consecutive AF patients (n=446), treated at the Cardiology Clinic of the Clinical Center of Serbia. Three groups of patients were included: 1) Group I included 50 patients with idiopathic (lone) AF (mean age, 48.6±11.5 y, 74.0% men), in whom detailed clinical evaluation at study inclusion excluded the presence of CV or other comorbidities or triggering factors for AF. 2) Group II included 352 AF patients (mean age, 64.2±9.7 y, 60.2% men) with CV comorbidities; Group III, included 44 healthy control subjects in sinus rhythm (mean age, 47.9±10.9 g, 72.7% men). At study inclusion, FMD was assessed in all participants and plasma levels of biomarkers of endothelial damage (vWF), inflammation (CRP, fibrinogen), thrombosis (D-dimer), oxidative stress (oxLDL) and neurohormonal activity (BNP) were determined. During the prospective follow-up of AF patients (median 48 months, IQR, 40-60 months) the occurrence of study outcomes was recorded. The study outcomes included: the occurrence of a CV disorder in patients with previously lone AF; the occurrence of new or worsening of the existing CV disorder in AF patients with preexistent CV disease (myocardial infarction [MI], coronary revascularization, thromboembolic complications, peripheral arterial disease, new-onset heart failure [HF]/left ventricular systolic dysfunction, worsening of chronic HF), all-cause and CV mortality; progression of paroxysmal and persistent AF to the permanent AF.

RESULTS: Assessment and comparison of markers of endothelial function of AF patients with healthy controls revealed the following results:

Compared to the healthy controls (7.4% ± 1.8%), both lone AF patients (6.4% ± 1.9%) and AF patients with a concomitant CV disease (5.9% ± 1.6%) demonstrated decreased FMD, both P<0.001. There was no significant difference in FMD between lone AF patients and AF patients with concomitant CV diseases.

Patients with paroxysmal AF had significantly higher FMD (6.7% ± 1.6%), compared to patients with either persistent AF (6.3% ± 1.7%), or permanent AF (6.4% ± 1.7%), both P<0.001. There was no difference in FMD between AF patients with persistent and permanent arrhythmia.

Longer AF duration (longer than 1 month before FMD assessment) was associated with lower FMD in the adjusted regression analysis (R=-0.607, 95% CI=-1.390 do -0.356, P<0.001), while paroxysmal AF (as opposed to the long-standing AF) was associated with higher FMD (R=0.722, 95% CI, 0.354 do 1.090, P<0.001).

Compared to the healthy controls (112.4 ± 29.4 U/dL), both lone AF patients (155.1 ± 28.1 U/dL) and AF patients with concomitant CV disease (156.2 ± 29.3 U/dL) had higher vWF levels, both $P < 0.001$, while there was no difference in vWF levels between lone AF patients and AF subjects with CV disease.

Assessment of the relationship of FMD with biomarkers of endothelial damage (vWF) inflammation (CRP, fibrinogen), thrombosis (D-dimer), neurohormonal activation (BNP) and oxidative stress (oxLDL) revealed that there was a significant negative correlation between FMD and biomarkers of endothelial damage (vWF, $R = -0.584$), inflammation (CRP, $R = -0.175$; fibrinogen, $R = -0.210$), thrombosis (D-dimer, $R = -0.135$), oxidative stress (oxLDL, $R = -0.388$) and neurohormonal activation (BNP, $R = -0.231$), all $P < 0.05$.

Assessment of the association of markers of endothelial function (FMD and vWF) and LA volume revealed that there was a negative correlation between LA volume and FMD in lone AF patients ($R = -0.144$, $P < 0.05$) and in AF patients with CV disease ($R = -0.151$, $P < 0.05$). LA volume was positively correlated with vWF levels in lone AF patients ($R = 0.314$, $P < 0.05$) and in patients with CV disease ($R = 0.685$, $p < 0.001$).

Assessment of the prognostic significance of endothelial (dys)function (FMD and vWF) and investigated biomarkers (CRP, fibrinogen, D-dimer, oxLDL and BNP) for CV development/worsening of the existing CV, mortality and AF progression revealed the following results:

During the prospective clinical follow-up of a median 48 months (IQR, 40-60 months), 14 (28.0%) patients with initially lone AF developed arterial hypertension. There were no other CV events documented in lone AF patients and none of the patients died. The risk of hypertension was negatively associated with better FMD (HR, 0.4; 95% CI, 0.2-0.6; $P = 0.034$), and positively associated with higher plasma levels of vWF (HR, 2.1; 95% CI, 1.1-3.9; $P = 0.023$), CRP (HR, 2.5; 95% CI, 1.3-5.1; $P = 0.009$) and oxLDL (HR, 2.2; 95% CI, 1.1-4.4; $P = 0.019$). On univariate analysis, CRP (HR, 1.3; 95% CI, 1.2 - 2.8; $P = 0.004$) and oxLDL (HR, 1.5, 95% CI, 1.1 - 3.8, $P < 0.001$) were associated with the risk of permanent AF, however the association lost significance after adjustments for clinical covariates.

In the II group of AF patients with concomitant CV disease, predefined study outcomes occurred in 92 (26.1%) subjects (death, $n = 39$; MI, $n = 14$; coronary

revascularization with percutaneous intervention or bypass graft surgery, n=21; TE complications, n=24; peripheral arterial disease, n=5; new-onset HF/systolic left-ventricular dysfunction, n=13; and worsening of chronic HF, n=32). On univariate analysis, FMD was associated with lower all-cause and CV mortality, as well as lower risk of MI and coronary revascularization. After adjustments, FMD was associated with a lower risk of MI (HR, 0.7; 95% CI, 0.9 - 0.9; P=0.002). vWF was a significant predictor of all predefined study endpoints in the univariate analysis. After adjustments, vWF was predictive of all cause death (HR, 1.7; 95% CI, 1.1-2.5; P=0.011), CV death (HR, 1.7, 95% CI, 1.1-2.7; P<0.001), MI (HR 2.5, 95% CI, 1.9-2.9; P=0.003), coronary revascularization (HR, 2.2, 95% CI, 1.7-2.9; P<0.001), TE complications (HR, 3.3, 95% CI, 1.9-4.1; P<0.001) and worsening of HF (HR, 2.6, 95% CI, 1.6-4.3; P<0.001). On univariate analysis, CRP (HR, 1.3, 95% CI, 1.1-3.1; P=0.023) and fibrinogen (HR, 1.7, 95% CI, 1.2-2.5; P=0.003) were associated with increased all-cause mortality, while higher fibrinogen levels were also associated with increased CV mortality (HR, 1.7, 95% CI, 1.2-2.4; P=0.006), but these associations lost significance after adjustments. In adjusted analysis, D-dimer was a predictor of all-cause death (HR, 1.6, 95% CI, 1.1-2.5; P=0.018) and CV mortality (HR, 1.6, 95% CI, 1.1-2.5; P=0.026), as well as TE complications (HR, 1.6, 95% CI, 1.1-2.5; P=0.013). BNP was an adjusted predictor of all-cause death (HR, 2.5, 95% CI, 1.5-3.9; P<0.001) and CV mortality (HR, 2.7, 95% CI, 1.6-4.4; P<0.001), new-onset HF (HR, 3.7, 95% CI, 2.8-5.9; P<0.001) and worsening of chronic HF (HR, 3.7, 95% CI, 2.1-6.5; P<0.001). On univariate analysis, oxLDL was associated with mortality, worsening of coronary artery disease and HF, and the occurrence of permanent AF. Following adjustments, oxLDL maintained significant association with an increased risk of TE complications (HR, 1.9, 95% CI, 1.2-2.9; P=0.001).

CONCLUSIONS: The results of this doctoral dissertation provide basis for the following conclusions:

1. In patients with AF, including subject with lone AF we demonstrated a systemic endothelial dysfunction as evidenced by a decreased brachial artery FMD and increased plasma levels of vWF levels, compared to the healthy controls in sinus rhythm. Prolonged AF duration was associated with worsening of endothelial dysfunction.

2. LA remodeling was presently associated with evidence of endocardial damage (vWF) and peripheral vascular dysfunction (FMD), that could have resulted from a common pathological process characterized by increased inflammatory and oxidative

burden and neuroendocrine activation and associated with a prothrombotic state, as demonstrated by increased levels of the investigated biomarkers in the present study.

3. Increased levels of plasma biomarkers of endothelial damage (vWF), inflammation (CRP) and oxidative stress (oxLDL) were associated with increased risk of CV development in patients with lone AF, while better endothelium-dependent vasodilation (FMD) conferred a lower risk of CV occurrence. Considering a paucity of data on the determinants of CV development in lone AF, these findings might facilitate recognition of lone AF patients at risk of CV development who merit regular clinical check-up, along with life-style modifications and therapeutic interventions to prevent complications.

4. In patients with AF and CV disease, increased vWF levels predict increased risk of mortality, coronary artery disease, HF and TE complications. On the other hand, better brachial artery FMD confers a lower risk of vascular events. Thus far prognostic significance of FMD was investigated in various groups of patients in sinus rhythms and our findings for the first time demonstrated prognostic significance of FMD for vascular events in patients with AF. Other investigated biomarkers were also associated with adverse CV events in the present study, indicating that their clinical use might refine risk stratification for adverse outcomes and aid in identification of high-risk subjects for AF-related complications.

Keywords : atrial fibrillation, endothelial function, Von Villebrand factor, C-reactive protein, fibrinogen, D-dimer, oxidative stress, B-type natriuretic peptide, endothelium-dependent vasodilatation.

Scientific field: Internal medicine

Special topic: Cardio

SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
2.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	10
3.	MATERIJAL I METODE.....	12
3.1	Dizajn istraživanja i kriterijumi za uključenje ispitanika.....	13
3.2	Procena vaskularne endotelne funkcije.....	15
3.3	Određivanje volumena leve pretkomore.....	16
3.4	Određivanje laboratorijskih pokazatelja endotelne disfunkcije, prokoagulantnog, proinflatarnog i prooksidantnog stanja i neurohormonalne aktivacije	17
3.5	Kliničko praćenje i ishodi istraživanja.....	18
3.6	Statistička analiza.....	19
4.	REZULTATI.....	20
4.1	Demografske i kliničke karakteristike učesnika istraživanja.....	21
4.1.1	Prva grupa – pacijenti sa lone atrijalnom fibrilacijom.....	21
4.1.2	Druga grupa – pacijenti sa atrijalnom fibrilacijom i kardiovaskularnim oboljenjem	28
4.1.3	Treća grupa – kontrolna grupa zdravih osoba.....	28
4.2	Procena i poređenje endotel-zavisne vazodilatacije (FMD) i biomarkera endotelne disfunkcije, inflamacije, tromboze, oksidativnog stresa i neurohormonalne aktivacije	29
4.2.1	Procena i poređenje FMD-a.....	29
4.2.2	Određivanje i poređenje biomarkera.....	33
4.2.2.1	Von Willebrandov faktor (vWF).....	33
4.2.2.2	C-reaktivni protein (CRP).....	34
4.2.2.3	Fibrinogen.....	35
4.2.2.4	D-dimer.....	35
4.2.2.5	Oksidisani lipoprotein male gustine (oxLDL).....	36
4.2.2.6	B-tip natriuretskog peptida (BNP).....	37
4.3	Procena povezanosti endotel-zavisne vazodilatacije (FMD) i biomarkera endotelne disfunkcije, inflamacije, tromboze, oksidativnog stresa i neurohormonalne aktivacije.....	37
4.4	Procena povezanosti volumena leve pretkomore, endotel-zavisne	

	vazodilatacije (FMD) i biomarkera endotelne disfunkcije, inflamacije, tromboze, oksidativnog stresa i neurohormonalne aktivacije.....	39
4.5	Prognostički značaj endotel-zavisne vazodilatacije (FMD) i biomarkera endotelne disfunkcije, inflamacije, tromboze, oksidativnog stresa i neurohormonalne aktivacije kod pacijenata sa atrijskom fibrilacijom.....	40
4.5.1	Prva grupa – pacijenti sa lone atrijskom fibrilacijom.....	40
4.5.2	Druga grupa – pacijenti sa atrijskom fibrilacijom i kardiovaskularnim oboljenjem.....	44
4.5.2.1	Prediktori ukupnog i kardiovaskularnog mortaliteta.....	45
4.5.2.2	Prediktori infarkta miokarda i koronarne bolesti.....	47
4.5.2.3	Prediktori tromboembolijskih komplikacija.....	48
4.5.2.4	Prediktori periferne arterijske bolesti.....	49
4.5.2.5	Prediktori novonastale srčane insuficijencije ili pogoršanja hronične srčane insuficijencije	49
4.5.2.6	Prediktori progresije paroksizmalne i perzistentne atrijske fibrilacije u permanentnu aritmiju	51
5.	DISKUSIJA.....	52
6.	ZAKLJUČAK.....	68
7	LITERATURA.....	71

1. UVOD

Atrijalna fibrilacija (AF) je najčešća dugotrajna aritmija u populaciji odraslih (1, 2). Prevalencija atrijalne fibrilacije se povećava sa starenjem. Kod mladih osoba AF je retka aritmija, prisutna u <1,0% osoba mlađih od 40 godina, međutim, kod starijih od 80 godina učestalost ove aritmije je 7,0-10,0%, dok se ukupna prevalencija u populaciji kreće između 1,5 i 6,2% (1). Skorašnja istraživanja ukazuju na značajan porast incidencije i prevalencije atrijalne fibrilacije (3, 4). Rastuća učestalost AF delimično se može objasniti starenjem ljudske populacije, napredovanjem lečenja pridruženih srčanih bolesti, ali i sve većom prevalencijom faktora rizika za pojavu AF, kao što su arterijska hipertenzija, gojaznost i dijabetes melitus. Od posebnog je značaja trend porasta učestalosti AF kod osoba mlađeg i srednjeg životnog doba, pa tako, skorašnje procene pokazuju da će jedna od četiri osobe posle 40. godine života dobiti AF (5).

Etiopatogenza AF je kompleksna i uključuje funkcionalne i strukturne promene leve pretkomore koje nastaju uticajem urođenih i/ili stečenih stanja i oboljenja, koja menjaju elektrofiziološka svojstva miokarda leve pretkomore, stvarajući uslove za pojavu i održavanje aritmije, čiji je najčešći okidač automatska ektopična aktivnost iz miokardnih vlakana koja okružuju ušće pulmonalnih vena u levu pretkomoru (6). Spoljašnji provocirajući faktori i etiološki činioci u nastanku AF mogu biti akutni (npr. akutni infarkt miokarda, mioperikarditis, plućna embolija, intoksikacije alkoholom i kofeinom, operativni zahvati, hiperagregirajuća stanja - tireotoksikoza, anemija, emotivni stres i drugo) koji najčešće izazivaju AF koja prolazi lečenjem osnovnog oboljenja, dok su hronični uzroci AF različita kardiovaskularna oboljenja, metabolički poremećaji (dijabetes melitus, gojaznost) i hronična pulmonalna oboljenja. Ovi uzroci su najčešće udruženi sa različitim oblicima ponavljane i/ili hronične aritmije. U manjem broju slučajeva (oko 3-5%) atrijalna fibrilacija se može javiti i kod osoba bez pridruženog strukturnog srčanog oboljenja ili drugih faktora rizika za nastanak AF i ovaj oblik aritmije naziva se idiopatskom ili „lone“ (eng. izolovanom, usamljenom) AF (7).

Prema trajanju AF, prihvaćena je klasifikacija je na: *i*) paroksizmalnu AF koja se odlikuje napadima aritmije koji spontano prolaze, obično unutar 48 časova do 7 dana, *ii*) perzistentnu AF koju karakteriše aritmija produženog trajanja, koja ne prolazi spontano, ali se farmakološkim ili nefarmakološkim merama može uspostaviti i održavati sinusni ritam i *iii*) permanentnu atrijalnu fibrilaciju koja se može definisati kao trajna aritmija, bez mogućnosti uspostavljanja ili održavanja sinusnog ritma (7).

Prisustvo AF je povezano sa značajnim povišenjem mortaliteta i morbiditeta obolelih. Nezavisno od drugih činilaca, AF dvostruko povećava smrtnost obolelih, prevashodno zbog povišenja rizika od sistemskog i cerebralnog tromboembolizma (8). Rizik od moždanog udara ili tranzitornog ishemijskog ataka (TIA) petostruko je povišen kod obolelih od AF u odnosu na opštu populaciju, a ukoliko postoji pridruženo oboljenje, kao što je valvularna bolest, hipertenzija ili dijabetes, rizik od moždanog udara je povišen i do 12 puta u odnosu na osobe koje nemaju AF (9). Pored toga, AF povećava rizik za nastanak ili pogoršanje srčane insuficijencije, pojavu tahikardijom indukovane kardiomiopatije (tahikardiomiopatija), smanjuje toleranciju fizičkog napora i nepovoljno utiče na kvalitet života obolelih (7, 8).

Ranijem shvatanju da je za nastanak tromboembolijskih komplikacija u AF presudna staza krvi u levoj pretkomori srca usled gubitka kontraktilne funkcije leve pretkomore tokom aritmije, pridružuju se novija saznanja koja ukazuju da je patogeneza tromboembolizma u AF značajno složenija i da uključuje sve komponente Virchovljeve trijade (10). To su, pored staze krvi, promene u strukturi i funkciji endotela srčanih pretkomora (endokarda) i endotela sistemskih krvnih sudova (promene zida krvnog suda), kao i abnormalnosti hemostaze, fibrinolize i trombocitne funkcije (promene krvnih činilaca) koje doprinose prokoagulantnom stanju i povećanoj agregabilnosti i adherenciji trombocita (11). Postoje indicije da se ovo prokoagulantno stanje javlja nezavisno od osnovnog srčanog oboljenja ili kliničkog tipa AF, a da prisustvo komorbiditeta doprinosi povećanju protrombotskog rizika uslovljenog samom AF (11).

Proces remodelovanja leve pretkomore presudan je za nastanak i održavanje AF i povezan sa je povišenim tromboembolijskim rizikom (12, 13). Remodelovanje leve pretkomore predstavlja niz strukturnih i funkcionalnih promena koje nastaju kao adaptivni odgovor na uticaj „stresora“ u AF. Adaptivne promene leve pretkomore su zavisne od trajanja aritmije i prisustva drugih nepovoljnih uticaja (npr. srčana insuficijencija, miokardna ishemija zbog koronarne insuficijencije, proinflatorna stanja i sl.) i postepeno dovode do strukturnih promena miokarda i endokarda, odnosno do dilatacije (povećanja volumena) i promene oblika leve pretkomore i njene aurikule, kao i smanjenja kontraktilnih sposobnosti miokarda i gubitka antikoagulantnih osobina endokarda leve pretkomore (12). Promene elektrofizioloških svojstava kardiomiocita, stvaraju uslove za ponovno javljanje i nastanak trajnih oblika AF (12). Ne samo da se menja struktura i funkcija miokarda, već paralelno nastaju i promene endokarda leve pretkomore koje, uz

njenu dilataciju i hipokontraktilnost predisponiraju nastanku tromboze (13). Prognostički značaj dilatacije leve pretkomore uočen je u prospektivnim opservacionim studijama, kao što je Framinghamska, koje su pokazale nezavisni prognostički značaj uvećanog volumena leve pretkomore za pojavu moždanog udara i povećanje mortaliteta u AF (14). Povećanje volumena leve pretkomore ima prognostički značaj za nepovoljne kardiovaskularne događaje čak i kod obolelih od lone AF(15).

I dok se povezanost rizika od moždanog udara i dilatacije leve pretkomore ranije posmatrala mehanicistički, kao posledica staze krvi u povećanim šupljinama srca, novija saznanja ukazuju na značaj promena u strukturi i funkciji atrijalnog endokarda, kao i na značaj neurohormonalnih i inflamatornih procesa koji se dešavaju tokom remodelovanja pretkomore (10, 11). Ove promene su u tesnoj vezi sa pojavom prokoagulantnog i protrombotičkog stanja.

Strukturne promene pretkomorskog endokarda u AF potvrđene su elektronskom mikroskopijom i manifestuju se edemom endotelnih ćelija i fibrinoznom transformacijom, što endotelu daje grub i nabran izgled pri elektronskoj mikroskopiji (16). Pored toga, javljaju se mala ognjišta endotelne denudacije sa formiranjem trombocitnih agregata, naročito u aurikuli leve pretkomore koja se mogu smatrati prethodnicima tromboze (17).

Strukturne promene atrijalnog endokarda prate i funkcionalne, koje se odlukuju promenama u sintezi i sekreciji biološki aktivnih supstancija, značajnih za vaskularnu homeostazu (13). Tako je pokazana snižena aktivnost enzima endotelne azot monoksid (NO) sintaze (eNOS), prisustvo inflamatornih infiltrata u endokardu i miokardu, povećana sineza i oslobađanje proinflamatornih citokina i reaktanata akutne faze (npr. C-reaktivni protein), prisustvo produkata oksidativne modifikacije i markera hipoksičnog oštećenja u pretkomori (18-20). Ove promene, čija se uloga u remodelovanju, progresiji AF, smanjenoj toleranciji fizičkog napora, pojavi i napredovanju pratećih komorbiteta, kao i u razvoju prokoagulantnog i protrombotskog stanja tek sagledava, nazivaju se jednim imenom endotelna (endokardna) disfunkcija (21). Endotelna disfunkcija u atrijalnoj fibrilaciji karakteriše se smanjenim stvaranjem supstancija koje imaju antikoagulantno, antitrombotsko, antiinflamatorno i antiproliferativno dejstvo (npr. NO, prostaciklin, tkivni aktivator plazminogena), povećanom produkcijom prokoagulantnih činilaca od strane endotelnih ćelija (von Willebrandov faktor, tkivni faktor, inhibitor aktivacije

plazminogena), kao i povećanom ekspresijom adhezionih molekula, oslobađanjem hemoatraktanata, faktora rasta i slobodnih kiseoničnih radikala (21).

Endokard leve pretkomore stvara i oslobađa NO koji ima važnu ulogu u regulaciji trombocitne aktivnosti, inhibiciji ekspresije adhezionih i prokoagulantnih molekula na površini endotela, modulaciji inflamacije i oksidativnog stressa (18, 22). U fiziološkim uslovima produkcija NO u levoj pretkomori je značajno veća od produkcije u bilo kom delu kardiovaskularnog sistema (18). Imajući u vidu da celokupan minutni volumen srca prolazi kroz levu pretkomoru, moguće je da atrijalni endokard predstavlja endokrini organ čija sinteza NO, putem stvaranja nitrozo-tiolnih jedinjenja obezbeđuje cirkulišuće donore NO u sistemske cirkulaciji (18, 23). U tom slučaju disfunkcija atrijalnog endokarda se kroz smanjenu sintezu NO može nepovoljno odraziti i na funkciju sistemskih krvnih sudova.

Azot-monoksid nastaje aktivnošću enzima eNOS, za čiju je funkciju nepohodan laminarni protok krvi pretko endotelne površine, kakav postoji u sinusnom ritmu (24). Laminarni protok omogućava aktivaciju eNOS i stimuliše produkciju NO, uz povećanje kapaciteta endotelne ćelije za stvaranje NO, podsticanjem transkripcije gena za eNOS (24). Nastankom AF protok krvi u pretkomori gubi karakteristike regularnog, laminarnog toka i javlja se staza i/ili oscilatorni (turbulentni) protok koji imaju nepovoljan uticaj na funkciju eNOS (24). Kako je pokazano na eksperimentalnom animalnom modelu, u AF, zbog nepovoljnih reoloških uticaja nastupa sniženje aktivnosti eNOS u endotelnim ćelijama leve pretkomore i smanjenje endokardne produkcije NO, uz istovremeno povećanje ekspresije prokoagulantnih činilaca na membrane endotelne ćelije (18).

Osim smanjenom produkcijom NO, disfunkcija atrijalnog endokarda u AF se karakteriše i povećanim oslobađanjem von Willebrandovog faktora (vWF) iz disfunkcionalnog ili oštećenog endotela (21). Von Willebrandov faktor je najviše proučavani pokazatelj (biomarker) endotelne (endokardne) oštećenja u AF. Povećana ekspresija vWF u endotelu leve pretkomore, a posebno u aurikuli leve pretkomore u AF, povezana je sa dilatacijom leve pretkomore i pojavom prizidnih tromba (25, 26). Povećana produkcija vWF je naročito ispoljena na mestima infiltracije endotela inflamatornim ćelijama, što ukazuje na povezanost inflamacije u zidu pretkomore sa povišenim rizikom za trombozu (25). Koncentracija vWF u plazmi koreliše sa prisustvom poznatih kliničkih prediktora povišenog tromboembolijskog rizika (npr. starost, dijabetes, prethodni moždani

udar i srčana insuficijencija), a kod određenih grupa obolelih od AF povišena koncentracija vWF ima nezavisnu prediktivnu vrednost u pogledu rizika od cerebralnog ili sistemskog tromboembolizma (27).

Disfunkcija pretkomorskog miokarda i endokarda u AF koja nastaje kao posledica povećanog hemodinamskog opterećenja leve pretkomore ogleda se i pojačanim stvaranjem neurohormona poznatih kao natriuretski peptidi, kao i drugih medijatora koji, pored parakrinih efekata, mogu ostvariti i nepovoljan uticaj na udaljena tkiva i organe, te mogu promovisati razvoj kardiovaskularnog oboljenja. Tako je utvrđeno povećano oslobađanje atrijalnog i B-tipa natriuretskog hormona (BNP), angiotenzina II, aldosterona i različitih faktora rasta i atrijalnog miokarda (13, 28). Iako je pokazano da oslobađanje nekih od ovih supstancija koreliše sa volumenom leve pretkomore, nije dovoljno proučena povezanost sa procesom remodelovanja i razvojem prokoagulantnog stanja.

Skorašnja istraživanja pokazuju da je AF povezana sa sistemskom i lokalnom (endokardnom) inflamacijom (19). Prisustvo infiltrata zapaljenskih ćelija u endokardu leve pretkomore (19), kao i povišene vrednosti zapaljenskih medijatora kao što su CRP, tumorski nekrotički faktor alfa (TNF α), interleukini i citokini pokazani su kod različitih grupa obolelih od AF (29). Smanjena bioraspoloživost NO olakšava inflamatornu infiltraciju endokarda i oslobađanje proinflamatornih citokina, koji stimulišu sintezu CRP-a u jetri. S druge strane, CRP ima direktan nepovoljni efekat na funkciju endotelneih ćelija koji se ogleda povećanjem ekspresije adhezionih molekula (30). Imajući u vidu da je pokazana povezanost CRP-a i volumena leve pretkomore, moguća je i uloga u procesu remodelovanja, prevashodno kroz inflamatorne procese u vidu pretkomore (12). Interleukin-6 i CRP stimulišu produkciju tkivnog faktora, a interleukin-6 povećava aktivnost trombocita, koncentraciju fibrinogena i promoviše endotelno oštećenje. Kod određenih grupa obolelih od AF pokazan je i prediktivni značaj CRP-a za održavanje sinusnog ritma (31).

Pored proinflamatornog stanja, AF se povezuje i sa povišenim oksidativnim stresom, odnosno povećanim stvaranjem slobodnih kiseoničnih radikala i produkata peroksidacije. Oksidativni stres je u tesnoj vezi sa inflamacijom, endotelnom disfunkcijom i remodelovanjem leve pretkomore, kao što pokazuje skorašnje istraživanje kojim je utvrđena povezanost medijatora inflamacije, dilatacije leve pretkomore, biomarkera endotelne disfunkcije i pokazatelja oksidativnog stresa (32).

Novija saznanja ukazuju na kompleksnost endotelne disfunkcije u AF. Pored oštećenja ili disfunkcije atrijalnog endokarda, podaci iz eksperimentalnih i kliničkih studija ukazuju da se u AF mogu ispoljiti i promene u strukturi i funkciji endotela arterijskih krvnih sudova u drugim delovima kardiovaskularnog sistema (21). To znači da kod obolelih od atrijalne fibrilacije može postojati sistemska endotelna disfunkcija koja objedinjuje ednokardnu i vaskularnu endotelnu disfunkciju.

Prvo istraživanje kojim je je pokazana vaskularna endotelna disfunkcija u AF objavili su 1996. Gosselink *et al.* (33). Primenom venske okluzione pletizmografije ispitana je endotel-zavisna vazodilatacija i protok krvi u perifernim arterijskim sudovima kod bolesnika sa AF pre i nakon uspostavljanja sinusnog ritma DC kardioverzijom. Zaključeno je da se uspostavljanjem sinusnog ritma endotel-zavisna vazodilatacija i protok krvi u perifernim arterijskim sudovima značajno povećavaju, što indirektno ukazuje da je u AF endotelna funkcija kompromitovana i povezana sa smanjenjem protoka krvi (33).

Uzroci, kao i patofiziološki značaj vaskularne endotelne disfunkcije u AF nedovoljno su proučeni. Moguće uzroke treba tražiti u nepovoljnim reološkim uticajima usled oscilatornog toka krvi u arterijskim krvnim sudovima za vreme aritmije, povezanosti endokardne i endotelne disfunkcije, kao i sistemskim faktorima i procesima, kao što su inflamacija, oksidativni stres ili aktivacija sistema renin-angiotenzin (21, 34, 35). Hemodinamske promene karakteristične za AF koje uslovljavaju nejednakost udarnog volumena srca, gubitak laminarnog i pojavu oscilatornog (turbulentnog) protoka krvi, mogu da uslove nastanak endotelne disfunkcije u sistemskoj cirkulaciji. Endotel sistemskih krvnih sudova je u pogledu produkcije NO zavisan od laminarnog toka krvi, i u uslovima turbulentnog protoka smanjuje se aktivnost endotelne NOS i stvaranje NO, a moguće je da nastaju i druge patofiziološke promene (36). Pored toga, proinflamatorno stanje, neurohormonalna aktivacija, povećan oksidativni stres i smanjena endokardna produkcija nitrozo-tiolnih donora NO u AF, kao i nepovoljan uticaj pridruženih kardiovaskularnih oboljenja, mogu usloviti nastanak vaskularne endotelne disfunkcije (21).

Sa kliničkog aspekta, od posebnog značaja je mogućnost direktne procene sistemske vaskularne endotelne funkcije primenom široko dostupnih, relativno jednostavnih, neinvazivnih metoda koje nemaju neželjene efekte na pacijente. Najšire prihvaćena metoda procene vaskularne endotelne funkcije je metoda protokom izazvane vazodilatacije brahijalne arterije (*flow-mediated dilation*, poznatija kao FMD metoda) (37).

Ova metoda zasniva se na primeni Color Doppler vaskularnog ultrazvuka visoke rezolucije, omogućava jednostavnu i neinvazivnu procenu sistemske endotelne funkcije i široko je dostupna u kliničkoj praksi. Uz određene modifikacije standardne tehnike, može se primeniti i u AF sa zadovoljavajućom reproducibilnošću (37, 38). Primenom ove metode, kod određenih grupa ispitanika sa AF, pokazano je da je vaskularna endotelna funkcija oštećena u odnosu na osobe u sinusnom ritmu, pokazana je povezanost sa dilatacijom leve pretkomore, a neka istraživanja su pokazala i reverzibilnost endotelne disfunkcije nakon uspešne kardioverzije AF (38, 39). Međutim, ostalo je nerazjašnjeno da li je vaskularna endotelna disfunkcija prisutna kod svih obolelih od AF, nezavisno od komorbiditeta, da li je povezana sa dužinom trajanja aritmije, da li postoji povezanost sa pokazateljima endokardne disfunkcije, da li doprinosi prokoagulantnom, proinflamatornom i prooksidativnom stanju i da li je povezana sa progresijom AF od paroksizmalne ka trajnim oblicima aritmije, kao i sa nastankom komplikacija i nepovoljnih ishoda osnovnog oboljenja.

Rezimirajući dosadašnja saznanja, može se pretpostaviti da prisustvo AF nakon određenog vremena dovodi do pojave endokardne i sistemske endotelne disfunkcije kod obolelih. Ova pretpostavka se zasniva na uticaju nepovoljnih reoloških faktora na endotel srčanih šupljina (pretkomora) i sistemskih krvnih sudova tokom trajanja AF, kao i na uticaju drugih patofizioloških mehanizama koji dovode do endotelnog oštećenja, prisutni su u AF i mogu perzistirati i nakon prestanka aritmije. Stoga se može očekivati da je endotelna funkcija osoba sa AF "oslabljena" u odnosu na zdrave osobe, a da prisustvo komorbiditeta kod pacijenata sa AF dodatno pogoršava endotelnu funkciju. Može se pretpostaviti i da je sistemska endotelna disfunkcija kod obolelih od AF povezana sa trajanjem aritmije, te da je više ispoljena u slučajevima dugotrajne aritmije, kao što su perzistentna i permanentna AF, u odnosu na slučajeve sa kratkotrajnom, paroksizmalnom AF. Imajući u prisustvo brojnih zajedničkih patofizioloških mehanizama povezanih sa endotelnom disfunkcijom u sistemskim krvnim sudovima, remodelovanjem leve pretkomore i disfunkcijom pretkomorskog endokarda, može se pretpostaviti da u AF postoji povezanost pokazatelja vaskularne endotelne disfunkcije, kao što je FMD, pokazatelja endokardnog oštećenja, kao što je cirkulišući vWF i pokazatelja remodelovanja leve pretkomore izraženog stepenom dilatacije ove srčane šupljine. Pored toga, može se pretpostaviti i korelacija pokazatelja endotelne disfunkcije i biomarkera proinflatamatornog stanja (npr. CRP, fibrinogen), prokoagulantnog stanja (npr. D-dimer), oksidativnog stresa

(npr. oksidisani lipoproteini male gustine, oxLDL) i neurohormonalne aktivacije (npr. BNP), imajući u vidu da ovi biomarkeri odražavaju zajedničke patofiziološke procese koji stoje u osnovi nastanka endokardne i vaskularne endotelne disfunkcije.

Nezavisno od uzročnih faktora, hronično prisustvo endotelne disfunkcije uključeno je u patofiziološke procese koji doprinose nastanku i/ili progresiji kardiovaskularnih oboljenja (21). Možemo pretpostaviti da endotelna disfunkcija u AF nepovoljno utiče na kardiovaskularni sistem i da može promovisati progresiju aritmije od oblika koji se sporadično ili povremeno javljaju ka dugotrajnim oblicima aritmije (tj. progresiju AF od paroksizmalne ka perzistentnoj ili permanentnoj AF), ispoljavanje kardiovaskularnog oboljenja kod osoba sa lone AF, pojavu tromboembolijskih komplikacija (moždani udar, TIA, sistemski arterijski tromboembolizam), ispoljavanje novog ili pogoršanje postojećeg kardiovaskularnog oboljenja, kao i nastanak smrtnog ishoda.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

CILJEVI ISTRAŽIVANJA SU:

1. Procena vaskularne endotelne funkcije primenom ultrazvučne metode protokom izazvane, endotel-zavisne vazodilatacije brahijalne arterije (FMD) kod obolelih od AF sa i bez pridruženog strukturnog srčanog oboljenja i kardiovaskularnih faktora rizika.
2. Poređenje pokazatelja endotelne funkcije obolelih od AF i zdravih osoba.
3. Procena povezanosti pokazatelja vaskularne endotelne funkcije određenih pomoću FMD metode i poznatih laboratorijskih pokazatelja endotelnog oštećenja, inflamacije, tromboze, neurohormonalne aktivacije i oksidativnog stresa.
4. Ispitivanje povezanosti pokazatelja endotelne funkcije (FMD i cirkulišućih biomarkera) i remodelovanja leve pretkomore, koje je izraženo ehokardiografskom procenom volumena leve pretkomore.
5. Ispitivanje značaja pokazatelja sistemske endotelne funkcije za prognozu različitih oblika AF (paroksizmalne, perzistentne, permanentne) kod osoba sa i bez strukturnog srčanog oboljenja.

3. MATERIЈAL I METODE

3.1 Dizajn istraživanja i kriterijumi za uključenje ispitanika

Istraživanje je sprovedeno kao prospektivna opservaciona studija u Klinici za kardiologiju Kliničkog centra Srbije u Beogradu. Na početku istraživanja kod svih ispitanika je izvršena procena endotelne funkcije FMD metodom, određivanje laboratorijskih pokazatelja endotelnog oštećenja, prokagulantnog, proinflatarnog i proksidativnog stanja i neurohumoralne aktivacije, kao i određivanje ehokardiografskih parametara, uključujući volumen leve pretkomore. Tokom prospektivnog kliničkog praćenja trajanja najmanje godinu dana od uključanja u studiju ispitan je prognostički značaj endotelne disfunkcije i ispitivanih laboratorijskih parametara za progresiju AF od paroksizmalne i perzistentne aritmije ka permanentnoj AF, kao i za pojavu tromboembolijskih komplikacija AF i kardiovaskularnih komorbiditeta. U istraživanje su uključene osobe lečene od AF ambulantno ili bolnički. Atrijalna fibrilacija je kod svih učesnika dokumentovana elektrokardiografski ili Holterom srčanog ritma, a lečenje je sprovedeno u skladu sa načelima savremene medicinske prakse i važećim Preporukama za lečenje AF, nezavisno od učešća u studiji (7). Studija je odobrena odlukom Etičkog odbora Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu i ispitanici su dali pristanak za učešće u studiji.

U istraživanje će su uključene 3 grupe ispitanika.

Prva grupa ispitanika uključila je obolele osobe oba pola sa paroksizmalnom, perzistentnom ili permanentnom idiopatskom (lone) AF. Idiopatska (lone) AF je definisana kao prisustvo AF kod pacijenata mlađih od 60 godina, kod kojih je detaljnim kliničkim ispitivanjem u skladu sa Preporukama, isključeno pridruženo kardiovaskularno oboljenje ili bolest drugih organa, kao i prisustvo poznatih provokirajućih faktora za nastanak AF (npr. zapaljenska i hiperadrenergička stanja, intoksikacija alkoholom ili kofeinom). U cilju isključenja komorbiditeta kod svih pacijenata je obavljen objektivni pregled, kontrola krvnog pritiska u ambulantnim i kućnim uslovima (po potrebi i ambulantni "Holter" monitoring krvnog pritiska), 12-kanalni elektrokardiogram, transtoraksni ehokardiografski pregled i laboratorijske analize, a u posebnim slučajevima, u skladu sa kliničkim nalazom i pulmološko ispitivanje za isključenje opstruktivne apneje u snu i test fizičkim opterećenjem za isključenje smanjene koronarne rezerve.

Druga grupa ispitanika je uključila obolele oba pola sa paroksizmalnom, perzistentnom ili permanentnom AF ipridruženim kardiovaskularnim oboljenjem ili oboljenjem drugih organa, kao što su arterijska hipertenzija, dijabetes melitus, koronarna bolest, periferna arterijska bolest, kardiomiopatije, srčana insuficijencija, raniji moždani udar ili TIA. Prisustvo komorbiditeta je utvrđeno na osnovu podataka iz prethodne medicinske dokumentacije, kao i sprovedenim dijagnostičkim ispitivanjima prilikom uključanja u studiju, u skladu sa kliničkom prezentacijom i medicinskim indikacijama.

Treća, kontrolna grupa je formirana od zdravih osoba oba pola u sinusnom ritmu mlađih od 60 godina, koje pre uključanja u istraživanje nisu lečene od kardiovaskularnog ili drugog oboljenja, a detaljnim kliničkim ispitivanjem prilikom uključanja, sprovedenim po istim principima kao i za pacijente sa lone AF, nije utvrđeno prisustvo bilo kog oboljenja. Ove osobe su bile uključene među medicinskim osobljem i prijateljima obolelih od AF nakon isključenja eventualnog prisustva kardiovaskularnih komorbiditeta.

U istraživanje nisu uključeni pacijenti sa tranzitornom AF koja je nastala u sklopu drugog osnovnog oboljenja (akutni infarkt miokarda/akutni koronarni sindrom, mioperikarditis, unutar 3 meseca od koronarne revaskularizacije, tokom aktivne faze hipertireoze ili drugih hiperadrenergičkih stanja), osobe sa uznapređovalim valvularnim srčanim oboljenjem ili veštačkim zaliscima i oboleli u uznapređovaloj fazi srčane insuficijencije. Nisu uključene ni osobe sa akutnim (infekcija) ili hroničnim inflamatornim oboljenjima (sistemski lupus eritematosus, reumatoidni artritis i drugo), malignom bolešću, poznatim urođenim ili stečenim poremećajima koagulacije, kao ni osobe koje su u prethodna 3 meseca imale veću telesnu povredu ili operaciju.

Na početku istraživanja svi ispitanici su podvrgnuti detaljnom kardiološkom pregledu sa beleženjem starosti, telesne visine i mase, izračunavanjem indeksa telesne mase (body mass index, BMI) snimanjem elektrokardiograma i obavljanjem laboratorijskih ispitivanja u cilju procene metaboličkog statusa (glikemija našte, koncentracija serumskih lipida), hepatičke (određivanje transaminaza, laktat dehidrogenaze, alkalne fosfataze, koncentracije ukupnog i direktnog bilirubina i proteina) i bubrežne funkcije (serumska koncentracija ureje i kreatinina), uz određivanje krvne slike sa leukocitnom formulom i koagulacionog statusa (protrombinskog vremena i INR-a). Kod obolenih od AF registrovan je postojeći srčani ritam, srčana frekvencija, oblik aritmije (paroksizmalna, perzistentna, permanentna), prisustvo i težina simptoma u skladu sa klasifikacijom Evropske Asocijacije

za poremećaje srčanog ritma (EHRA klasa) (7) i Njujorške Asocijacije za srce (NYHA klasa), trajanje aritmije, ranije epizode AF i prethodno lečenje, postojanje i priroda pridruženog oboljenja (arterijska hipertenzija, dijabetes melitus, koronarna bolest, kardiomiopatije, plućna oboljenja i dr.), kao i eventulani raniji tromboembolijski događaji. Izvršena je evidencija lekova koje bolesnik prima i eventualna korekcija terapije u slučaju kliničke potrebe.

3.2 Procena vaskularne endotelne funkcije

Vaskularna endotelna funkcija kod svih učesnika istraživanja je procenjena metodom protokom izazvane vazodilatacije brahijalne arterije (*flow mediated dilation*, FMD), koja se zasniva na primeni vaskularnog dvodimenzijskog i kolor Doppler ultrazvuka visoke rezolucije. Procena endotelne funkcije obavljena je u skladu sa aktuelnim Preporukama za primenu FMD metode (37), uz odgovarajuće modifikacije standardne tehnike koje omogućavaju precizniju procenu endotelne funkcije u AF, uzimajući u obzir promenljivost trajanja srčanih ciklusa. Kod svih učesnika obavljeno je određivanje bazalnog dijametra (D_{baz}) brahijalne arterije merenjem prečnika arterije od proksimalne do distalne endotelne površine dvodimenzijskog longitudinalnog preseka arterije. Zatim je izazvan hiperemijski stimulus, naduvavanjem poveske sfigmomanometra postavljene na podlakticu ruke do 50 mmHg iznad sistolnog pritiska ispitanika u trajanju od 5 minuta. Naglim popuštanjem poveske, izazvano je povećanje protoka krvi u brahijalnoj arteriji, što je fiziološki stimulus za endotelno oslobađanje vazodilatatornih supstancija, na prvom mestu NO, koje omogućavaju endotelom posredovanu vazodilataciju krvog suda. Kako je pokazano da maksimalna endotel-zavisna vazodilatacija nastaje oko 60 sekundi od izazivanja hiperemijskog stimulusa, merenje maksimalnog dijametra (D_{max}) brahijalne arterije, koji odgovara maksimalnoj endotel-zavisnoj dilataciji, obavljeno je 60 sekundi nakon popuštanja poveske. Nakon ponovnog uspostavljanja bazalnog stanja, sublingvalno je primenjen nitroglicerina sprej, radi izazivanja endotel-nezavisne vazodilatacije brahijalne arterije, kako bi se procenila vazoreaktivnost glatkih mišića krvog suda i omogućilo razlikovanje izostanka dilatacije arterije koje je posledica endotelne disfunkcije od izostanka vazodilatacije koje je posledica oslabljene vazoreaktivnosti glatkih mišića. Određivanje dijametra brahijalne arterije koji odgovara maksimalnoj endotel-nezavisnoj dilataciji (D_{NTG}) izvršeno je 3 do 5 minuta od sublingvalne primene nitroglicerina spreja. Da bi se što preciznije odredio dijametar arterije u uslovima nejednakog protoka krvi koji je karakterističan za AF,

prilikom svakog merenja biće izmereni prečnici arterije u 3 do 5 konsekutivnih srčanih ciklusa (na kraju dijastole, sinhrono sa R zupcem na EKG-u), i konačni prečnik (D_{baz} , D_{max} , D_{NTG}) biće određen kao srednja vrednost ovih konsekutivnih merenja. Radi konzistentosti u metodologiji procene endotelne funkcije, ovaj protokol je primenjen kod svih učesnika.

Pokazatelj endotelne funkcije, maksimalna protokom izazvana vazodilatacija – FMD%, izračunata je primenom formule:

$$\text{FMD}\% = [(D_{\text{max}} - D_{\text{baz}}) / D_{\text{baz}}] \times 100$$

Pokazatelj endotel-nezavisne vazodilatacije nastale farmakološkom stimulacijom, primenom nitroglicerina (NMD%), izračunat je primenom formule:

$$\text{NMD}\% = [(D_{\text{NTG}} - D_{\text{baz}}) / D_{\text{baz}}] \times 100$$

3.3 Određivanje volumena leve pretkomore

Kod svih ispitanika obavljen jetranstoraksni ehokardiografski pregled u standardnoj tehnici tokom koga će je zabeležena dijastolna i sistolna dimenzija leve komore, debljina zidova, ejekciona frakcija leve komore, veličina desne komore, eventualne morfološke promene srčanih zalistaka, stepen valvularnih regurgitacija, kao i anteroposteriorni dijametar (D1) iz parasternalnog ehokardiografskog preseka, kao i mediolateralni (D2) i longitudinalni (D3) dijametri leve pretkomore iz ehokardiografskog preseka četiri šupljine. Na osnovu izmerenih dijametara, volumen leve pretkomore je određen primenom elipsoidne formule (39a):

$$\text{Volumen leve pretkomore} = (4\pi/3) \times (D1/2) \times (D2/2) \times (D3/2)$$

Volumen leve pretkomore je indeksiran prema telesnoj površini (Volumen/m²).

3.4 Određivanje laboratorijskih pokazatelja endotelne disfunkcije, prokoagulantnog, proinflamatornog i prooksidativnog stanja i neurohormonalne aktivacije

U Biohemijskoj laboratoriji Kliničkog centra Srbije kod svih učesnika određeni su sledeći laboratorijski pokazatelji:

- *von Willebrandov faktor* (vWF) antigen – određen pomoću ELISA metode (Asserachrom vWF:Ag, Diagnostica Stago). vWF je pokazatelj endokardne aktivacije i oštećenja,
- *C-reaktivni protein* (CRP) – određen nefelometrijskom metodom (Dade Behring BNII Nephelometer) sa pragom za detekciju CRP-a od 0.2 mg/L. CRP je pokazatelj proinflamatornog stanja,
- *fibrinogen*, određen standardnom laboratorijskom tehnikom - pokazatelj proinflamatornog stanja
- *D-dimer*, određen lateks aglutinacijom (Remel™ D-Dimer Test) - pokazatelj prokoagulantnog stanja,
- *oksidisani LDL* (oxLDL) – određen ELISA metodom (MercoDia). oxLDL je pokazatelj oksidativnog stresa,
- *B-tip natriuretskog peptida* (BNP) – određen ELISA metodom (Roche Diagnostics) - pokazatelj neurohormonalne aktivacije.

Na osnovu dobijenih rezultata, kod ispitivanih grup izvršeno je poređenje ultrazvučnih pokazatelja endotelne funkcije (FMD-a), laboratorijskih pokazatelja endotelnog oštećenja (vWF), protrombotskog stanja (D-dimer), inflamacije (CRP i fibrinogen), oksidativnog stresa (oxLDL) i neurohormonalne aktivacije (BNP) i ehokardiografskih pokazatelja remodelovanja, odnosno indeksiranog volumena leve pretkomore.

U ispitivanim grupama, analizirana je povezanost pokazatelja endotelne funkcije, ispitivanih biomarkera i volumena leve pretkomore indeksiranog prema telesnoj površini.

Kod obolelih od AF posebno je analizirana povezanost pokazatelja su endotelne funkcije, ispitivanih biomarkera i ehokardiografskih pokazatelja remodelovanja leve

pretkomore (volumen leve pretkomore) u zavisnosti od kliničkog oblika aritmije (paroksizmalna, perzistentna, permanentna AF).

3.5 Kliničko praćenje i ishodi istraživanja

Tokom perioda praćenja obolelih od AF, trajanja najmanje godinu dana, na svaka 3 meseca obavljani su klinički pregledi pacijenata uključenih u studiju i po potrebi, dodatni dijagnostički postupci u skladu sa kliničkom prezentacijom. Prilikom svake kontrole elektrokardiografski je beležen srčani ritam i frekvencija, kao i težina tegoba, a izvršena je i evidencija eventualne progresije AF od paroksizmalne i perzistentne ka permanentnoj aritmiji. Kao ishod studije beleženo je i ispoljavanje novog ili pogoršanje postojećeg kardiovaskularnog oboljenja definisanog prema važećim preporukama i vodičima kliničke prakse. Tako je registrovana pojava arterijske hipertenzije (definisana kao pritisak $\geq 140/90$ mmHg prilikom lekarskog pregleda ili $\geq 135/85$ mmHg kod kućnog merenja), akutnog infarkta miokarda (definisana u skladu sa kliničkim, elektrokardiografskim i biohemijskim parametrima) i perkutane ili hirurške koronarne revaskularizacije. Evidentirani su NYHA klasa, akutna ili pogoršanje hronične srčane insuficijencije i/ili sistolne disfunkcije leve komore. Novonastala srčana insuficijencija je definisana kao prvo kliničko ispoljavanje srčane insuficijencije (NYHA klasa ≥ 2), potvrđeno objektivnim znacima srčanog popuštanja i/ili radiografskim znacima plućne vaskularne kongesije. Sistolna disfunkcija leve komore definisana je kao sniženje ejskione frakcije leve komore $\leq 40\%$ pri ehokardiografskom pregledu. Pogoršanje hronične srčane insuficijencije je definisano kao kliničko pogoršanje tegoba izazvanih srčanom insuficijencijom sa objektivnim pokazateljima srčanog popuštanja i/ili radiografskim znacima plućne vaskularne kongesije. Registrovana je pojava periferne arterijske bolesti (potvrđena kliničkim nalazom, vaskularnim ultrazvukom i sniženim Doppler indexima) i evidentirane su tromboembolijske komplikacije AF (moždani udar ili TIA ili periferni arterijski embolizam) Moždani udar i TIA su potvrđeni neurološkim pregledom i CT dijagnostikom, a periferni arterijski tromboembolizam, definisan kao tromboemolizam arterija van CNS-a potvrđen je kliničkim i radiografskim nalazom. Beleženi su smrtni ishodi ispitanika, koji su klasifikovani kao: *i*) kardiovaskularna smrt (naprasna ili nenaparsna), u slučaju kada je smrtni ishod nastao zbog ispoljavanja akutnog ili pogoršanja hroničnog kardiovaskularnog ili cerebrovaskularnog oboljenja, i *ii*) ostali uzroci smrti, koji su zajedno sa kardiovaskularnim mortalitetom činili ukupni mortalitet.

3.6 Statistička analiza

Baza podataka je forirana korišćenjem Microsoft Office Excel programa, a statistička analiza primenom programa SPSS (Statistical Package for Social Sciencies). Numeričke neprekidne varijable su prikazane kao aritmetička sredina i odgovarajuća standardna devijacija u slučaju normalne raspodele ili kao medijana i intervartalni opseg (IQR). Za proveru normalnosti raspodele korišćen je Kolmogorov-Smirnovljevi test, a za ispitivanje značajnosti razlike numeričkih varijabli primenjen je Studentov t-test i jednofaktorska analiza varijanse (ANOVA) sa Bonferoni post hoc analizom. Atributivne varijable merene nominalnom skalom merenja su prikazane u kao apsolutni i/ili relativni brojevi, a za ispitivanje značajnosti razlike je korišćen χ^2 test (Pearson). Korelacija je ispitana korišćenjem Pearsonove linearne korelacije ili Spearmanove rank korelacije. Regresionim modelima je ispitivana povezanost nezavisnih varijabli (pokazatelji endotelne funkcije, ispitivani biomarkeri, kliničke i laboratorijske varijable) i definisanih ishoda istraživanja, odnosno zavisnih varijabli. Kliničke i laboratorijske varijable koje su u univarijantnoj analizi bile značajno povezane sa ishodima korišćene su za adjustaciju multivarijantnih modela koji su uključili pokazatelje endotelne funkcije i ispitivane biomarkere. Za identifikaciju multivarijantnih prediktora rizika u analizi vremenskog intervala do ispitivanog događaja korišćena je Coxa regresiona analiza proporcionalnog hazarda, sa «korak po korak» («stepwise») uključivanjem nezavisnih varijabli. U ovoj analizi zavisne variable (pokazatelji endotelne funkcije i biomarkeri) su kategorisane rastućim kvartilima vrednosti. Kao vremenska odrednica u Coxovoj analizi je korišćeno vreme od uključanja u studiju do definisanog ishoda ili vreme ukupnog trajanja kliničkog praćenja za one pacijentne kod kojih tokom studije nisu registrovani definisani ishodi. Statistički značajnom je smatrana razlika na nivou verovatnoće $P < 0.05$, a korišćeni su 95% intervali poverenja.

4. REZULTATI

4.1 Demografske i kliničke karakteristike učesnika istraživanja

U istraživanje je inicijalno uključeno 456 ispitanika. Prvu grupu ispitanika činilo je 50 pacijenata sa lone AF, drugu grupu je činilo 362 obolelih od AF sa pridruženim kardiovaskularnim ili drugim oboljenjem, a treću, kontrolnu grupu su činile 44 zdrave osobe u sinusnom ritmu. Od 362 obolelih od AF sa pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem, 6 (1.6%) pacijenata nije bilo dostupno tokom praćenja, a kod 4 (1.1%) ispitanika podaci o proceni endotelne funkcije ili podaci o ispitivanim biomarkerima nisu bili potpuni (tehnički nezadovoljavajuć snimak brahijalne arterije na osnovu koga nije bila moguća procena FMD-a i/ili nedostatak rezultata određivanja ≥ 1 biomarkera). Ovi ispitanici su isključeni iz analize, a podaci su analizirani u grupi od ukupno 446 ispitanika (50 pacijenata sa lone AF, 352 pacijenta sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem i 44 zdrave kontrole) kod kojih su postojali kompletni podaci prilikom uključanja u istraživanje (određenje vrednost FMD-a i svih ispitivanih biomarkera), kao i kompletni podaci o ishodima istraživanja tokom kliničkog praćenja. Ispitanici su prospektivno uključeni tokom 12 meseci vodeći računa da se uključe sukcesivni pacijenti sa AF koji zadovoljavaju kriterijume za učešće u studiji, lečeni u Klinici za kardiologiju Kliničkog centra Srbije od maja 2010. do marta 2011. Kontrola grupa je formirana od zdravih dobrovoljaca uključenih u istraživanje u istom periodu kao i pacijenti sa AF, regrutovanih među zdravstvenim osobljem i prijateljima pacijenata nakon isključenja kardiovaskularnog ili drugog oboljenja.

Kliničko praćenje pacijenata sa AF je obavljeno prospektivno (od avgusta 2010. do oktobra 2015.), srednjeg trajanja 48 meseci (IQR, 40-60 meseci), a tokom perioda praćenja pacijenti su kardiološki kontrolisani u Klinici za kardiologiju Kliničkog centra Srbije u tromesečnim intervalima i evidentirani su prethodno definisani ishodi istraživanja.

4.1.1 Prva grupa - pacijenti sa lone atrijalnom fibrilacijom

Demografske i kliničke karakteristike svih učesnika istraživanja, uključujući i I grupu pacijenata sa lone AF prikazane su u Tabeli 1.

Tabela 1. Demografske i kliničke karakteristike učesnika istraživanja

Demografske i kliničke karakteristike	Grupa I - lone AF (n=50)	Grupa II - AF sa pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem (n=352)	Grupa III - kontrolna grupa zdravih osoba (n=44)	P vrednost
Starost (godine)	48.6±11.5	64.2±9.7	47.9±10.9	<0.001
Pol (muški)	27 (74.0)	212 (60.2)	32 (72.7)	0.063
Sistolni krvni pritisak (mmHg)	120.7±10.0	134.4±19.8	118.5±9.8	<0.001
Dijastolni krvni pritisak (mmHg)	75.8±5.6	82.5±10.4	75.1±7.8	<0.001
Srčana frekvencija	64.5±14.3	68.9±13.3	70.7±7.3	0.013
BMI (kg/m ²)	25.6±3.4	26.9±3.4	23.8±2.22	0.045
Klinički tip i karakteristike AF				
Novo-dijagnostikovana AF	25 (50.0)	90 (25.6)	/	<0.001
Paroksizmalna AF	34 (68.0)	152 (43.2)	/	<0.001
Perzistentna AF	13 (26.0)	87 (24.7)	/	<0.001
Permanentna AF	3 (6.0)	113 (32.1)	/	<0.001
Simptomatska AF	42 (84.0)	271 (77.0)	/	<0.001
EHRA klasa	2.8±0.9	2.3±0.9	/	0.013
EHRA klasa I	7 (14.0)	75 (21.3)	/	<0.001
EHRA klasa II	7 (14.0)	149 (42.3)		
EHRA klasa III	25 (50.0)	112 (31.8)		
EHRA klasa IV	11 (22.0)	16 (4.5)		

Tabela 1 - nastavak -. Demografske i kliničke karakteristike učesnika istraživanja

Pridružena oboljenja i faktori rizika				
Arterijska hipertenzija	/	321 (91.2)	/	/
Dijabetes melitus	/	69 (19.6)	/	/
Raniji infarkt miokarda	/	48 (13.6)	/	/
Ranija PCI	/	31 (8.8)	/	/
Ranija hirurška revaskularizacija miokarda	/	14 (4.0)	/	/
Stabilna angina pectoris	/	15 (4.3)	/	/
Primarna dilatativna kardiomiopatija	/	32 (9.1)	/	/
Hipertrofična kardiomiopatija	/	7 (2.0)	/	/
Valvularna bolest*	/	125 (35.5)	/	/
Ranija srčana insuficijencija	/	56 (15.9)	/	/
NYHA klasa pri prezentaciji:				
I	50 (100.0)	304 (86.7)	44 (100.0)	/
II	/	14 (4.0)	/	/
III	/	31 (8.8)	/	/
IV	/	2 (0.6)	/	/
Prisustvo pejsmejkera	/	11 (3.1)	/	/

Tabela 1 – nastavak - . Demografske i kliničke karakteristike učesnika istraživanja

Raniji moždani udar/TIA/sistemski tromboembolizam	/	36 (10.2)	/	/
Ranija plućna embolija	/	2 (0.6)	/	/
Hronična opstruktivna bolest pluća	/	14 (4.0)	/	/
Opstruktivna apneja u snu	/	9 (2.6)	/	/
CHA ₂ DS ₂ -VASc skor	0	0	3.0 (1.7 – 4.0)	
Hronična bubrežna insuficijencija (CrCl <60 mL/min)	/	58 (16.5)	/	/
Ranija disfunkcija štitaste žlezde: - hipotireoza - hipertireoza	/ /	27 (7.7) 13 (3.7)	/ /	/
Pušenje (sadašnji pušači)	7 (14.0)	52 (14.8)	7 (15.9)	0.135
Umereno konzumiranje alkohola	11 (22.0)	101 (28.7)	9 (20.4)	0.075

AF - atrijalna fibrilacija; EHRA - European Heart Rhythm Association klasifikacija simptoma izazvanih prisustvom AF; PCI - perkutana koronarna intervencija; TIA - tranzitorni ishemijski insult; CHA₂DS₂-VASc skor za tromboembolijski rizik kod obolelih od AF - C - srčana insuficijencija (1), H - hipertenzija (1), A₂- statorst ≥ 75 godina (2), D - dijabetes melitus (1), S₂ - moždani udar ili TIA ili periferni embolizam (2), V -a vaskularna bolest (1), A - starost 65-74 godine (1), Sc - ženski pol (1); CrCl - klirens kreatinina

Srednja starost prve grupe učesnika sa lone AF bila je 48.6±11.5 godina, većinom su bili muškog pola (74.0%), pretežno sa simptomatskom AF (84.0%) i paroksizmalnom AF (68.0%), a novo-dijagnostikovana AF bila je prisutna kod polovine učesnika (Tabela 1).

Osnovni laboratorijski pokazatelji, bili su u granicama referentnih vrednosti i nisu se razlikovali u odnosu na kontrole (Tabela 2).

Tabela 2. Najvažnije biohemijske analize kod učesnika istraživanja

Laboratorijske analize	Grupa I - lone AF (n=50)	Grupa II - AF sa pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem (n=352)	Grupa III - kontrolna grupa zdravih osoba (n=44)	P	P1 vs. P3	P1 vs. P2	P2 vs. P3
Glikemija našte (mmol/L)	4.8±0.5	5.9±1.4	4.6±0.5	<0.001	0.178	<0.001	<0.001
Urea (mmol/L)	5.8±1.2	6.8±2.2	5.8±1.1	0.008	0.788	<0.001	<0.001
Kreatinin (µmol/L)	82.8±15.5	89.4±29.3	87.4±12.1	0.260	0.117	0.089	0.752
Ukupni holesterol (mmol/L)	5.7±1.1	6.2±1.2	5.7±0.8	0.003	0.926	0.017	0.022
HDL (mmol/L)	1.1±0.2	1.1±0.4	1.1±0.3	0.329	0.293	0.455	0.367
LDL (mmol/L)	3.8 ± 0.8	4.2±1.1	3.9 ± 1.0	0.002	0.559	0.011	0.018
Trigliceridi (mmol/L)	1.7 ± 0.7	1.7±0.9	1.8 ± 0.6	0.792	0.389	0.832	0.136

HDL - lipoprotein visoke gustine; LDL - lipoprotein niske gustine

Ehokardiografski parametri, uključujući masu leve komore i volumen leve pretkomore bili su u granicama referentnih vrednosti kod pacijenata sa lone AF (što zadovoljava striktne kriterijume definisanja lone AF) i nisu se razlikovali u odnosu na kontrolnu grupu zdravih osoba (Tabela 3).

Tabela 3. Ehokardiografske karakteristike učesnika istraživanja

Ehokardiografske karakteristike	Grupa I - lone AF (n=50)	Grupa II - AF sa pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem (n=352)	Grupa III - kontrolna grupa zdravih osoba (n=44)	P	P1 vs. P3	P1 vs. P2	P2 vs. P3
LP - AP dijametar (mm)	39.1 ± 6.2	45.9 ± 6.0	37.2 ± 5.7	<0.001	0.114	<0.001	<0.001
Indeksirani volumen leve pretkomore (mL/m ²)	25.7 ± 6.8	32.3 ± 13.5	24.2 ± 4.8	<0.001	0.234	<0.001	<0.001
LK EDD (mm)	51.3 ± 4.2	54.3 ± 6.5	50.8 ± 3.2	<0.001	0.766	<0.001	<0.001
LK ESD (mm)	33.0 ± 3.5	37.5 ± 7.4	31.3 ± 2.9	<0.001	0.311	<0.001	<0.001
Indeksirana masa LK (g/m ²)	73.6 ± 13.1	83.4 ± 23.6	72.8 ± 14.1	<0.001	0.421	<0.001	<0.001
EF LK (%)	63.6 ± 4.9	56.2 ± 10.7	64.1 ± 4.7	<0.001	0.544	<0.001	<0.001

LP – leva pretkomora; AP – anteroposteriorni dijametar; LK – leva komora; EDD – end-dijastolni dijametar; ESD – end-sistolni dijametar; EF – ejecciona frakcija

Pri uključenju u studiju, pacijenti sa lone AF su lečeni lekovima za kontrolu komorske frekvencije (beta-blokatori, nedihidropiridinski Ca²⁺ antagonisti i dogoksin) i/ili antiaritmicima Ic ili III klase, a antikoagulantna terapija je primenjena samo u slučaju pripreme za elektivnu DC kardioverziju (Tabela 4).

Tabela 4. Farmakološka terapija pri uključenju u istraživanje

Terapija pri uključenju u studiju	Grupa I - lone AF (n=50)	Grupa II - AF sa pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem (n=352)	Grupa III - kontrolna grupa zdravih osoba (n=44)	P vrednost
Beta-blokatori	15 (30.0)	196 (55.7)	/	<0.001
Verapamil/diltiazem	3 (6.0)	46 (13.5)	/	0.016
Digoksin	2 (4.0)	35 (9.9)	/	0.040
Propafenon	20 (40.0)	70 (19.9)	/	<0.001
Sotalol	5 (10.0)	5 (1.4)	/	<0.001
Amiodaron	18 (36.0)	149 (42.3)	/	<0.001
ACE inhibitori/antagonisti AT ₁ receptora	/	280 (79.5)	/	<0.001
Ca ²⁺ antagonisti	/	103 (29.3)	/	<0.001
Diuretici Henleove petlje	/	93 (26.4)	/	<0.001
Tiazidni diuretici	/	75 (21.3)	/	<0.001
Statini	3 (6.0)	169 (48.0)	4 (9.1)	<0.001
Aspirin	1 (2.0)	84 (23.9)	/	0.001
Klopidogrel	/	22 (6.3)	/	0.040
Antagonisti vitamina K	6 (12.0)	300 (85.2)	/	<0.001

AF -atrijana fibrilacija; ACE - angiotenzin-konvertujući enzim; AT₁ - angiotenzin-1

Troje pacijenata sa lone AF je primalo statine, a jedan je primao aspirin (Tabela 4.). U poređenju sa kontrolama nije bilo razlike u pogledu primene statina, kao ni u učestalosti pušenja i umerenog konzumiranja alkoholnih pića kod pacijenata sa lone AF (Tabela 1.).

4.1.2 Druga grupa - pacijenti sa atrijalnom fibrilacijom i kardiovaskularnim oboljenjem

Srednja starost učesnika ove grupe bila je 64.2 ± 9.7 godina, osobe muškog pola su činile 60.2% ove grupe, paroksizmalna AF je bila prisutna kod 43.2%, a novo-dijagnostikovana AF kod 25.6% (Tabela 1.). U poređenju sa pacijentima sa lone AF, kao i sa zdravim kontrolama, pacijenti druge grupe su bili stariji, imali su viši sistolni i dijastolni krvni pritisak, BMI (Tabela 1), kao i više koncentracije glikemije, ukupnog i LDL holesterola (Tabela 2.). Anteroposteriorni dijametar leve pretkomore, kao i indeksirani volumen leve pretkomore bili su veći kod pacijenata druge grupe u poređenju sa pacijentima sa lone AF i zdravim kontrolama (Tabela 3.). Pacijenti druge grupe su imali i veći indeks mase i nižu ejectionu frakciju leve komore u odnosu na druge učesnike studije (Tabela 3.).

Prisutni komorbiditeti pacijenata druge grupe navedeni su u Tabeli 2. Arterijska hipertenzija je bila prisutna kod većine obolelih (91.2%), 35.5% je imalo valvularnu bolest srca (blaža do umerena mitralna insuficijencija ili blaža do umerena aortna stenoza), 19.3% je imalo koronarnu bolest (raniji infarkt miokarda 13.6%), a srčanu insuficijenciju je imalo 15.9% (kod 13.4% znaci srčane insuficijencije su bili ispoljeni pri uključenju u istraživanje). Dijabetes melitus je imalo 19.6% učesnika, bolesti pluća (hronična opstruktivna bolest i opstruktivna apneja u snu) su bile prisutne kod 6.6% učesnika, ranija tiroidna disfunkcija je zabeležena kod 11.4%, a hronična bubrežna insuficijencija ($CrCl < 60$ mL/min) bila je ispoljena kod 16.5%. Ranije tromboembolijske komplikacije su bile prisutne kod 10.2% ispitanika. Farmakološka terapija koju su primali učesnici druge grupe navedeni su u Tabeli 4.

4.1.3 Treća grupa – kontrolna grupa zdravih osoba

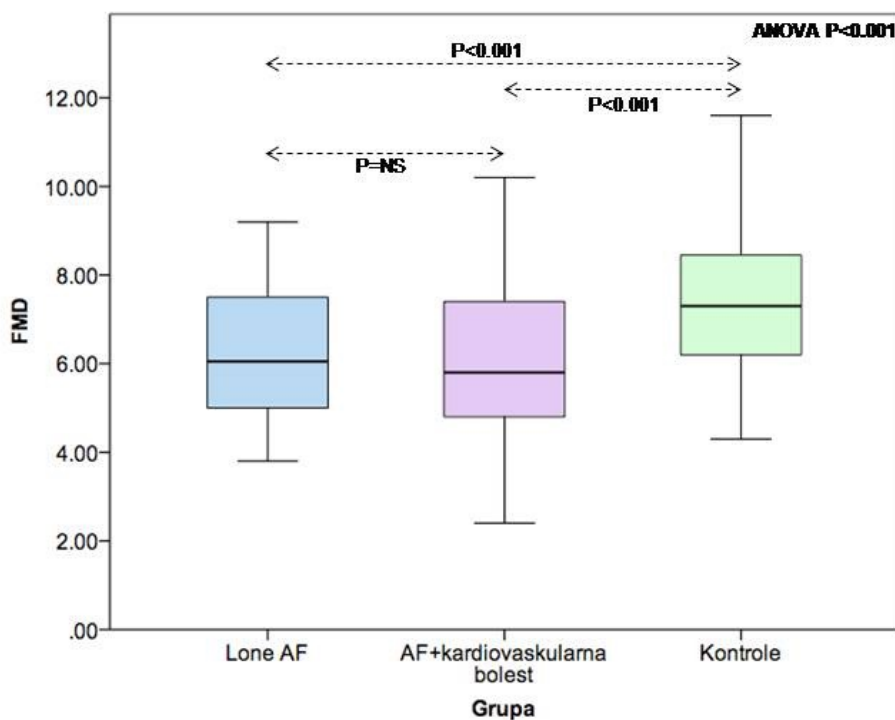
Karakteristike kontrole grupe zdravih osoba su navedene u Tabeli 1. Srednja starost kontrolne grupe (47.9 ± 10.9 godina) nije se značajno razlikovala u odnosu na pacijente sa lone AF, dok su zdrave kontrole bile značajno mlađe u odnosu na pacijente sa AF i pridruženim komorbiditetima (Tabela 1). Nije postojala razlika u polnoj strukturi ove grupe u odnosu na pacijente sa AF. Laboratorijske i ehokardiografske karakteristike ispitanika ove grupe su bile u granicama referentnih vrednosti i prezentovane su u Tabelama 2 i 3.

4.2. Procena i poređenje endotel-zavisne vazodilatacije funkcije (FMD) i biomarkera endotelne disfunkcije, inflamacije, tromboze, oksidativnog stresa i neurohormonalne aktivacije kod pacijenata sa atrijalnom fibrilacijom i kontrolne grupe.

4.2.1 Procena i poređenje FMD-a.

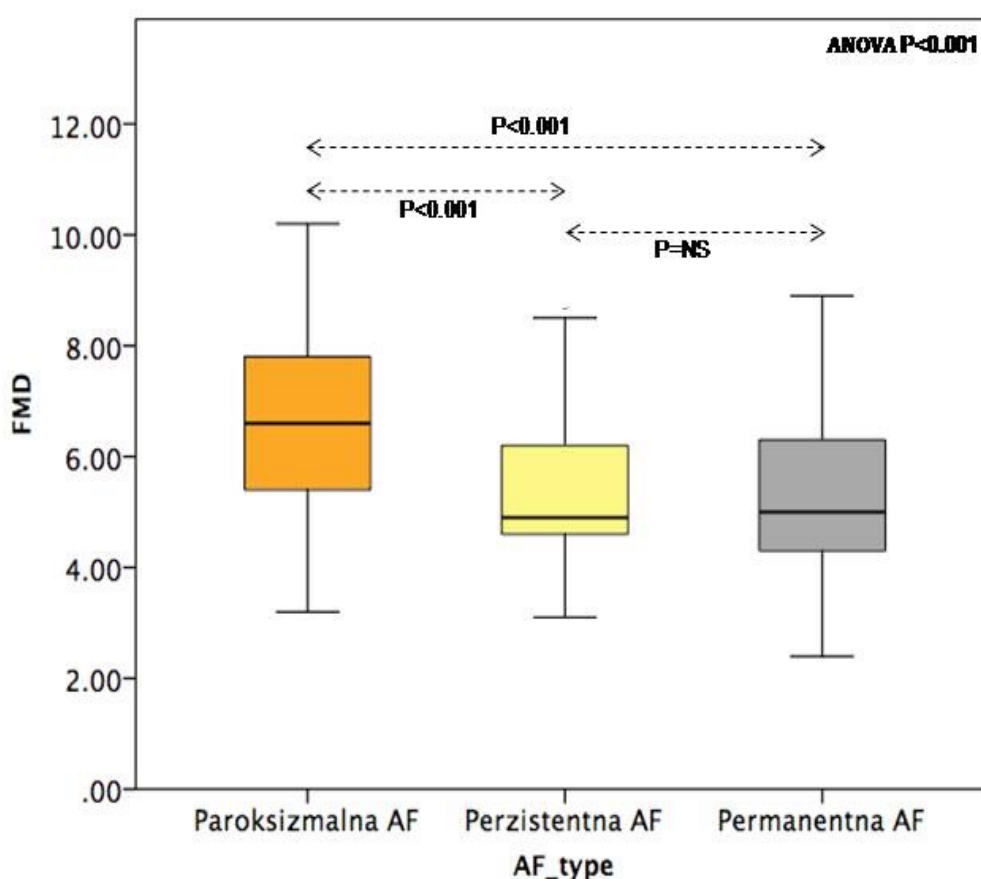
Procena endotelne funkcije na osnovu endotel-zavisne vazodilatacije brahijalne arterije (FMD) je pokazala da je srednja vrednost FMD-a kod I grupe ispitanika (lone AF) $6.4\% \pm 1.9\%$, kod II grupe (AF sa kardiovaskularnim oboljenjem) srednja vrednost FMD-a je bila $5.9\% \pm 1.6\%$, a kod kontrolne grupe, srednja vrednost FMD-a je bila $7.4\% \pm 1.8\%$ (Grafik 1.).

Poređenjem FMD-a između 3 grupe učesnika pokazano je da postoje značajne razlike u endotelnoj funkciji ($P < 0.001$). Obe grupe pacijenata sa AF imale su značajno niže srednje vrednosti FMD-a, odnosno "slabiju" endotelnu funkciju u odnosu na kontrolnu grupu zdravih osoba (oba $P < 0.05$), dok se endotelna funkcija nije značajnije zalikovala kod pacijenata prve (lone AF) i druge grupe (AF sa kardiovaskularnim oboljenjem), Grafik 1.



Grafik 1. Vrednosti FMD-a kod pacijenata sa lone AF, pacijenata sa AF i kardiovaskularnim oboljenjem i kontrolne grupe

Pokazane su i razlike u vrednosti FMD-a zavisno od kliničkog tipa AF. Nezavisno od prisustva kardiovaskularnih komorbiditeta, pacijenti sa paroksizmalnom AF su imali značajno višu srednju vrednost FMD-a ($6.7\% \pm 1.6\%$) u poređenju sa pacijentima sa perzistentnom AF ($6.3\% \pm 1.7\%$) ili permanentnom AF ($6.4\% \pm 1.7\%$), $P < 0.001$, dok nisu postojale razlike u srednjoj vrednosti FMD-a između pacijenata sa perzistentnom i permanentnom aritmijom (Grafik 2).



Grafik 2. Srednje vrednosti FMD-a kod pacijenata sa paroksizmalnom, perzistentnom i permanentnom AF

Kliničke i laboratorijske determinatne povezane sa vrednošću FMD-a kod pacijenata sa AF su prikazane u Tabeli 5.

Tabela 5. Kliničke i laboratorijske i ehokardiografske determinatne FMD-a

Determinatne FMD-a	Univarijantna analiza			Multivarijantna analiza		
	R	95% interval poverenja	P vrednost	R	95% interval poverenja	P vrednost
Starost	-0.025	-0.38 do -0.012	<0.001	/	/	/
Trajanje AF >1 meseca	-0.615	-0.797 do -0.433	<0.001	-0.607	-0.773 do -0.544	<0.001
Paroksizmalna AF	0.809	0.492 do 1.126	<0.001	0.722	0.354 do 1.090	<0.001
Arterijska hipertenzija	-0.569	-0.922 do -0.215	0.002	/	/	/
Dijabetes melitus	-0.566	-1.007 do -0.126	0.012	/	/	/
Koronarna bolest	-0.900	-1.339 do -0.461	<0.001	-0.873	-1.390 do -0.356	0.001
NYHA klasa	-0.401	-0.638 do -0.163	0.001	-0.509	-0.797 do -0.220	0.001
BMI (kg/m ²)	-0.074	-0.127 do -0.021	0.006	-0.056	-0.108 do -0.004	0.034
Glikemija	-0.154	-0.275 do -0.032	0.014	/	/	/
Kreatinin u serumu (μmol/L)	-0.007	-0.013 do -0.001	0.024	/	/	/
HDL (mmol/L)	0.207	0.211 do 0.635	0.004	/	/	/
Pušenje	-0.392	-0.662 do -0.075	0.001	/	/	/
Indeksirani volumen leve prekomore (mL/m ²)	-0.014	-0.030 do -0.007	<0.001	/	/	/
Indeks mase leve komore (g/m ²)	-0.062	-0.085 do -0.014	0.042	/	/	/

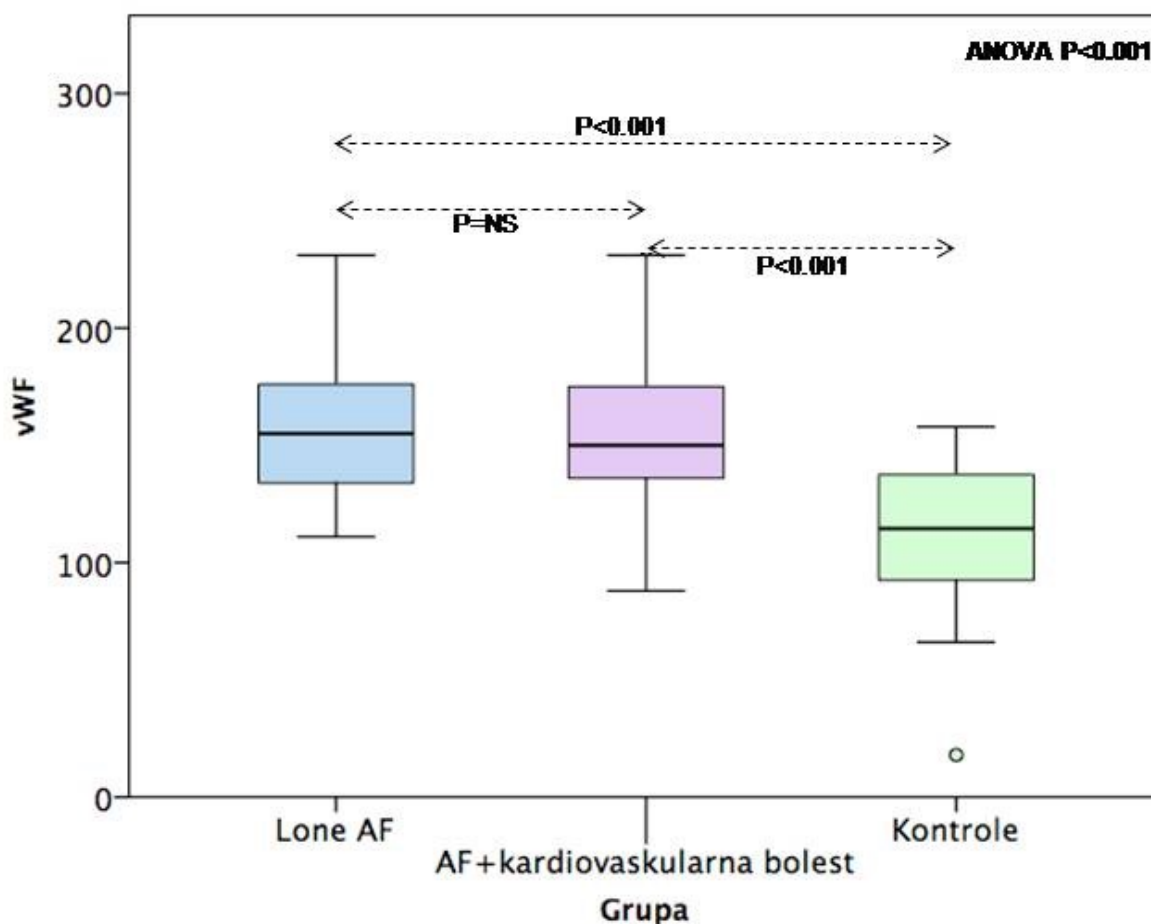
FMD - endotel-zavisna vazodilatacija; R - regresioni koeficijent; AF - arijalna fibrilacija; NYHA - New York Hear Association klasa srčane insuficijencije; BMI - indeks telesne mase, HDL - lipoprotein visoke gustine

U multivarijantnoj analizi, kao najznačajniji prediktori vrednosti FMD-a kod pacijenata sa AF identifikovani su prisustvo koronarne bolesti, srčane insuficijencije, BMI, trajanje AF >1 meseca pre uključenja u studiju i paroksizmalna AF. Prisustvo koronarne bolesti, rastuća NYHA klasa i više vrednosti BMI bili su pokazatelji “slabije” endotelne funkcije, kao i produženo trajanje AF pre određivanja FMD-a. Paroksizmalna AF se izdvojila kao jedini multivarijantni prediktor “bolje” endotelne funkcije (u poređenju sa dugotrajnom aritmijom).

Nije bilo razlika između vrednosti endotel-nezavisne vazodilatacije (NMD) kod pacijenata sa lone AF ($13.5\% \pm 1.8\%$), pacijenta sa AF i kardiovaskularnom bolešću ($12.8\% \pm 1.8\%$) i kontrolne grupe ($13.4\% \pm 1.8\%$).

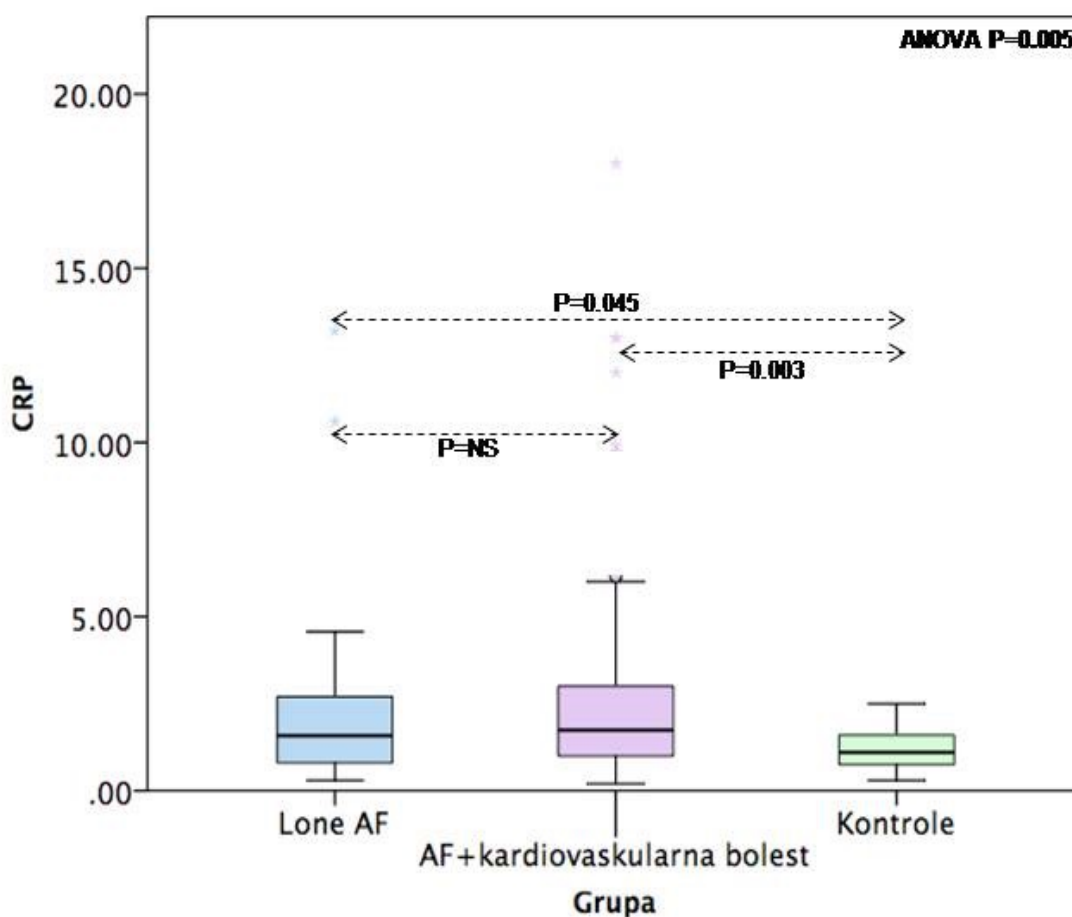
4.2.2 Određivanje i poređenje biomarkera.

4.2.2.1 Von Willebrandov faktor (vWF). Srednja vrednost vWF kod prve grupe pacijenata (lone AF) bila je 155.1 ± 28.1 U/dL, srednja vrednost vWF kod druge grupe pacijenata (AF sa kardiovaskularnim oboljenjem) bila je 156.2 ± 29.3 U/dL, a srednja vrednost vWF kod kontrolne grupe zdravih osoba bila je 112.4 ± 29.4 U/dL, $P < 0.001$ (Grafik 3). Srednje vrednosti vrednosti vWF kod obe grupe pacijenata sa AF bile su značajno povišene u odnosu na zdrave osobe (oba $P < 0.001$), dok između pacijenata sa lone AF i pacijenata sa AF i kardiovaskularnim oboljenjem nisu postojale razlike u pogledu vWF (Grafik 3



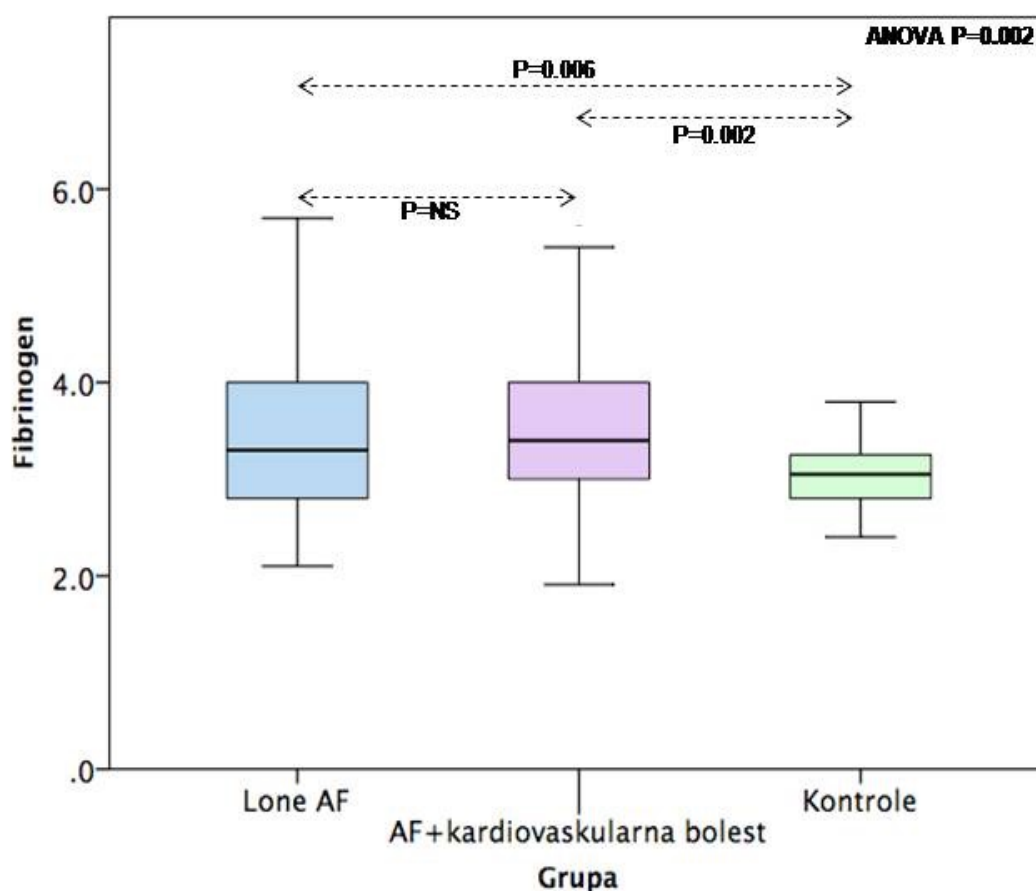
Grafik3. Srednje vrednosti vWF kod pacijenata sa lone AF, pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem i kontrolne grupe

4.2.2.2 C-reaktivni protein (CRP). Srednja vrednost CRP-a kod pacijenata sa lone AF bila je 1.6 mg/L (IQR, 0.8 - 2.7 mg/L), srednja vrednost CRP-a kod pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjima bila je 1.7 mg/L (IQR, 1.0 - 3.0 mg/L), a srednja vrednost CRP-a kod kontrolne grupe zdravih osoba bila je 1.1 mg/L (IQR, 0.7 - 1.6 mg/L), $P=0.005$ (Grafik 4). Obe grupe obolelih od AF imale su značajno više vrednosti CRP-a u odnosu na zdrave osobe (oba $P<0.05$), ali nisu postojale razlike u vrednosti CRP-a između pacijenata sa lone AF i pacijenata sa pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem (Grafik 4.).



Grafik 4. Srednje vrednosti CRP-a kod pacijenata sa lone AF, pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem i kontrolne grupe

4.2.2.3 Fibrinogen. Srednja vrednost fibrinogena kod pacijenata sa lone AF bila je 3.3 g/L (IQR, 2.8 - 4.0 g/L), srednja vrednost fibrinogena kod pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem bila je 3.5 g/L (IQR, 3.0 - 4.0 g/L), a srednja vrednost fibrinogena kod kontrolne grupe bila je 3.0 g/L (IQR, 2.8 - 3.3 g/L), $P=0.002$ (Grafik 5). Obe grupe pacijenata sa AF imale su značajno više vrednosti fibrinogena u odnosu na zdrave kontrole (oba $P<0.05$), dok nisu postojale razlike u vrednosti fibrinogena između pacijenata sa lone AF i pacijenata sa pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem (Grafik 5).

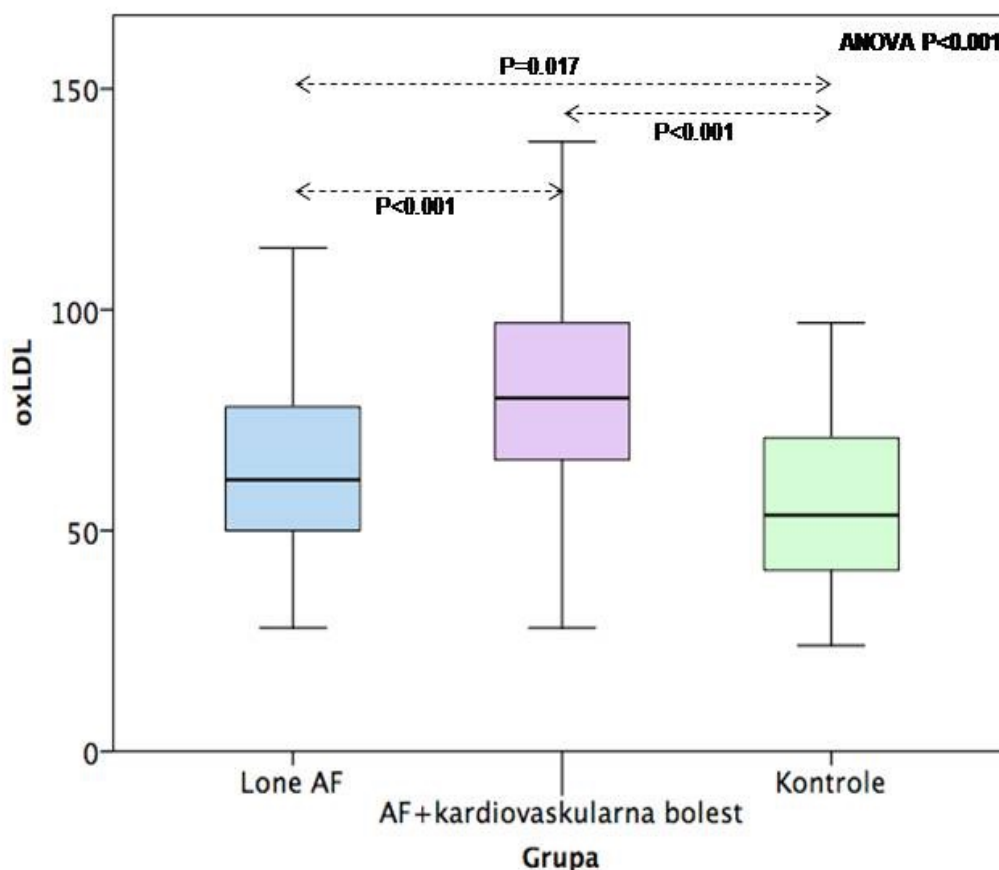


Grafik 5. Srednja vrednost fibrinogena kod pacijenata sa lone AF, pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem i kontrolne grupe

4.2.2.4 D-dimer. Srednja vrednost D-dimera kod pacijenata sa lone AF bila je 0.244 mg/L (IQR, 0.193 - 0.312 mg/L), srednja vrednost D-dimera kod pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem bila je 0.328 mg/L (IQR, 0.189 - 0.586 mg/L), a srednja vrednost D-dimera kod zdravih osoba bila je 0.199mg/L (IQR, 0.171 - 0.241

mg/L), $P < 0.001$. Pacijenti sa pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem imali su značajno više vrednosti D-dimera u odnosu na pacijente sa lone AF ($P = 0.022$), kao i u odnosu na zdrave osobe ($P = 0.002$), dok nisu nađene razlike u vrednostima D-dimera kod bolesnika sa lone AF i kontrola.

4.2.2.5 Oksidisani lipoprotein male gustine (oxLDL). Srednja vrednost oxLDL-a kod prve grupe pacijenata (lone AF) bila je 66.4 ± 21.3 U/L, srednja vrednost oxLDL-a kod druge grupe pacijenata (AF sa kardiovaskularnim oboljenjem) bila je 81.7 ± 22.9 U/L, a srednja vrednost oxLDL-a kod kontrolne grupe bila je 56.6 ± 18.7 U/L, $P < 0.001$ (Grafik 6). Obe grupe obolelih od AF imale su značajno više vrednosti oxLDL-a u odnosu na zdrave kontrole (oba $P < 0.05$), a oxLDL je bio značajno viši i kod pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem u odnosu na bolesnike sa lone AF ($P < 0.001$), Grafik 6.

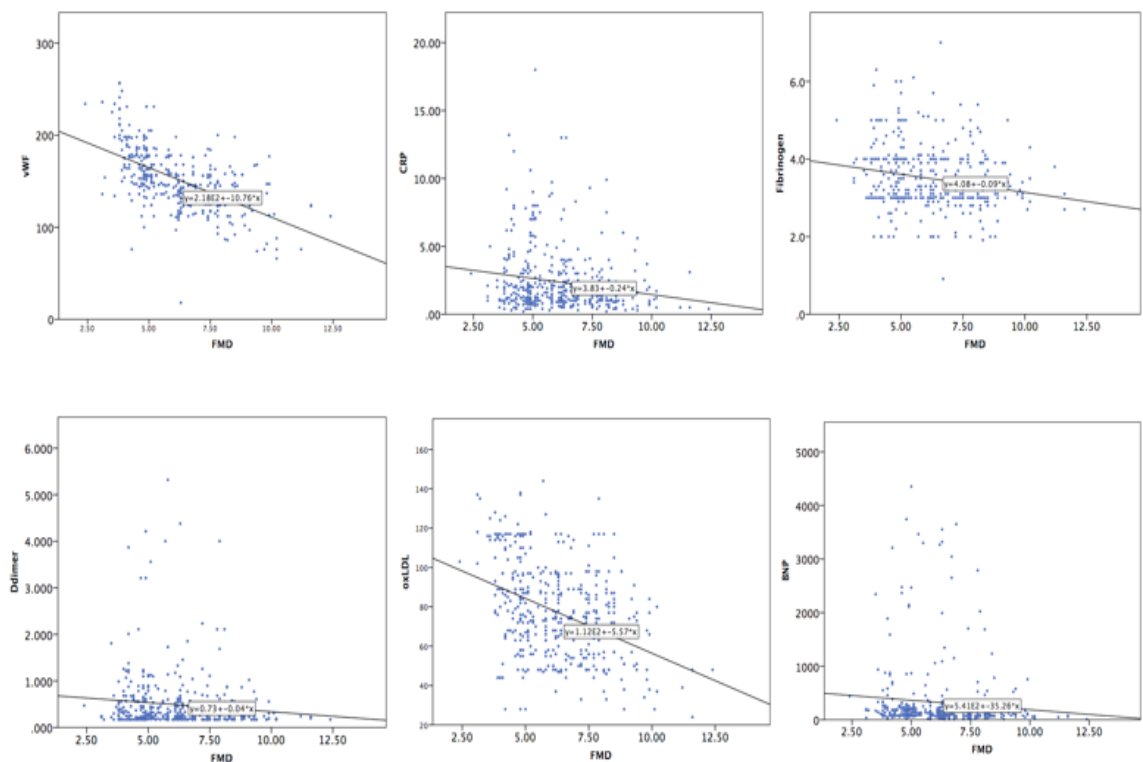


Grafik 6. Srednja vrednost oxLDL-a kod pacijenata sa lone AF, pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem i kontrolne grupe

4.2.2.6 B-tip natriuretskog peptide (BNP). Srednja vrednost BNP-a kod bolesnika sa lone AF bila je 68.0 pg/mL (IQR, 51.0 - 132.0 pg/mL), srednja vrednost BNP-a kod bolesnika sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem bila je 145.5 pg/mL (IQR, 88.0 - 254.0 pg/mL), a srednja vrednost BNP-a kod zdravih kontrola bila je 59.0 pg/mL (IQR, 40.0 - 124.0 pg/mL), $P < 0.001$. Bolesnici sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem imali su više vrednosti BNP-a u odnosu na pacijente sa lone AF, kao i u odnosu na kontrole (oba $P < 0.05$), dok nisu utvrđene razlike između pacijenata sa lone AF i zdravih osoba.

4.3 Procena povezanosti endotel-zavisne vazodilatacije (FMD) i biomarkera endotelne disfunkcije, inflamacije, tromboze, oksidativnog stresa i neurohormonalne aktivacije

Pokazana je značajna negativna linearna korelacija između endotel-zavisne vazodilatacije (FMD) i biomarkera endotelnog oštećenja/disfunkcije (vWF), inflamacije (CRP, fibrinogen), tromboze (D-dimer), oksidativnog stresa (oxLDL) i neurohormonalne aktivacije (BNP), prikazana na Grafiku 7.



Grafik 7. Korelacije između vrednosti FMD-a i ispitivanih biomarkera

U Tabeli 6. u kojoj su navedeni koeficijenti korelacije. U Tabeli 6. su prikazane i međusobne korelacije ispitivanih biomarkera.

Tabela 6. Korelacije između endotel-zavisne vazodilatacije i biomarkera (Spearmanova korelacija)

	FMD	vWF	CRP	Fibrinogen	D-dimer	oxLDL	BNP
FMD	/	-0.584*	-0.175*	-0.210*	-0.135**	-0.388*	-0.231*
vWF	-0.584*	/	0.188*	0.225*	/	0.381*	0.256*
CRP	-0.175*	0.188*	/	0.336**		0.216*	0.224*
Fibrinogen	-0.210*	0.225*	0.336**	/	0.285*	0.180*	0.249*
D-dimer	-0.135**	/	0.216*	0.285*	/	0.162*	0.273*
oxLDL	-0.388*	0.381*	0.216*	0.180*	0.162*	/	0.244*
BNP	-0.231*	0.256*	0.224*	0.249*	0.273*	0.244*	/

Statistička značajnost korelacije: *P<0.001; **P<0.05

Pored toga ispitana je i multivarijanta povezanost ispitivanih biomarkera i vrednosti FMD-a prikazana u Tabeli 7. Kao multivarijantni prediktori FMD-a ispostavili su se CRP i fibrinogen (pokazatelji proinflamatornog stanja) i oxLDL (pokazatelj oksidativnog stresa).

Tabela 7. Multivarijantni pokazatelji povezanosti biomarkera i FMD-a

Biomarkeri	R	95% interval poverenja	P vrednost
CRP	-0.075	-0.143 do - 0.006	0.033
Fibrinogen	-0.218	-0.417 do -0.018	0.033
oxLDL	-0.027	-0.034 do -0.021	<0.001

R - koeficijent linearne regresije

4.4 Procena povezanosti volumena leve pretkomore, endotel-zavisne vazodilatacije (FMD) i biomarkera endotelne disfunkcije, inflamacije, tromboze, oksidativnog stresa i neurohormonalne aktivacije

Istraživanjem je pokazana značajna negativna korelacija između indeksiranog volumena leve pretkomore i endotel-zavisne vazodilatacije kod svih pacijenata sa AF, kao i kod prve (lone AF) i druge grupe pacijenata sa AF (AF+kardiovaskularno oboljenje) (Tabela 8.).

Tabela 8. Korelacije između volumena leve pretkomore, endotel-zavisne vazodilatacije i biomarkera (Spearmanova korelacija)

Indeksirani volumen leve pretkomore	FMD	vWF	CRP	Fibrinogen	D-dimer	oxLDL	BNP
Svi pacijenti sa AF	-0.148*	0.093*	/	0.117*	0.084*	0.122*	0.278*
Lone AF	-0.144**	0.314**	/	/	/	0.314**	0.430*
AF + kardio-vaskularno oboljenje	-0.151**	0.685*	/	0.126**	0.134*	0.211*	0.295*

Statistička značajnost korelacije: *P<0.001; **P<0.05

Pokazane su značajne pozitivne korelacije između volumena leve pretkomore i biomarkera endotelne disfunkcije (vWF), inflamacije (fibrinogen), tromboze (D-dimer), oksidativnog stresa (oxLDL) i neurohormonalne aktivacije (BNP), Tabela 8. Nije pokazana korelacija indeksiranog volumena leve pretkomore i CRP-a.

4.5 Prognošički značaj endotel-zavisne vazodilatacije (FMD-a) i biomarkera endotelne disfunkcije, inflamacije, tromboze, oksidativnog stresa i neurohormonalne aktivacije

Tokom perioda prospektivnog praćenja bolesnika sa AF, srednjeg trajanja 48 meseci (IQR, 40-60 meseci), registrovani su prethodno definisani ishodi istraživanja i analizirana je povezanost endotelne funkcije procenjene FMD metodom, kao i biomarkera endotelnog oštećenja (vWF), inflamacije (CRP, fibrinogen), tromboze (D-dimer), oksidativnog stresa (oxLDL) i neurohormonalne aktivacije (BNP) sa ovim ishodima.

4.5.1 Prva grupa - pacijenti sa lone atrijalnom fibrilacijom

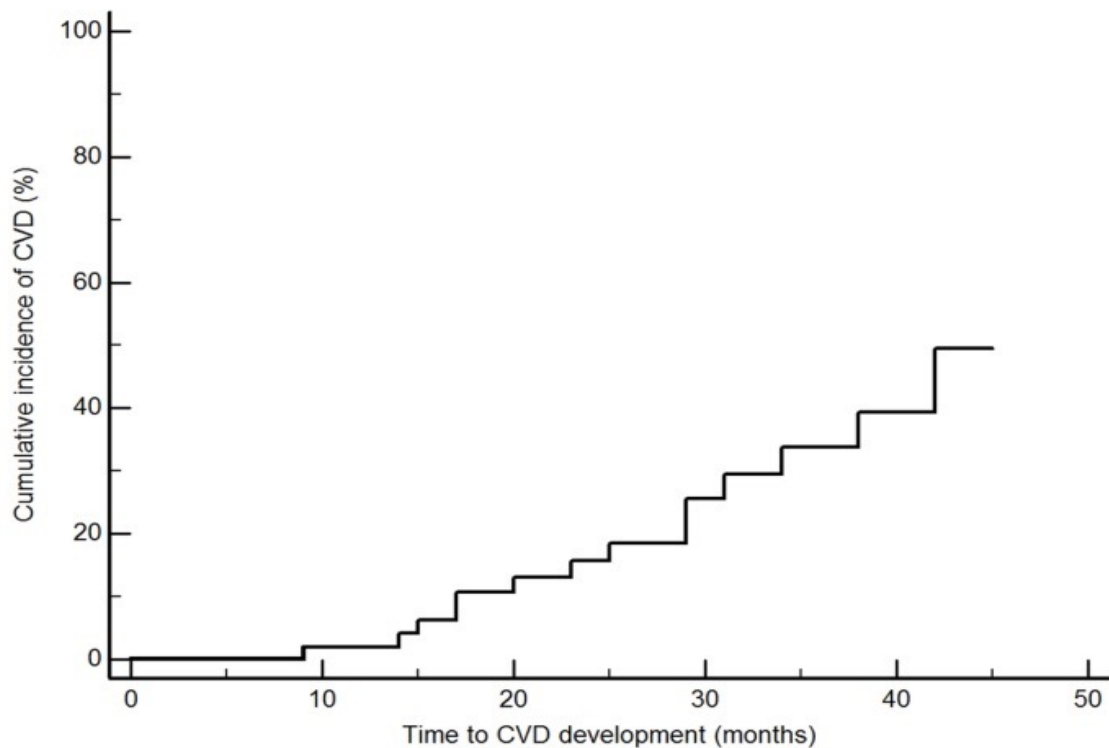
Tokom prospektivnog kliničkog praćenja pojava novonastale kardiovaskularne bolesti je zabeležena kod 14 (28.0%) pacijenata sa lone AF i kod svih 14 pacijenata je dijagnostikovana arterijska hipertenzija (Tabela 9).

Tabela 9. Učestalost ispoljavanja ishoda istraživanja kod pacijenata sa AF

Ishodi	Grupa I - lone AF (n=50)		Grupa II - AF sa pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem (n=352)	
	n	% po pacijent-godini	n	% po pacijent-godini
Ukupni mortalitet	/	/	39	2.77
Kardiovaskularni mortalitet	/	/	36	2.55
Infarkt miokarda	/	/	14	0.99
Koronarna revaskularizacija (perkutana/hirurška)	/	/	21	1.49
Moždani udar/TIA/PE	/	/	24	1.7
Periferna arterijska bolest	/	/	5	0.35
Srčana insuficijencija (prva epizoda srčane insuficijencije)	/	/	32 (13)	2.27 (0.92)
Arterijska hipertenzija	14	7.0	3	0.21
Permanenta AF	7	3.5	61	4.33

AF - atrijska fibrilacija; TIA - tranzitorni ishemijski atak; PE - periferni embolizam

Srednje vreme do pojave novonastale kardiovaskularne bolesti kod pacijenata sa lone AF bilo je 28 meseci (IQR, 9–42 meseci). Ostali definisani kardiovaskularni ishodi nisu registrovani, nije bilo smrtnih ishoda i kod svih pacijenata je ostvareno puno kliničko praćenje. Grafik 8. prikazuje Kaplan-Meier krivu kumulativne incidence razvoja kardiovasukularne bolesti kod bolesnika sa lone AF.



Grafik 8. Kriva kumulativne incidencije razvoja kardiovasukularne bolesti kod bolesnika sa lone AF

Klinički i laboratorijski prediktori nastanka kardiovaskularne bolesti (arterijske hipertenzije) kod pacijenata sa lone AF prikazani su u Tabeli 10. Pokazana je značajna povezanost sa starenje, prethodnim trajanjem AF, bazalnim vrednostima krvnog pritiska, BMI i serumskom koncentracijom ukupnog i LDL holesterola.

Tabela 10. Klinički i laboratorijski rediktori razvoja kardiovaskularne bolesti (arterijske hipertenzije) kod pacijenata sa lone AF

Prediktori	HR	95% interval poverenja	P vrednost
Starost pro uključenju (godine)	1.2	1.0 – 1.4	0.013
Trajanje AF pre uključenja (meseci)	1.1	1.0 – 2.3	0.019
Sistolni krvni pritisak (mmHg)	1.1	1.0 – 1.2	0.002
Dijastolni krvni pritisak (mmHg)	1.2	1.0 – 1.3	0.018
BMI (k/m ²)	1.2	1.0 – 1.4	0.040
Ukupni holesterol (mmol/L)	2.0	1.7 – 3.4	0.011
LDL (mmol/L)	2.3	1.2 - 4.2	0.008

HR – Hazard Ratio; AF -atrijalna fibrilacija; BMI - indeks telesne mase; LDL - lipoproteini niske gustine

Rezultati analize povezanosti endotel-zavisne vazodilatacije (FMD-a) i ispitivanih biomarkera sa pojavom novonastale kardiovaskularne bolesti (arterijske hipertenzije) kod pacijenata sa inicijalno lone AF primazani su u Tabeli 11. Pokazano je da postoji značajna povezanost rastućih kvartila vrednosti FMD-a (I-IV kvartil FMD-a: <5.0%; 5.0 do <6.05%; 6.05 do <7.55%) sa nižim rizikom za nastanak hipertenzije, kao i značajna povezanost rastućih kvartila vrednosti vWF-a (-IV kvartil vWF-a: <133 U/dL; 133 do <155 U/dL; 155 do <176 U/dL; ≥176 U/dL), CRP-a (I-IV kvaril CRP-a: <0.80 mg/L; 0.80 do <1.58 mg/L; 1.58 do <2.70 mg/L; ≥2.70 mg/L) i oxLDL-a (I-IV kvartil oxLDL-a: <49.5 U/L; 49.5 do <61.5 U/L; 61.5 to <79.0 U/L; ≥79.0 U/L) sa povišenim rizikom za pojavu arterijske hipertenzije, kako u univarijantnoj Coxovoj analizi, tako i nakon adjustiranja za kliničke prediktore hipertenzije kod pacijenata sa lone AF, prikazanih u Tabeli 10. Ostali ispitivani

biomarkeri nisu bili povezani sa ispoljavanjem kardiovaskularne bolesti u grupi lone AF pacijenata.

Tabela 11. Povezanost pokazatelja endotelne funkcije i ispitivanih biomarkera sa razvojem kardiovaskularne bolesti (arterijske hipertenzije) kod pacijenata sa lone AF

	Univarijanta analiza			Adjustirana analiza*		
	HR	95% interval poverenja	P vrednost	HR	95% interval poverenja	P vrednost
FMD (kvartili)	0.2	0.1 - 0.5	0.001	0.4	0.2 - 0.6	0.034
vWF (kvartili)	2.80	1.4-5.5	0.003	2.1	1.1 - 3.9	0.023
CRP (kvartili)	2.3	1.2 - 4.4	0.008	2.5	1.3 - 5.1	0.009
Fibrinogen (kvartili)	1.6	1.1–2.5	0.043	/	/	/
oxLDL (kvartili)	2.5	1.3-4.9	0.005	2.2	1.1 - 4.4	0.019

HR - Hazard Ratio; *Adjustirano za starost, pol, trajanje AF, serumske koncentracije ukupnog holesterola i LDL-a i vrednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska

Tokom prospektivnog praćenja progresija AF od paroksizmalnih i perzistentnih oblika aritmije ka permanentnoj AF registrovana je kod 7 (14.0%) ispitanika u grupi pacijenata sa lone AF. Endotelna funkcija procenjena FMD metodom nije bila značajno povezana sa nastankom permanentne AF. Od ispitivanih biomarkera, CRP (HR, 1.3; 95% CI, 1.2 - 2.8; P=0.004) i oxLDL (HR, 1.5, 95% CI, 1.1 - 3.8, P<0.001) su pokazali povezanost sa rizikom za nastanak permanentne AF, međutim nakon adjustiranja za klinički značajne varijable povezane sa progresijom ka permanentnoj AF (statorst, indeksirani volumen leve pretkomore, razvoj arterijske hipertenzije, izostanak lečenja ablacijom leve pretkomore), ovi biomarkeri više nisu bile nezavisno povezani sa rizikom od permanentne aritmije.

4.5.2 Druga grupa - pacijenti sa atrijalnom fibrilacijom i kardiovaskularnim oboljenjem

Ishodi registrovani tokom prospektivnog kliničkog praćenja druge grupe pacijenata prikazani su u Tabeli 9. Pojava nekog od prethodno definisanih kardiovaskularnih ishoda registrovana je kod 92 pacijenta (26.1%) druge grupe, tokom srednjeg perioda praćenja od 23 meseca (IQR, 9 do 35 meseci).

Smrtni ishod je zabeležen kod 39 (11.1%) pacijenata (kardiovaskularna smrt kod 36 pacijenata, 2 pacijenta su umrla od maligniteta, 1 pacijent je stradao u saobraćajnoj nesreći), infarkt miokarda je doživelo 14 (4.0%) pacijenata, koronarna revaskularizacija je obavljena kod 21 (6.0%) pacijenta — perkutanom koronarnom intervencijom kod 9 pacijenata i hirurškom revaskularizacijom miokarda kod 12 pacijenata, tromboembolijske komplikacije (moždani udar/TIA/periferni arterijski embolizam) su doživela 24 (6.8%) pacijenta, periferna arterijska bolest je dijagnostikovana kod 5 (1.4%) obolelih, novonastala srčana insuficijencija (prva epizoda srčanog popuštanja kod bolesnika koji ranije nije imao srčnu slabost) ili sniženje ejeckione frakcije leve komore <40% registrovani su kod 13 (3.7%) pacijenata, a pogoršanje hronične srčane slabosti je utvrđeno kod 32 (9.1%) obolelih. Progresija AF od paroksizmalnih i perzistentnih oblika aritmije ka permanentnoj AF je zabeležena kod 61 (17.3%) pacijenta druge grupe (Tabela 9.).

Prilikom analize prediktora definisanih kardiovaskularnih ishoda u Coxovoj regresionoj analizi ispitana je povezanost rastućih vrednosti kvartila FMD-a (I-IV kvartil FMD-a <4.8%; 4.8% do <5.8%; 5.8% do 7.2%; $\geq 7.2\%$), kao i rastućih vrednosti kvartila svih ispitivanih biomarkera, uključujući vWF (I-IV kvartil: <136 U/dL; 136 U/dL do <150 U/dL; 150 U/dL do <175 U/dL; ≥ 175 U/dL), CRP (I-IV kvartil: <1.0 mg/L; 1.0 mg/L do <1.7 mg/L; 1.7 mg/L do <3.0 mg/L; ≥ 3.0 mg/L), fibrinogen (I-IV kvartil: <3.0 g/L; 3.0 g/L do <3.4 g/L; 3.4 g/L do <4.0 g/L; ≥ 4.0 g/L), D-dimer (I-IV kvartil: <0.189 mg/L; 0.189 mg/L do <0.328 mg/L; 0.328 mg/L do <0.586 mg/L; ≥ 0.586 mg/L), oxLDL (I-IV kvartil: <66 U/L; 66 do <80 u/L; 80 do <97 U/L; ≥ 97 U/L), i BNP (I-IV kvartil: <88 pg/mL; 88 do <145 pg/mL; 145 do <254 pg/mL; ≥ 254 pg/mL). Nakon univarijantne Coxove analize izvršena je kontrola (adjustacija) za kliničke prediktore ispitivanih ishoda (navedeni ispod tabela u kojima su prikazani rezultati Coxove regresione analize).

4.5.2.1 Prediktori ukupnog i kardiovaskularnog mortaliteta.

Tabela 12. prikazuje rezultate analize povezanosti FMD-a i ispitivanih biomarkera i rizika za ukupni mortalitet u drugoj grupi ispitanika. Prikazani su rezultati univarijantne Coxove regresione analize, kao i rezultati analize prediktora koji su bili značajno povezani sa mortalitetom nakon adjustacije za klinički značajne varijable - starost, pol i pridružene kardiovaskularne komorbiditete.

Tabela 12. Prediktori ukupnog mortaliteta

	Univarijantna analiza			Adjustirana analiza*		
	HR	95% interval poverenja	P vrednost	HR	95% interval poverenja	P vrednost
FMD (kvartili)	0.7	0.4 - 0.9	0.015	/	/	/
vWF (kvartili)	2.0	1.4 - 2.5	0.003	1.7	1.1 - 2.5	0.011
CRP (kvartili)	1.3	1.1 - 3.1	0.023	/	/	/
Fibrinogen (kvartili)	1.7	1.2 - 2.5	0.003	/	/	/
D-dimer (kvartili)	1.8	1.3 - 2.6	<0.001	1.6	1.1 - 2.5	0.018
oxLDL (kvartili)	1.7	1.2 - 2.3	0.002	/	/	/
BNP (kvartili)	2.8	1.8 - 4.3	<0.001	2.5	1.5 - 3.9	<0.001

HR - Hazard Ratio; *Adjustirano za starost, pol, ejectionu frakciju leve komore i kardiovaskularne komorbiditete

U Tabeli 13. su prikazani odgovarajući rezultati analize povezanosti FMD-a i ispitivanih biomarkera sa kardiovaskularnim mortalitetom (univarijantna i adjustirana Coxova regresiona analiza).

Tabela 13. Prediktori kardiovaskularnog mortaliteta

	Univarijanta analiza			Adjustirana analiza*		
	HR	95% interval poverenja	P vrednost	HR	95% interval poverenja	P vrednost
FMD (kvartili)	0.6	0.3 - 0.8	0.019	/	/	/
vWF (kvartili)	2.3	1.7 - 3.3	<0.001	1.7	1.1 - 2.7	<0.001
Fibrinogen (kvartili)	1.7	1.2 - 2.4	0.006	/	/	/
D-dimer (kvartili)	2.1	1.5 - 3.0	<0.001	1.6	1.1 - 2.5	0.026
oxLDL (kvartili)	1.9	1.4 - 2.8	<0.001	/	/	/
BNP (kvartili)	3.2	2.1 - 4.9	<0.001	2.7	1.6 - 4.4	<0.001

HR - Hazard Ratio; *Adjustirano za starost, pol, ejectionu frakciju leve komore i kardiovaskularne komorbiditete

Endotelna funkcija procenjena FMD metodom, i svi analizirani biomarkeri bili su značajno povezani sa ukupnim mortalitetom u univarijantnoj analizi, a povezanost sa mortalitetom se održala za vWF, D-dimer i BNP i nakon adjustacije za kliničke varijable (Tabela 12.). FMD, vWF, fibrinogen, D-dimer i oxLDL su bili univarijantno povezani sa kardiovaskularnim mortalitetom, dok su vWF, D-dimer i BNP sadržali povezanost i nakon adjustacije (Tabela 13.).

4.5.2.2 Prediktori infarkta miokarda i koronarne revaskularizacije

Tabele 14. pokazuje povezanost ispitivanih varijabli (univarijantnu i adjustiranu Coxovu regresionu analizu) sa progresijom koronarne bolesti, definisane pojavom infarkta miokarda.

Tabela 14. Prediktori infarkta miokarda

	Univarijanta analiza			Adjustirana analiza*		
	HR	95% interval poverenja	P vrednost	HR	95% interval poverenja	P vrednost
FMD (kvartili)	0.6	0.2 - 0.7	0.005	0.7	0.3 - 0.9	0.002
vWF (kvartili)	2.6	2.2 - 3.9	<0.001	2.5	1.9 - 2.9	0.003
oxLDL (kvartili)	6.4	2.1 - 19.1	0.001	/	/	/

HR - Hazard Ratio; *Adjustirano za starost, pol, klasične aterosklerotiske faktore rizika i ranije prisustvo koronarne bolesti

Tabele 15. pokazuje povezanost ispitivanih varijabli (univarijantnu i adjustiranu Coxovu regresionu analizu) sa miokardnom revaskularizacijom perkutanom koronarnom intervencijom ili hirurškom revaskularizacijom miokarda.

Tabela 15. Prediktori koronare revaskularizacije (perkutana koronarna intervencija ili hirurška revaskularizacija)

	Univarijanta analiza			Adjustirana analiza*		
	HR	95% interval poverenja	P vrednost	HR	95% interval poverenja	P vrednost
FMD (kvartili)	0.5	0.3 - 0.8	0.003	/	/	/
vWF (kvartili)	2.7	1.7 - 3.8	<0.001	2.2	1.7 - 2.9	<0.001
oxLDL (kvartili)	4.4	2.1 - 9.1	<0.001	/	/	/

HR - Hazard Ratio; *Adjustirano za starost, pol, klasične aterosklerotiske faktore rizika i ranije prisustvo koronarne bolesti

U adjustiranoj analizi (adjustacija za starost, pol, prethodno prisustvo koronarne bolesti i kasične aterosklerotičke faktore rizika), pokazano je da je “bolja” endotelna funkcija, procenjena FMD metodom, protektivni činičac za nastanak infarkta miokarda i revaskularizaciju srca, dok su više vrednosti biomarkera endotelnog oštećenja (vWF) i oksidativnog stresa (oxLDL) povezane sa povišenim rizikom od nepovoljnih koronarnih događaja.

4.5.2.3 Prediktori tromboembolijskih komplikacija

Tabela 16. pokazuje povezanost ispitivanih varijabli (FMD i biomarkeri) u univarijantnoj i adjustiranoj Coxovoj regresionoj analizi (adjustacija je obavljena za starost, pol i CHA₂DS₂-VASc skor pri uključenju u studiju) sa pojavom tromboembolijskih komplikacija definisanih kao zbirni ishod cerebrovaskularnog insulta, tranzitornog ishemijskog ataka i perifernog arterijskog tromboembolizma. Nije pokazana značajna povezanost FMD-a sa tromboembolijskim komplikacijama. Međutim, kao nezavisni prediktori tromboembolijskih događaja kod druge grupe pacijenata sa AF izdvojili se D-dimer, vWF i oxLDL (Tabela 16.).

Tabela 16. Prediktori tromboembolijskih komplikacija (moždani udar/tranzitorni ishemijski atak/periferni arterijski embolizam)

	Univarijanta analiza			Adjustirana analiza*		
	HR	95% interval poverenja	P vrednost	HR	95% interval poverenja	P vrednost
vWF (kvartili)	3.9	2.1 - 7.2	<0.001	3.3	1.9 - 4.1	<0.001
D-dimer (kvartili)	1.8	1.2-3.4	0.002	1.6	1.1-2.9	0.013
oxLDL (kvartili)	2.1	1.3 - 3.3	0.001	1.8	1.2 - 2.9	0.001
BNP (kvartili)	2.3	1.9 - 3.5	0.016	/	/	/

HR - Hazard Ratio; *Adjustirano za starost, pol, CHA₂DS₂-VASc skor, antikoagulantnu terapiju

4.5.2.4 Prediktori periferne arterijske bolesti

Tabela 17. prikazuje rezultate analize povezanost ispitivanih varijabli i pojave periferne arterijske bolesti u univarijantnoj i adjustiranoj Coxovoj regresionoj analizi (adjustacija je obavljena za starost, pol i klasične aterosklerotiske faktore rizika). U univarijantnoj analizi, pokazana je povezanost vWF i rizika za pojavu periferne vaskularne bolesti, koja nije bila značajna nakon adjustacije za klinički značajne varijable. FMD i ostali ispitivani biomarkeri nisu bili povezani sa rizikom od periferne arterijske bolesti.

Tabela 17. Prediktori periferne arterijske bolesti

	Univarijanta analiza			Adjustirana analiza*		
	HR	95% interval poverenja	P vrednost	HR	95% interval poverenja	P vrednost
vWF (kvartili)	5.0	1.9 - 7.1	0.033	/	/	/

HR - Hazard Ratio; *Adjustirano za starost, pol i klasične aterosklerotiske faktore rizika

4.5.2.5 Prediktori novonastale srčane insuficijencije ili pogoršanja hronične srčane insuficijencije

U Tabeli 18. su prikazani rezultati univarijantne i adjustirane analize (adjustacija za starost, pol, ejekcionu frakciju leve komore i kardiovaskularne komorbiditete pri uključenju u istraživanje) povezanosti FMD-a i ispitivanih biomarkera sa nastankom srčanog popuštanja kod pacijenata koji prethodno nisu imali srčanu insuficijenciju ili sa pojavom sistolne disfunkcije leve komore (definisane kao sniženje ejekcione frakcije leve komore <40%) tokom praćenja.

Tabela 18. Prediktori novonastale srčane insuficijencije ili sistolne disfunkcije leve komore (EF <40%)

	Univarijanta analiza			Adjustirana analiza*		
	HR	95% interval poverenja	P vrednost	HR	95% interval poverenja	P vrednost
vWF (kvartili)	2.4	1.3 - 4.6	0.007	/	/	/
D-dimer (kvartili)	1.7	1.5 - 2.9	0.007	/	/	/
BNP (kvartili)	4.1	2.5 - 6.1	0.003	3.7	2.8 - 5.9	0.024

HR - Hazard Ratio; *Adjustirano za starost, pol, ejeckionu frakciju leve komore i kardiovaskularne komorbiditete

Tabela 19. pokazuje rezultate istog tipa analize za pogoršanje hronične srčane insuficijencije kod pacijenata koji su i ranije imali srčanu slabost.

Tabela 19. Prediktori pogoršanja hronične srčane insuficijencije

	Univarijanta analiza			Adjustirana analiza*		
	HR	95% interval poverenja	P vrednost	HR	95% interval poverenja	P vrednost
vWF (kvartili)	2.9	1.9 - 4.6	<0.001	2.6	1.6 - 4.3	<0.001
D-dimer (kvartili)	1.8	1.2 - 2.5	0.003	/	/	/
oxLDL (kvartili)	2.5	1.7 - 3.9	<0.001	/	/	/
BNP (kvartili)	3.9	2.2 - 6.8	<0.001	3.7	2.1 - 6.5	<0.001

HR - Hazard Ratio; *Adjustirano za starost, pol, ejeckionu frakciju leve komore i kardiovaskularne komorbiditete

Endotelna funkcija procenjena FMD metodom nije bila značajno povezana kako sa rizikom za razvoj srčane insuficijencije ili sistolne disfunkcije leve komore, tako ni sa rizikom za pogoršanje hroničnog srčanog popuštanja. Međutim, u univarijantnoj analizi je pokazano da postoji povezanost biomarkera endotelnog oštećenja (vWF), protrombotskog stanja (D-dimer), oksidativnog stresa (oxLDL) i neurohormonalne aktivacije (BNP), sa nastankom ili pogoršanjem srčane insuficijencije (Tabele 18. i 19.) Nakon adjustacije za kliničke varijable od značaja za ispoljavanje srčanog popuštanja, pokazana je povezanost sa rizikom od novonastale srčane insuficijencije za BNP (Tabela 18.) dok su vWF i BNP zadržali nezavisnu prediktivnu vrednost za pogoršanje hronične srčane insuficijencije (Tabela 19.).

4.5.2.6 Prediktori progresije paroksizmalne i perzistentne AF u permanentnu aritmiju

Tokom prospektivnog praćenja pacijenata druge grupe došlo je do progresije AF od paroksizmalnih i perzistentnih oblika ka permanentnoj aritmiji kod 61 (17.3%) bolesnika. Nije pokazana povezanost endotelne funkcije procenjene FMD metodom sa nastankom permanentne AF. Osim oxLDL-a (HR, 1.7; 95% CI, 1.5-2.4; P=0.024), ostali ispitivani biomarkeri nisu bili povezani sa progresijom ka permanentnoj aritmiji. Nakon adjustacije za klinički značajne varijable povezane sa pojavom permanentne AF (starost, prisustvo arterijske hipertenzije, srčanog popuštanja, volumen leve pretkomore i odustvo lečenja ablacijom leve pretkomore), povezanost oxLDL-a i razvoja permanentne AF je izgubila statistički značaj.

5. DISKUSIJA

Ovim opservacionim, kliničkim istraživanjem u koje je uključeno 446 ispitanika (50 pacijenata sa idiopatskom, “lone” AF, 352 pacijenta sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem i 44 zdrave kontrole) izvršena je procena endotelne funkcije primenom endotel-zavisne vazodilatacije (FMD) i određivanjem serumske koncentracije biomarkera endotelnog oštećenja/disfunkcije (vWF). Pored toga, određene su i serumske koncentracije biomarkera inflamacije (CRP, fibrinogen), protrombotskog stanja (D-dimer), oksidativnog stresa (oxLDL) i neurohormonalne aktivacije (BNP). Pokazatelji endotelne funkcije (FMD i vWF), kao i drugi ispitivani biomarkeri su upoređeni kod pacijenata sa AF i kod zdravih osoba, ispitana je međusobna povezanost endotel-zavisne vazodilatacije i vWF, kao povezanost pokazatelja endotelne funkcije i biomarkera inflamacije, tromboze, oksidativnog stresa i neurohormonalne aktivacije. Analizirana je i povezanost endotel-zavisne vazodilatacije, vWF i ostalih biomarkera sa remodelovanjem, odnosno povećanja volumena leve pretkomore. Tokom prospektivnog kliničkog praćenja obolelih od AF, srednjeg trajanja 4 godine, ispitan je prognostički značaj sistemske endotelne funkcije i navedenih biomarkera za pojavu ili pogoršanje kardiovaskularne bolesti i nastanak tromboembolijskih komplikacija AF.

Ispitivanjem sistemske endotelne funkcije FMD metodom u našem istraživanju je pokazano da je endotelna funkcija kod pacijenata sa AF “oslabljena” u odnosu na zdrave osobe u sinusnom ritmu, nezavisno od pridružene kardiovaskularne bolesti. Srednja vrednost FMD-a kod pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem ($5.9\% \pm 1.6\%$) bila je značajno niža nego kod zdravih osoba ($7.4\% \pm 1.8\%$), međutim, niža srednja vrednost FMD-a je registrovana i kod pacijenata sa lone AF ($6.4\% \pm 1.9\%$) koji su činili grupu mlađih bolesnika (srednja starost 48.6 ± 11.5 godina), bez pridružene kardiovaskularne bolesti ili tradicionalnih faktora rizika za endotelno oštećenje. Pored toga, nezavisno od pridruženih komorbiditeta, veća endotel-zavisna vazodilatacija je zabeležena kod pacijenata sa paroksizmalnom AF ($6.7\% \pm 1.6\%$) u poređenju sa perzistentnom ($6.3\% \pm 1.7\%$) ili permanentnom aritmijom ($6.4 \pm 1.7\%$), dok između pacijenata sa perzistentnom i permanentnom AF nije bilo razlika u vrednostima FMD-a.

Analizom prediktora vrednosti FMD-a kod pacijenata obolelih od AF, nakon kontrole za kliničke i laboratorijske varijable koje su ovom istraživanju bile pvovezane sa endotel zavisnom vazodilatacijom, pokazano je da je produženo trajanje AF (> mesec dana pre određivanja FMD-a) prediktor snižih vrednosti FMD-a, a da je paroksizmalna AF (nasuprot dugotrajnim oblicima aritmije) pediktor viših vrednosti FMD-a. Ovim

rezultatima je potvrđena hipoteza da je AF činilac sa nezavisnim nepovoljnim uticajem na sistemsku endotelnu funkciju, naročito nakon dužeg trajanja aritmije i da se endotelna disfunkcija može očekivati kod različitih grupa obolelih od AF, uključujući i pacijente sa lone AF.

Slične rezultate smo pokazali i ranijim istraživanjem u grupi od 44 mladih pacijenata sa perzistentnom lone AF kod kojih je pokazano da je srednja vrednost FMD-a niža u odnosu na zdrave osobe u sinusnom ritmu i da su prisustvo AF, kao i duže trajanje aritmije povezani sa “slabijom” endotelnom funkcijom, nezavisno od drugih uticaja (40). Prisustvo endotelne disfunkcije kod bolesnika od lone AF pokazano je i u nekoliko ranijih istraživanja na manjem broju obolelih od idiopatske AF (41-44). Takahashi *et al.* su među prvima pokazali da je endotelna funkcija ispitana metodom venske okluzione pletizmografije “oslabljena” kod pacijenata sa AF, uključujući i pacijente sa lone AF (14 pacijenata), u odnosu na osobe u sinusnom ritmu (41). Slične rezultate su pokazale i studije Guazzija *et al.* na manjem broju ispitanika sa lone AF mlađe životne dobi (18 do 35 pacijenata) u kojima je endotelna funkcija procenjena metodom FMD-a (42-44). Ovim istraživanjima je pokazano da je srednja vrednost FMD-a kod obolelih od lone AF niža u odnosu na zdrave kontrole, da se prisustvo endotelne disfunkcije u lone AF nepovoljno odražava na toleranciju fizičkog napora kod pacijenata (43), kao i da se kardioverzijom u sinusni ritam postiže poboljšanje endotelne funkcije (44).

Iako je srednja vrednost FMD-a u kod pacijenata sa lone AF ($6.4\% \pm 1.9\%$) u našem istraživanju bila viša u odnosu na pacijente sa AF i pridruženim kardiovaskularnim komorbiditetom ($5.9\% \pm 1.6\%$), nije pokazano da je ova razlika statistički značajna, suprotno očekivanju da će pacijenti sa AF i pridruženim komorbiditetima imati “slabiju” endotelnu funkciju u poređenju sa lone AF. Ovaj nalaz je u suprotnosti sa ranijim istraživanjem Guazzija *et al.* koje je pokazalo da je endotel-zavisna vazodilatacija kod pacijenata sa lone AF veća u odnosu na pacijente koji su pored AF mali hipertenziju ili dijabetes, kao i da se nakon kardioverzije lone AF, endotelna funkcija oporavlja u većoj meri nego kada su prisutni komorbiditeti (43). Međutim, slično našem istraživanju, Takahashi *et al.* nisu pokazali razliku u endotelnoj funkciji između grupe pacijenata sa lone AF i grupe pacijenata sa komorbiditetima, dok je oporavak endotele funkcije kod obe grupe u studiji Takahashija *et al.* bio komparativan nakon uspostavljanja sinusnog ritma (41). Moguće je da su nepovoljni reološki uticaji oscilatornog toka krvi za vreme AF (45), kao i nepovoljni uticaji različitih cirkulišućih činilaca bili presudni za nastanak endotelne

disfunkcije u lone AF, umanjujući značaj pridruženog kardiovaskularnog oboljenja. Tome u prilog govore nalazi naše studije da je endotelna disfunkcija u perifernim krvnim sudovima povezana sa perzistentom aritmijom dužeg trajanja pre uključenja u studiju, kao i da je paroksizmalna AF (kratkog trajanja) povezana sa "boljom" endotelnom funkcijom. Povezanost dužine trajanja AF i nastanka endotelne disfunkcije može imati implikacije u pogledu tromboembolijskog rizika kod obolelih, imajući u vidu da se endotelna disfunkcija može smatrati komponentom protrombotskog stanja koje karakteriše AF (21, 38). Rezultati skorašnje studije pokazuju da je godišnja stopa tromboembolijskih komplikacija značajno niža kod pacijenata sa paroksizmalnom AF (2.1%) u poređenju sa perzistentnom (3.0%) i permanentnom (4.2%) AF (45a). Pored toga, pokazano je da je paroksizmalna AF nezavisni prediktor nižeg rizika za nastanak tromboembolijskih komplikacija u odnosu na perzistentnu (HR 1.83; 95% CI, 1.43 – 2.35) i permanentnu AF (HR 1.44; 95% CI, 1.05–1.98). Ne samo da je paroksizmalna AF povezana sa nižim rizikom od moždanog udara i sistemskog tromboembolizma, već je praćena i nižim ukupnim mortalitetom u poređenju sa perzistentnom aritmijom, kako pokazuju rezultati pod-analize skorašnje ROCKET-AF studije (45b). Moguće je da je postoji povezanost kraćeg trajanja AF, "bolje" endotelne funkcije i sniženog rizika od tromboembolijskih komplikacija, kako pokazuju rezultati našeg istraživanja.

Pored navedenog, u ovom istraživanju je pokazano je da su cirkulišući biomarkeri inflamacije (CRP i fibrinogen) i oksidativnog stresa (oxLDL) nezavisno od drugih kliničkih karakteristika, povišeni kod pacijenata sa lone AF, kao i kod pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem i da su nezavisno povezani sa nižim vrednostima endotel-zavisne vazodilatacije (FMD-a). To ukazuje da proinflatorno stanje i oksidativni stres mogu doprineti nepovoljnim vaskularnim uticajima kod obolelih od AF, čak i u grupi obolelih "niskog rizika", kao što su pacijenti sa lone AF. Treba napomenuti da su ranija istraživanja kod pacijenata sa lone AF pokazala indirektne znake vaskularnog oštećenja, kao što je snižena rezerva koronarnog protoka (46).

Ovim istraživanjem endotel-zavisna dilatacija je ispitana u do sada najvećoj grupi pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem i pokazano je da je vrednost FMD-a kod obolelih od AF značajno snižena u odnosu na zdrave osobe. Time su potvrđeni nalazi ranijih istraživanja koja su obuhvatila manje grupe pacijenata sa AF i pokazala prisustvo sistemske endotelne disfunkcije kod obolelih od AF sa pridruženim komorbiditetima (38, 39, 47). U istraživanju Skolidisa *el al.* pokazano je da je vrednost

FMD-a kod pacijenata sa AF značajno niža u odnosu na osobe u sinusnom ritmu, ali da se može očekivati delimičan oporavak endotelne funkcije nakon uspostavljanja sinusnog ritma DC kardioverzijom (39). Slično tome, Shin *et al.* su pokazali snižene vrednosti FMD-a kod obolelih od AF sa pridruženim strukturnim oboljenjem srca, kao i značajno poboljšanje endotelne funkcije nakon lečenja radio-frekventnom ablacijom (47). Freestone *et al.* su pokazali da je vrednost FMD kod pacijenata sa AF snižena u odnosu na kontrolnu grupu zdravih, a slično rezultatima našeg istraživanja, prisustvo AF je bilo nezavisni prediktor snižene vrednosti FMD-a (38). Najzad, u istraživanju Yoshino *et al.* nađeni su znaci sistemske endotelne disfunkcije metodom periferne arterijske tonometrije, a AF je bila nezavisni pokazatelj endotelnog oštećenja (48).

Sumirajući ove nalaze ranijih istraživanja studija, kao i naše rezultate može se zaključiti da je prisustvo atrijalne fibrilacije najverovatnije posredstvom nepovoljnih reoloških uticaja, kao i usled povećanog inflamatornog i oksidativnog stresa povezano sa nastankom sistemske endotelne disfunkcije koja se može razviti nezavisno od drugih kardiovaskularnih oboljenja i faktora rizika.

Ne samo da je ovim istraživanjem pokazana disfunkcija vaskularnog endotela u perifernim krvnim sudovima, već je endotelno oštećenje potvrđeno nalazom više serumske koncentracije vWF kod pacijenata sa AF u odnosu na zdrave osobe. Serumska koncentracija vWF bila je značajno povišena u odnosu na zdrave osobe (112.4 ± 29.4 U/dL) kako kod pacijenata sa idiopatskom AF (155.1 ± 28.1 U/dL), tako i kod pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem (156.2 ± 29.3 U/dL).

Von Willebrandov faktor se prevažno nalazi u endotelnim ćelijama deponovan u Weibel-Paladeovim telašcima, a oslobađa se nakon aktivacije endotelnih ćelija različitim medijatorima (trombin, inflamatorni citokini, adenoziński nukleotidi, faktori rasta i dr.), ili nakon njihovog oštećenja (49). Ranijim istraživanjima je dokumentovana povećana ekspresija vWF, praćena adhezijom trombocita na mestima oštećenja endokarda u aurikuli leve pretkomore kod pacijenata sa AF i strukturnim oboljenjem srca (25), kao i povećana ekspresija vWF na endokardnim ćelijama aurikule leve pretkomore kod pacijenata sa lone AF (50). Pokazana je i povezanost stepena disfunkcije endokarda leve pretkomore sa koncentracijom cirkulišućeg vWF, što ukazuje da je oštećeni endokard verovatno najznačajniji izvor vWF u AF, te se vWF smatra cirkulišućim biomarkerom endokardnog oštećenja u AF (51). Poređenjem sa zdravim osobama u sinusnom ritmu, u većini ranijih

kliničkih studija sa manjim brojem ispitanika, pokazana je povišena koncentracija vWF kod pacijenata sa idiopatskom AF (32, 52), kao i kod bolesnika sa AF i pridruženim strukturnim oboljenjem srca (53, 54). Međutim, našim ovi rezultati su potvrđeni u do sada najvećoj grupi ispitanika sa AF, uključujući pacijente sa idiopatskom aritmijom i sa pridruženom kardiovaskularnom bolešću.

Našim istraživanjem je nađena korelacija između nivoa vWF u perifernoj krvi i indeskirano volumena leve pretkomora koji se smatra pokazateljem stepena remodelovanja leve pretkomora, što potkrepljuje hipotezu o pretežno endokardnom poreklu cirkulišućeg vWF. Zanimljivo je da je ova korelacija postojala i kod pacijenata sa lone AF kod kojih leva pretkomora nije bila dilatirana u odnosu na zdrave kontrole, što ukazuje da proces funkcionalnog remodelovanja može prethoditi strukturnim promenama pretkomora u AF. U studiji Mondilloa *et al.* takođe je pokazana korelacija između serumske koncentracije vWF i volumena leve pretkomora kod starijih pacijenata sa idiopatskom AF, dok su Uemura *et al.* pokazali povišen nivo vWF kod obolelih od paroksizmalne i hronične AF koji je korelisao sa anteroposteriornim dijametrom leve pretkomora (32, 55). Pred toga, u ranijim istraživanjima je pokazana povezanost koncentracije vWF sa ehosonografski detektovanim poremećajima protoka krvi u levoj pretkomori, kao i sa prisustvom spontanog eho-kontrasta i tromba u aurikuli leve pretkomora, čime je povišen nivo vWF povezan sa protrombotskim stanjem karakterističnim za AF (55-57).

Našim istraživanjem je pokazana i negativna korelacija između volumena leve pretkomora i pokazatelja vaskularne endotelne funkcije (FMD-a) u grupi pacijenata sa AF i kardiovaskularnim oboljenjem (ali ne i kod lone AF pacijenata). Moguće je da je ova negativna povezanost posledica sistemskog sniženja biorasploživosti azot-monoksida (NO) i drugih endotelnih vazodilatatora u uslovima oscilatornog toka krvi u AF (18), a moguće je i da smanjena produkcija nitrozo-tiolnih jedinjenja od strane disfunkcionalnog endokarda leve pretkomora smanjuje biorasploživost NO u krvnim sudovima, gde ova jedinjenja služe kao donori NO vaskularnom endotelu (23, 34, 58). U prilog povezanosti vaskularne endotelne disfunkcije i endokardnog oštećenja govori i negativna korelacija između endotel-zavisne vazodilatacije (FMD) i vWF, koja je u našem istraživanju bila prisutna kod obolelih od AF nezavisno od pridruženog kardiovaskularnog oboljenja. Ovaj vid korelacije do sada nije ispitan u kliničkim studijama, a ukazuje na moguće delovanje zajedničkog etiološkog faktora (poremećaj toka krvi, sistemsko sniženje NO i drugih

endotelnih vazodilatatora i/ili nepovoljni uticaj proinflammatoryh citokina, produkata lipidne peroksidacije i sl.) za nastanak endotelne oštećenja u različitim delovima kardiovaskularnog sistema obolelih od AF. Stoga se na osnovu rezultata ove disertacije može govoriti o postojanju sistemske endotelne disfunkcije (endokardne i vaskularne endotelne disfunkcije) kod jednog broja obolelih od AF, nezavisno od pridruženog srčanog oboljenja.

Pored vWF, kao biomarkera endotelne oštećenja, u ovom istraživanju su određene serumske koncentracije drugih biomarkera koji se mogu etiološki povezati sa nastankom endotelne disfunkcije i/ili se mogu smatrati markerima zajedničkog patološkog procesa koji dovodi do endotelne oštećenja.

Istraživanjem je pokazano da je koncentracija biomarkera inflamacije (CRP-a i fibrinogena) u perifernoj krvi obolelih od AF viša u odnosu na zdrave kontrole, nezavisno od pridruženog kardiovaskularnog oboljenja, dok nije nađena značajna razlika u ispitivanim inflamatornim markerima između pacijenata sa lone AF i pacijenata sa komorbiditetima. Povišene vrednosti CRP-a, fibrinogena i drugih inflamatornih biomarkera su dokumentovane i u ranijim istraživanjima kod obolelih od AF, naročito u slučajevima pridružene kardiovaskularne bolesti i kod postoperativne pojave AF (59-61). Međutim, proinflammatoryh stanje je utvrđeno i kod bolesnika sa lone AF kao što pokazuju rezultati istraživanja Chung *et al.* kojim je pokazano da je koncentracija CRP-a kod pacijenata sa lone AF viša u odnosu na zdrave osobe i povezana sa trajanjem aritmije (62). Slično tome, istraživanje Mondilloa *et al.* pokazalo da su vrednosti fibrinogena u perifernoj krvi kod pacijenata sa idiopatskom AF povišene u odnosu na zdrave kontrole i da postoji korelacija između nivoa fibrinogena i biomarkera endotelne oštećenja — vWF i solubilnog trombomodulina (32). U našem istraživanju, konzistentno sa ranijim rezultatima, pokazana je nezavisna negativna korelacija CRP-a i fibrinogena sa endotel-zavisnom vazodilatacijom, kao i pozitivna korelacija ovih biomarkera sa vWF, što potvrđuje značaj proinflammatoryh stanja za nastanak endotelne disfunkcije u različitim delovima kardiovaskularnog sistema kod obolelih od AF.

U našem istraživanju protrombotsko stanje je ispitano određivanjem serumske koncentracije D-dimera koji se smatra nespecifičnim pokazateljem prokoagulantnog stanja jer nastaje fragmentacijom fibrina iz krvnog ugruška. Pokazali smo da je koncentracija D-dimera u perifernoj krvi pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem

značajano povišena u odnosu na zdrave osobe, kao i u odnosu na pacijente sa lone AF, a nije nađena razlika u koncentraciji D-dimera između pacijenata sa lone AF i zdravih kontrola. Slično našim rezultatima, povišene vrednosti D-dimera su opisane i u ranijim istraživanjima obolelih od AF (63-65). Registrovano je da D-dimer raste progresivno sa brojem tromboembolijskih faktora rizika kod pacijenata, zabeleženo je da ostaje povišen i pored primene antitrombotske terapije, kao i da se vrednosti D-dimera ne normalizuju u potpunosti nakon kardioverzije, što ukazuje na održavanje protrombotskog stanja nakon uspostavljanja sinusnog ritma kod jednog brojana pacijenata sa AF (63-65). Suprotno našim nalazima, u jednom ranijem istraživanju je pokazana povišena vrednost D-dimera i kod pacijenata sa lone AF (32), mada druga istraživanja nisu potvrdila protrombotsko stanje kod lone AF (66). Protrombotsko stanje u lone AF je verovatno više ispoljeno kroz endotelno oštećenje, čemu u prilog govore snižene vrednosti FMD-a i povišene vrednosti vWF-a, a moguće je i doprinos disfunkcije trombocita (21) i drugih komponenta hemostaze. Mešutim, sa kliničkog aspekta protrombotsko stanje u lone AF je “nedovoljno” da kod većine obolelih dovede do nastanka tromboembolijskih komplikacija (21), što je konzistentno sa vrednostima D-dimera koje su komparativne sa zdravim osobama.

Ispitivanje neurohormonalne aktivacije izvršeno je određivanjem vrednosti BNP-a. B-tip natriuretskog peptida je neurohormon koji se oslobađa iz kardiomiocita nakon povećanja napetosti miokardnog zida (67). Pored komorskog miokarda, BNP se oslobađa i iz atrijalnog miokarda u stanjima kada su atrijalni kardiomiociti izloženi povećanom stresu, uključujući i hemodinamske promene tokom AF (68, 69). U našem istraživanju pacijenti oboleli od AF sa pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem imali su značajno povišene vrednosti BNP-a u odnosu na zdrave kontrole i obolele od lone AF. Međutim vrednosti BNP-a nisu se značajno razlikovale između osoba sa lone AF i zdravih kontrola. U ranijim studijama je pokazano da je koncentracija BNP povišena kod pacijenata sa AF kod kojih nije bilo znakova srčane disfunkcije, niti manifestne srčane insuficijencije, kao i da su potrebne više “cut-off” vrednosti za BNP kod obolelih od AF za detekciju srčanog popuštanja, što je protumačeno atrijalnim doprinosom ukupnoj koncentraciji BNP-a za vreme trajanja AF (70, 71). Ovi nalazi su u skladu sa našim rezultatima kod pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem, gde je povišena koncentracija BNP-a najverovatnije posledica kombinacije uticaja dugotrajne aritmije kod većeg dela ove grupe (56.8% je imalo perzistentnu ili permanentnu AF), kao i uticaja povećanog miokardnog stresa zbog pridruženog kardiovaskularnog oboljenja. Međutim, jedno ranije istraživanje je

pokazalo povišenu koncentraciju BNP-a i kod pacijenata sa lone AF u odnosu na zdrave osobe, što nije bio slučaj u ovom istraživanju (28). Međutim, vrednosti BNP-a u našem istraživanju su korelisale sa volumenom leve pretkomore, kako kod grupe sa lone AF, tako i kod grupe pacijenata sa komorbiditetima, ukazujući na povezanost ovog neurohormona sa procesom remodelovanja pretkomore. Registrovana je i povezanost BNP-a sa pokazateljima endotelne disfunkcije — negativna korelacija BNP-a sa vrednošću FMD-a, odnosno pozitivna korelacija sa vWF.

Oksidativni stres je patološko stanje okarakterisano povećanom aktivnošću tkivnih enzima koji stvaraju kiseonična jedinjenja sa slobodnim elektronima sposobna da vrše oksidaciju različitih celularnih i ekstracelularnih struktura, čime se remete njihove fiziološke funkcije. Eksperimentalnim istraživanjima i analizom tkivnih uzoraka leve pretkomore obolelih od AF pokazana je povećana aktivnost nikotin-amid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) oksidaze i drugih oksidativnih enzima za vreme trajanja AF sa posledičnim povećanim stvaranjem superoksid-anjona koji se smatra najpotentnim oksidativnim agensom *in vivo* (72, 73). Superoksid-anjon može da oksidativno modifikuje enzim eNOS i dovede do poremećaja njegove funkcije koji se ogleda u stvaranju slobodnih kiseoničnih radikala umesto NO (tzv. “uncoupled” eNOS) (73). Na taj način se perpetuira oksidativni stres i stvaraju uslovi za direktno ili indirektno endotelno oštećenje, kao i oštećenje drugih struktura leve pretkomore posredstvom lančane reakcije u kojoj slobodni kiseonični radikali neenzimski modifikuju postojeća jedinjenja u strukturi zida leve pretkomore i u krvi. Na primer, povećan oksidativni stres uslovljava peroksidaciju cirkulišućih lipoproteina u krvi tako da nastaju oksidisani lipoproteini, kao što je oxLDL, koji ostvaruje niz patofizioloških uticaja preko svojih receptora na endotelnim ćelijama (lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor — LOX-1), promovišući nastanak i održavanje endotelne disfunkcije (74). Smatra se da oxLDL učestvuje u patogenezi niza kardivoaskularnih bolesti i drugih patoloških stanja, uključujući arterijsku hipertenziju, aterosklerozu, dijabetes melitus i metabolički sindrom (74, 75).

U našem istraživanju oksidativni stres je ispitan određivanjem serumske koncentracije oxLDL-a. Pokazano je da je koncentracija oxLDL-a viša kod obe grupe obolelih od AF u odnosu na zdrave osobe, kao i da pacijenti sa AF i pridruženim kardivoaskularnim oboljenjem imaju višu koncentraciju oxLDL-a u odnosu na pacijente sa lone AF. Pored toga, nađena je značajna korelacija oxLDL-a sa ostalim biomarkerima, uključujući i vWF, kao i sa volumenom leve pretkomore, nezavisno od pridruženog

kardiovaskularnog oboljenja. Utvrđena je i nezavisna negativna povezanost oxLDL-a sa endotel-zavisnom vazodilatacijom, čime je potvrđena hipoteza o nepovoljnom uticaju oksidativnog stresa na endotelnu funkciju.

Podaci ranijih studija o nivou biomarkera oksidativnog stresa u AF nisu konzistentni što se delom može objasniti i značajnim metodološkim razlikama u sprovedenim istraživanjima. Tako, Li et al. saopštavaju da su različiti biomarkeri inflamacije, kao i neurohormonalne aktivacije povišeni kod obolelih od AF u odnosu na zdrave osobe, ali ne nalaze povišene vrednosti urinarnih izoprostana (biomarkera oksidacije) (76). Nasuprot tome, druge grupe istraživača dokumentuju povišene vrednosti oksidativnih biomarkera, uključujući i oxLDL kod obolelih od AF, a pokazatelji oksidativnog stresa registrovani su i kod pacijenata sa lone AF (77-81). Na primer, u istraživanju Leftheriotisa et al. u grupi od 46 pacijenata sa lone AF, nađene su povišene vrednosti malonil-aldehida i nitrotirozina (biomarkeri oksidativnog stresa), koje su negativno korelisale sa održavanjem sinusnog ritma nakon kardioverzije (77), dok su Kim et al. pokazali povišene vrednosti oksidisanih lipoproteina kod 11 mladih pacijentkinja sa paroksizmalnom lone AF (78).

Najznačajniji rezultati ovog istraživanja odnose se na prediktivnu vrednost ispitvanih pokazatelja endotelne funkcije (FMD-a i vWF) i biomarkera inflamacije (CRP, fibrinogen), tromboze (D-dimer), oksidativnog stresa (oxLDL) i neurohormonalne aktivnosti (BNP) za pojavu novog ili pogoršanje postojećeg kardiovaskularnog oboljenja, kao i za nastanak komplikacija AF. Prediktivni značaj endotelne funkcije i ispitvanih biomarkera posebno je analiziran u grupi pacijenata sa lone AF i u grupi bolesnika sa pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem.

Lone AF je redak oblik aritmije koji se dijagnostikuje isključenjem pridruženog kardiovaskularnog oboljenja, bolesti drugih organa ili prisustva provocirajućih faktora za AF. Procenjuje se da je lone AF prisutna kod oko 3% obolelih od AF (7). Dugoročna prognoza pacijenata sa lone AF je odlična, međutim razvoj kardiovaskularnih komorbiditeta ili starenje organizma povećavaju rizik za nastanak komplikacija i smrtnog ishoda kod ove grupe bolesnika (82). Skorija istraživanja ukazuju da "skrivena" arterijska hipertenzija ili subkliničko vaskularno oboljenje mogu da budu "skriveni" uzrok lone AF (83, 84). Pokazano je da kod jednog broja obolelih od lone AF dolazi do ispoljavanja kardiovaskularnog oboljenja u mlađem uzrastu i sa ozbiljnijom kliničkom slikom nego kod

osoba koje nemaju AF (85). Međutim, klinički činioci povezani sa razvojem kardivoaskularne bolesti kod pacijenata sa lone AF nisu detaljno ispitani.

U našem istraživanju kod pacijenata sa lone AF, tokom prosečnog četvorogodišnjeg kliničkog praćenja jedini registrovani kardiovaskularni ishod bila je pojava arterijske hipertenzije koja je dijagnostikovana kod 14 (28.0%) pacijenata (86). Ostali kardiovaskularni ishodi, uključujući koronarne događaje, srčano popuštanje, tromboembolijske komplikacije ili smrtni ishod nisu registrovani kod ove grupe bolesnika. Ranija istraživanja su pokazala da je arterijska hipertenzija najčešće oboljenje koje se dijagnostikuje kod bolesnika sa početno lone AF, sa incidencijom između 7.5% tokom praćenja od 7 godina (87) i 44% tokom praćenja od 2 godine (83). U skorašnjoj studiji Weijs et al. su u grupi od 41 pacijenta sa inicijalno lone AF dijagnostikovali hipertenziju kod 30% ispitanika tokom petogodišnjeg praćenja, a utvrđena je i visoka incidencija drugih kardiovaskularnih oboljenja, uključujući koronarnu bolest, srčano popuštanje i moždani udar (85). U navedenom istraživanju kao prediktori nastanka kardiovaskularnog oboljenja identifikovani su starije životno doba, duže trajanje AF i veća debljina zadnjeg zida leve komore pri ehokardiografskom pregledu. I u našem našem istraživanju starije životno doba i duže trajanje AF bili su u povezani sa razvojem kardivoaskularne bolesti (arterijske hipertenzije), ali pored toga identifikovana je povezanost sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska, povećanog BMI, povišenog ukupnog i LDL holesterola sa nastankom hipertenzije kod pacijenata sa lone AF. Kada je u pitanju endotelna funkcija, pokazano je da rizik za nastanak arterijske hipertenzije opada sa rastućim vrednostima endotel-zavisne vazodilatacije (FMD-a). Suprotno tome, rizik za nastanak hipertenzije je bio povišen sa rastućom koncentracijom vWF-a, CRP-a, fibrinogena i oxLDL-a, a u adjustiranoj analizi, održala se značajna povezanost za vWF, CRP i oxLDL (86). Ovi rezultati bi mogli da ukažu da u osnovi nekih slučajeva lone AF postoji subklinička vaskularna bolest koja se manifestuje endotelnim oštećenjem (vWF) i pojačanim inflamatornim (CRP, fibrinogen) i oksidativnim opterećenjem (oxLDL), kao i bržom progresijom ka manifestnom kardiovaskularnom oboljenju, kao što je arterijska hipertenzija. S druge strane "bolja" sistemska endotelna funkcija može imati protektivni efekat za nastanak kardivoaskularnog oboljenja. Klinički značaj ovih nalaza ogleda se u mogućoj identifikaciji bolesnika sa lone AF koji imaju povišen rizik za ispoljavanje kardiovaskularne bolesti, te zahtevaju češće kliničko praćenje, modifikaciju životnih navika i primenjene terapije kako i se izbegle komplikacije.

Prediktivni značaj pokazatelja endotelne funkcije i biomarkera inflamacije, tromboze, oksidativnog stresa i neurohormonske aktivnosti, ispitan je i kod pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem. Kao ishodi istraživanja u ovoj grupi su praćeni: ukupni i kardiovaskularni mortalitet, pojava infarkta miokarda ili perkutane/hirurške koronarne revaskularizacije, pojava tromboembolijskih komplikacija AF (moždani udar/TIA/periferni arterijski embolizam), razvoj periferne arterijske bolesti, novonastale srčane insuficijencije ili dusfunkcije leve komore i pogoršanje hornične srčane insuficijencije.

U grupi pacijenata sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem pokazana je značajna povezanost endotel-zavisne vazodilatacije (FMD-a) sa rizikom za progresiju koronarne bolesti, odnosno nastankom infarkta miokarda ili potrebom za koronarnom revaskularizacijom. U univarijantnoj analizi nađeno je da se sa rastućom vrednošću FMD-a smanjuje rizik za nastanak infarkta miokarda i za koronarnu revaskularizaciju, međutim nakon adjustacije za ostale varijable koje su bile značajno povezane sa progresijom koronarne bolesti, jedino se održala asocijacija između FMD-a i rizika od infarkta miokarda. Pored toga, u univarijantnoj analizi je pokazana povezanost rastuće vrednosti FMD-a sa sniženjem rizika za ukupni i kardiovaskularni mortalitet, ali je ova povezanost izgubila statistički značaj nakon adjustacije za druge kliničke varijable i biomarkere povezane sa mortalitetom. Nije pokazana povezanost FMD-a sa ostalim ispitivanim ishodima, uključujući tromboembolijske komplikacije, nastanak periferne arterijske bolesti ili srčanog popuštanja.

U dosadašnjim istraživanjima nije ispitan prognostički značaj FMD-a za kardiovaskularne događaje kod pacijenata sa AF. Ovo je prvo istraživanje kojim je tokom prospektivnog kliničkog praćenja srednjeg trajanja 4 godine u dovoljno velikoj grupi ispitanika (352 pacijenta) pokazano da FMD ima prediktivni značaj za kardiovaskularne ishode kod pacijenata sa AF, odnosno da je "bolja" endotelna funkcija procenjena FMD metodom povezana sa nižim rizikom od infarkta miokarda i sa nižim ukupnim i kardiovaskularnim mortalitetom. Slični rezultati dokumentovani su u ranijim studijama kod pacijenata sa kardiovaskularnom bolešću u sinusnom ritmu koje su pokazale da se sa nižim vrednostima FMD-a povećava rizik od nepovoljnih kardiovaskularnih događaja, uključujući infarkt miokarda, koronarnu revaskularizaciju, srčano popuštanje i smrtni ishod (88-90). Našim istraživanjem proširili smo ovo saznanje i na pacijente sa AF, pokazujući

da se FMD metoda može primeniti kod obolelih od AF u cilju procene rizika od nepovoljnih kardiovaskularnih događaja, prvenstveno infarkta miokarda.

Pored povezanosti pokazatelja sistemske endotelne funkcije (FMD-a) sa kardiovaskularnim ishodima, ispitali smo i povezanost biomarkera endotelnog oštećenja, vWF, sa nastankom nepovoljnih kardiovaskularnih događaja. Pokazano je da rizik od nastanka svih ispitivanih kardiovaskularnih događaja progresivno raste sa rastućim vrednostima vWF-a. Von Willebradov faktor je u našem istraživanju bio nezavisni prediktor povišenog ukupnog i kardiovaskularnog mortaliteta, infarkta miokarda, koronarne revaskularizacije, tromboembolijskih komplikacija i pogoršanja srčane insuficijencije, a u univarijantnoj analizi, bio je prediktor i novonastale periferne vaskularne bolesti i srčane insuficijencije. Imajući u vidu ove rezultate, u našem istraživanju vWF se izvodijo među ostalim biomarkerima kao najznačajniji prediktor budućih nepovoljnih događaja i mortaliteta kod pacijenata sa AF.

Prediktivni značaj vWF za nepovoljne kardiovaskularne događaje kod obolelih od AF pokazala su i ranija ispitivanja. U istraživanju Conwaya *et al.* pokazano je da su rastuće vrednosti vWF povezane sa povišenim rizikom od moždanog udara i nedovoljnih vaskularnih događaja (91). Pinto *et al.* su pokazali da je vWF povezan sa povišenim rizikom za nastanak moždanog udara kod pacijenata sa AF koji nisu imali ranije tromboembolijske komplikacije (65). Krishnamoorthy *et al.* su pokazali da povišene vrednosti vWF korelišu sa povišenim rizikom za nastanak infarkta, moždanog udara i smrtnog ishoda kod obolelih od AF (92). Kao i u našoj studiji, Roldan *et al.* su pokazali da je vWF povezan sa rizikom od moždanog udara nezavisno od CHA₂DS₂-VASc skora (54), odnosno da se dodatkom vWF uz CHA₂DS₂-VASc skor poboljšava diskriminativnu sposobnost u proceni rizika od tromboembolijskih komplikacija u AF (93).

U našem istraživanju, ispitivani biomarkeri inflamacije (CRP i fibrinogen) pokazali su prediktivnu vrednost za ukupni (CRP i fibrinogen) i kardiovaskularni mortalitet (fibrinogen) kod obolelih od AF, ali samo u univarijantnoj analizi, dok je adjustacijom za kliničke varijable i ostale analizirane biomarkere, prediktivna vrednost biomarkera inflamacije prestala da bude statistički značajna. Ranija istraživanja su pokazala da biomarkeri inflamatornog procesa kod obolelih od AF imaju prediktivni značaj za nepovoljne kardiovaskularne događaje. U analizi podataka iz studijske populacije (*Stroke Prevention in Atrial Fibrillation — SPAF III*) nađeno je da su povišene vrednosti CRP-a

povezane sa povišenim rizikom od moždanog udara, ukupnog mortaliteta i nepovoljnih vaskularnih događaja (94). Pored toga, u velikoj populacionoj, multietničkoj studiji (*Atherosclerosis Risk in Communities — ARIC*) pokazane je nezavisna povezanost CRP-a sa mortalitetom obolelih od AF. U našem istraživanju, takođe je pokazana povezanost inflamatornih biomarkera i mortaliteta, ali samo u univarijantnoj analizi, kod je kontrolisanjem drugih klinički relevantnih predikta, ova povezanost izgubila statistički značaj(95).

U ovom istraživanju je pokazana povezanost rastućih vrednosti D-dimera, biomarkera protrombotskog stanja, sa povišenim rizikom za ukupni i kardiovaskularni mortalitet, tromboembolijske komplikacije i nastanak ili pogoršanje srčane insuficijencije. U analizi kontrolisanoj za klinički značajne varijable (uključujući i primenu antikoagulantne terapije) i ostale biomarkere, D-dimer je bio značajno povezan sa mortalitetom i tromboembolijskim događajima, dok je povezanost sa srčanom insuficijencijom bila značajna samo u univarijantnoj analizi.

Ranija istraživanja prognostičkog značaja D-dimera kod obolelih od AF nisu dala konzistentne rezultate. Dok su Sadanaga *et al.*(96) i Vene *et al.*(97) pokazali da kod bolesnika sa AF lečenih antikoagulantnom terapijom, D-dimer ima nezavisnu prognostički značaj za nastanak arterijskog tromboembolizma, kao i drugih nepovoljnih kardiovaskularnih događaja, Roldan *et al.* nisu pokazali prediktivnu vrednost D-dimera kod antikoagulisanih pacijenata sa AF (54). Međutim, rezultati skorašnjih randomizovanih kliničkih studija koje su uključile više hiljada obolelih od AF lečenih antagonistima vitamina K ili direktnim oralnim inhibitorima II faktora koagulacije (studija RE-LY) (98) i X faktora koagulacije (studija ARISTOTLE) (99), pokazuju da D-dimer ima nezavisnu prediktivnu vrednost za moždani udar, ukupni i kardiovaskularni mortalitet, što je konzistentno sa nalazima našeg istraživanja. Pored toga u ovim studijama je pokazana i nezavisna prediktivna vrednost D-dimera za hemoragijske komplikacije (98, 99). Imajući u vidu ove nalaze, kao i široku dostupnost analize D-dimera u kliničkoj praksi, može se smatrati da bi ovaj biomarker mogao da ima aditivnu vrednost u stratifikaciji rizika od nepovoljnih događaja kod pacijenata sa AF.

U našem istraživanju, procena prognostičkog značaja BNP-a za kardiovaskularne događaje kod pacijenata sa AF je pokazala nezavisnu povezanost rastućih vrednosti BNP-a sa povišenim rizikom od ukupnog i kardiovaskularnog mortaliteta, kao i nastanka ili

pogoršanja srčane insuficijencije. Povezanost povišenih vrednosti BNP-a i povišenog rizika od smrtnog ishoda i ispoljavanja srčane insuficijencije pokazana je u ranijim istraživanjima u opštoj populaciji (100, 101), a kod pacijenata sa AF pokazane su povišene vrednosti BNP-a u srčanoj insuficijenciji, koje su korelisale sa povišenom koncentracijom vWF (102). Rezultati skorašnjih RE-LY studije pokazuju da BNP kod obolelih od AF ima nezavisan prognostički značaj za nastanak tromboembolijskih komplikacija i ukupan mortalitet, kao i da povišena koncentracija BNP-a ima aditivni značaj u stratifikaciji rizika za tromboembolizam u odnosu na CHA₂DS₂-VAS skor (103). U poređenju sa ovim nalazima, naše istraživanje potvrđuje povezanost BNP-a sa povišenim rizikom od smrtnog ishoda i tromboembolijskih komplikacija (u univarijantnoj analizi). Međutim, ovim istraživanjem pokazali smo i prediktivni značaj BNP-a za novonastalu srčanu insuficijenciju ili disfunkciju leve komore, kao i za pogoršanje hronične srčane insuficijencije kod obolelih od AF. U svetlu ovih nalaza, kao i široke dostupnosti BNP-a u svakodnevnoj praksi, primenom ovog biomarkera mogla bi da se unapredi stratifikacija rizika od nepovoljnih kardiovaskularnih događaja kod pacijenata sa AF.

Konačno, našim istraživanjem ispitan je i značaj biomarkera oksidativnog stresa, oxLDL-a, za ispoljavanje nepovoljnih kardiovaskularnih događaja kod pacijenata sa AF. U univarijantnoj analizi pokazana je povezanost rastućih vrednosti oxLDL-a i rizika od ukupnog i kardiovaskularnog mortaliteta, infarkta miokarda, koronarne revaskularizacije, kao i tromboembolijskih komplikacija. Međutim, nakon adjustacije, oxLDL je zadržao značajnu prediktivnu vrednost za pojavu moždanog udara/TIA/perifernog tromboembolizma. Ovo je prvo istraživanje koje je pokazalo prediktivnu vrednost oxLDL-a, odnosno oksidativnog stresa kod obolelih od AF, te daje doprinos razumevanju uloge oksidativnog stresa u nastanku komplikacija AF. Pored toga, oxLDL je bio i jedini biomarker povezan (u univarijantnoj analizi) sa rizikom za nastanak permanentne AF. Prediktivni značaj oxLDL-a je do sada ispitan prvenstveno u kontekstu rizika od koronarne ateroskleroze, te je pokazano da je nezavisni prediktor ubrzanog razvoja koronarne bolesti i njenih kliničkih komplikacija (104). Međutim, ovom disetacijom, zapažanja o značaju oxLDL-a u predikciji nepovoljnih kardiovaskularnih ishoda proširena su i na pacijente sa AF. Ovim se ukazuje na moguću ulogu oksidativnog stresa u patofiziološkim procesima koji doprinose progresiji AF i razvoju pridružene kardiovaskularne bolesti (naročito u lone AF), te na mogući preventivni i terapijski značaj (105).

Postoje određena ograničenja ovog istraživanja koje treba uzeti u obzir prilikom tumačenja rezultata. Iako je prilikom uključanja ispitanika u istraživanje poštovan princip uključanja konsekutivnih pacijenata obolelih od AF, treba imati u vidu da su u studiju uključeni pacijenti koji su hospitalizovani ili ambulantno lečeni u jednom, tercijarnom centru, te da je moguće da ne odlikavaju u potpunosti karakteristike obolelih od AF u opštoj populaciji. Takođe, prilikom uključanja pacijenata sa lone AF, posvećena je posebna pažnja isključenju svih poznatih komorbiditeta, ali je moguće da su i pored toga, kod nekih pacijenata postojali znaci (neprepoznate) subkliničke vaskularne bolesti. Kontrolna grupa je regrutovana među medicinskim osobljem i prijateljima pacijenata, uz posvećivanje pažnje da ovi pacijenti budu komparativni grupi obolelih od lone AF u pogledu pola i starosti. I u kontrolnoj grupi sproveden je detaljan dijagnostički postupak za isključenje kardiovaskularne bolesti, ali, kao i za pacijente sa lone AF, moguće je da su slučajevi subkliničke bolesti ostali neotkriveni. Određivanje FMD-a i biomarkera je obavljeno standardnim raspoloživim tehnikama, uz sva njihova ograničenja, koja su se moguće odrazila na dobijene vrednosti ispitivanih varijabli. Pored toga, FMD i biomarkeri su određeni u jednom trenutku na početku studije, te postoji ograničenje koje se odnosi na klinički značaj jednokratnog određivanja pokazatelja endotelne funkcije ili ispitivanih biomarkera, bez uvida u njihovu dinamiku tokom perioda praćenja i prognostički značaj eventualnih dinamičkih promena vrednosti ispitivanih varijabli. Najzad, ispitani su samo neki od klinički najznačajnijih ishoda kod obolelih od AF, što ne umanjuje značaj drugih ishoda koji nisu ispitivani u ovoj studiji, kao što je progresija remodelovanja leve pretkomore, ispoljavanje drugih kardiovaskularnih oboljenja i komorbiditeta (npr. dijabetes melitus, bubrežna slabost), stepen ispoljenih tegoba i pogoršanje funkcionalnog stanja ispitanika, uticaj na kvalitet života i sl.

6. ZAKLJUČCI

Ranija ispitivanja endotelne funkcije u AF izvršena su u manjim grupama obolelih i ispitivana je povezanost endotelne funkcije i pojedinačnih laboratorijskih pokazatelja endotelnog oštećenja, inflamacije ili tromboze. Ovo je prvo istraživanje koje je na sveobuhvatan način pristupilo problemu endotelne disfunkcije u AF, sa uključenjem obolelih od lone AF i obolelih sa pridruženim kardiovaskularnim komorbiditetima i poređenjem pokazatelja endotelne funkcije sa zdravim osobama, kao i ispitivanjem prodnostičkog značaja pokazatelja endotelne funkcije za različite kardiovaskularne ishode.

Zaključci ovog istraživanja su

1. Pokazano je da je da kod obolelih od atrijalne fibrilacije, uključujući pacijente sa idiopatskom (lone) AF i pacijente sa AF i pridruženim kardiovaskularnim oboljenjem, postoji sistemska endotelna disfunkcija okarakterisana nižim vrednostima endotel-zavisne vazodilatacije brahijalne arterije (FMD) i višom koncentracijom biomarkera endotelnog oštećenja, vWF, u odnosu na zdrave osobe u sinusnom ritmu.
2. Pokazano je da je endotelna disfunkcija u atrijalnoj fibrilaciji nezavisno povezana sa produženim trajanjem aritmije odnosno da je nepovoljni uticaj reoloških faktora tokom trajanja AF nezavisni prediktor nastanka sistemske endotelne disfunkcije, što može imati implikacije u pogledu tromboembolijskog rizika.
3. Pokazana je povezanost endotelne funkcije određene FMD metodom i biomarkera endotelnog oštećenja (vWF), što ukazuje na moguću zajedničku etiologiju i sistemski uticaj faktora rizika za nastanak endotelne disfunkcije kod pacijenata sa AF.
4. Pokazana je i povezanost endotelne funkcije (FMD i vWF) sa biomarkerima inflamacije (CRP, fibrinogen), tromboze (D-dimer), oksidativnog stresa (oxLDL) i neurohormonske aktivacije (BNP), što potkrepljuje hipotezu o sistemskom delovanju faktora rizika za razvoj endotelne disfunkcije u AF.
5. Pokazana je povezanost remodelovanja leve pretkomore odnosno volumena leve pretkomore i endotel-zavisne vazodilatacije (FMD), kao i nivoa cirkulišućeg vWF čime je potkrepljena hipoteza da postoji povezanost različitih patofizioloških procesa koji utiču na remodelovanje leve pretkomore i ispoljavanje sistemske endotelne disfunkcije. Moguće je da u osnovi ovih procesa stoji povećan inflamatorni i oksidativni stres i neuroendokrini aktivacija, što potkrepljuju rezultati ovog istraživanja.

6. Kod pacijenata sa idiopatskom (lone) AF pokazana je povezanost povišenih vrednosti vWF, CRP i oxLDL u plazmi i rizika za nastanak kardiovaskularnog oboljenja, odnosno arterijske hipertenzije. Suprotno tome, pokazano je i da bolja endotelna funkcija, odnosno više vrednosti FMD-a ima protektivni efekat za pojavu arterijske hipertenzije. Imajući u vidu da determinatne razvoja kardiovaskularne bolesti u lone AF nisu ispitane, ovaj nalaz može pomoći u identifikaciji pacijenata pod rizikom za nastanak kardiovaskularnog oboljenja koji zahtevaju redovno kliničko praćenje, modifikaciju životnih navika i terapijske intervencije kako bi se izbegle komplikacije.
7. Kod pacijenata sa AF i kardiovaskularnim oboljenjem povišene vrednosti vWF nezavisni su prediktor povišenog ukupnog i kardiovaskularnog mortaliteta, progresije koronarne bolesti (infarkta miokarda ili koronarne revaskularizacije), srčane insuficijencije i tromboembolijskih komplikacija. Suprotno tome, bolja periferna arterijska endotelna funkcija, odnosno više vrednosti FMD-a imaju protektivni značaj, prvenstveno za razvoj vaskularnih komplikacija. Prognostički značaj FMD-a je do sada bio poznat kod pacijenata u sinusnom ritmu, a ovim istraživanjem prognostički značaj FMD-a je prvi put pokazan i kod obolelih od AF.
8. Pokazano je i da ostali ispitivani biomarkeri imaju značajnu prediktivnu vrednost za različite nepovoljne ishode kod pacijenata sa AF. D-dimer i BNP su nezavisni prediktori povišenog ukupnog i kardiovaskularnog mortaliteta, D-dimer je nezavisno povezan za povišenim rizikom od tromboembolijskih komplikacija, a BNP sa rizikom od srčanog popuštanja kod obolelih od AF. Oksidisani LDL je nezavisni prediktor nastanka tromboembolijskih komplikacija. U univarijantnoj analizi, CRP je povezan sa povišenim ukupnim mortalitetom, a oxLDL sa rizikom od progresije paroksizmalne i perzistentne AF ka trajnoj (permanentnoj) aritmiji. Moguće je da bi određivanje FMD-a i navedenih biomarkera doprinelo stratifikaciji rizika za nastanak nepovoljnih ishoda u kliničkoj praksi i olakšalo identifikaciju pacijenata pod rizikom od komplikacija AF.

7. LITERATURA

1. Kannel WB, Wolf PA, Benjamin EJ, Levy D. Prevalence, incidence, prognosis, and predisposing conditions for atrial fibrillation: population-based estimates. *Am J Cardiol.* 1998;82(8a):2n-9n.
2. Go AS, Hylek EM, Phillips KA, Chang Y, Henault LE, Selby JV, et al. Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. *JAMA.* 2001;285(18):2370-5.
3. Valderrama AL, Dunbar SB, Mensah GA. Atrial fibrillation: public health implications. *American journal of preventive medicine.* 2005;29(5 Suppl 1):75-80.
4. Naccarelli GV, Varker H, Lin J, Schulman KL. Increasing prevalence of atrial fibrillation and flutter in the United States. *Am J Cardiol.* 2009;104(11):1534-9.
5. Lloyd-Jones DM, Wang TJ, Leip EP, Larson MG, Levy D, Vasan RS, et al. Lifetime risk for development of atrial fibrillation: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2004;110(9):1042-6.
6. Schotten U, Verheule S, Kirchhof P, Goette A. Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation: a translational appraisal. *Physiological reviews.* 2011;91(1):265-325.
7. Camm AJ, Kirchhof P, Lip GY, Schotten U, Savelieva I, Ernst S, et al. Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). *Europace.* 2010;12(10):1360-420.
8. Benjamin EJ, Wolf PA, D'Agostino RB, Silbershatz H, Kannel WB, Levy D. Impact of atrial fibrillation on the risk of death: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 1998;98(10):946-52.
9. Wolf PA, Abbott RD, Kannel WB. Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study. *Stroke.* 1991;22(8):983-8.
10. Watson T, Shantsila E, Lip GY. Mechanisms of thrombogenesis in atrial fibrillation: Virchow's triad revisited. *Lancet.* 2009;373(9658):155-66.
11. Freestone B, Lip GY. The endothelium and atrial fibrillation. The prothrombotic state revisited. *Hamostaseologie.* 2008;28(4):207-12.

12. Casaclang-Verzosa G, Gersh BJ, Tsang TS. Structural and functional remodeling of the left atrium: clinical and therapeutic implications for atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51(1):1-11.
13. Nattel S, Burstein B, Dobrev D. Atrial remodeling and atrial fibrillation: mechanisms and implications. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2008;1(1):62-73.
14. Benjamin EJ, D'Agostino RB, Belanger AJ, Wolf PA, Levy D. Left atrial size and the risk of stroke and death. The Framingham Heart Study. *Circulation.* 1995;92(4):835-41.
15. Osranek M, Bursi F, Bailey KR, Grossardt BR, Brown RD, Jr., Kopecky SL, et al. Left atrial volume predicts cardiovascular events in patients originally diagnosed with lone atrial fibrillation: three-decade follow-up. *Eur Heart J.* 2005;26(23):2556-61.
16. Masawa N, Yoshida Y, Yamada T, Joshita T, Ooneda G. Diagnosis of cardiac thrombosis in patients with atrial fibrillation in the absence of macroscopically visible thrombi. *Virchows Archiv A, Pathological anatomy and histopathology.* 1993;422(1):67-71.
17. Shirani J, Alaeddini J. Structural remodeling of the left atrial appendage in patients with chronic non-valvular atrial fibrillation: Implications for thrombus formation, systemic embolism, and assessment by transesophageal echocardiography. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology.* 2000;9(2):95-101.
18. Cai H, Li Z, Goette A, Mera F, Honeycutt C, Feterik K, et al. Downregulation of endocardial nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in atrial fibrillation: potential mechanisms for atrial thrombosis and stroke. *Circulation.* 2002;106(22):2854-8.
19. Chen MC, Chang JP, Liu WH, Yang CH, Chen YL, Tsai TH, et al. Increased inflammatory cell infiltration in the atrial myocardium of patients with atrial fibrillation. *Am J Cardiol.* 2008;102(7):861-5.
20. Gramley F, Lorenzen J, Jedamzik B, Gatter K, Koellensperger E, Munzel T, et al. Atrial fibrillation is associated with cardiac hypoxia. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology.* 2010;19(2):102-11.
21. Polovina MM, Lip GY, Potpara TS. Endothelial (dys)function in lone atrial fibrillation. *Curr Pharm Des.* 2015;21(5):622-45.
22. Fleming I, Busse R. Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology.* 2003;284(1):R1-12.

23. Matsushita K, Morrell CN, Cambien B, Yang SX, Yamakuchi M, Bao C, et al. Nitric oxide regulates exocytosis by S-nitrosylation of N-ethylmaleimide-sensitive factor. *Cell*. 2003;115(2):139-50.
24. Ziegler T, Bouzourene K, Harrison VJ, Brunner HR, Hayoz D. Influence of oscillatory and unidirectional flow environments on the expression of endothelin and nitric oxide synthase in cultured endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18(5):686-92.
25. Fukuchi M, Watanabe J, Kumagai K, Katori Y, Baba S, Fukuda K, et al. Increased von Willebrand factor in the endocardium as a local predisposing factor for thrombogenesis in overloaded human atrial appendage. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37(5):1436-42.
26. Kumagai K, Fukuchi M, Ohta J, Baba S, Oda K, Akimoto H, et al. Expression of the von Willebrand factor in atrial endocardium is increased in atrial fibrillation depending on the extent of structural remodeling. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2004;68(4):321-7.
27. Conway DS, Pearce LA, Chin BS, Hart RG, Lip GY. Plasma von Willebrand factor and soluble p-selectin as indices of endothelial damage and platelet activation in 1321 patients with nonvalvular atrial fibrillation: relationship to stroke risk factors. *Circulation*. 2002;106(15):1962-7.
28. Ellinor PT, Low AF, Patton KK, Shea MA, Macrae CA. Discordant atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide levels in lone atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(1):82-6.
29. Boos CJ, Anderson RA, Lip GY. Is atrial fibrillation an inflammatory disorder? *Eur Heart J*. 2006;27(2):136-49.
30. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*. 2000;102(18):2165-8.
31. Korantzopoulos P, Kalantzi K, Siogas K, Goudevenos JA. Long-term prognostic value of baseline C-reactive protein in predicting recurrence of atrial fibrillation after electrical cardioversion. *Pacing and clinical electrophysiology : PACE*. 2008;31(10):1272-6.
32. Mondillo S, Sabatini L, Agricola E, Ammaturro T, Guerrini F, Barbati R, et al. Correlation between left atrial size, prothrombotic state and markers of endothelial dysfunction in patients with lone chronic nonrheumatic atrial fibrillation. *Int J Cardiol*. 2000;75(2-3):227-32.
33. Gosselink AT, Smit AJ, Crijns HJ, Hillege HH, Lie KI. Alteration of peripheral vasodilatory reserve capacity after cardioversion of atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 1996;17(6):926-34.

34. Guazzi M, Arena R. Endothelial dysfunction and pathophysiological correlates in atrial fibrillation. *Heart*. 2009;95(2):102-6.
35. Polovina MM, Potpara TS. Endothelial dysfunction in metabolic and vascular disorders. *Postgrad Med*. 2014;126(2):38-53.
36. Vallance P, Chan N. Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance. *Heart*. 2001;85(3):342-50.
37. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(2):257-65.
38. Freestone B, Chong AY, Nuttall S, Lip GY. Impaired flow mediated dilatation as evidence of endothelial dysfunction in chronic atrial fibrillation: relationship to plasma von Willebrand factor and soluble E-selectin levels. *Thromb Res*. 2008;122(1):85-90.
39. Skalidis EI, Zacharis EA, Tsetis DK, Pagonidis K, Chlouverakis G, Yarmenitis S, et al. Endothelial cell function during atrial fibrillation and after restoration of sinus rhythm. *Am J Cardiol*. 2007;99(9):1258-62.
- 39a. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ; Chamber Quantification Writing Group; American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee; European Association of Echocardiography. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005 Dec;18(12):1440-63.
40. Polovina M, Potpara T, Giga V, Stepanovic J, Ostojic M. Impaired endothelial function in lone atrial fibrillation. *Vojnosanit Pregl*. 2013;70(10):908-14.
41. Takahashi N, Ishibashi Y, Shimada T, Sakane T, Ohata S, Sugamori T, et al. Atrial fibrillation impairs endothelial function of forearm vessels in humans. *Journal of cardiac failure*. 2001;7(1):45-54.
42. Guazzi M, Belletti S, Tumminello G, Fiorentini C, Guazzi MD. Exercise hyperventilation, dyspnea sensation, and ergoreflex activation in lone atrial fibrillation. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2004;287(6):H2899-905.

43. Guazzi M, Belletti S, Bianco E, Lenatti L, Guazzi MD. Endothelial dysfunction and exercise performance in lone atrial fibrillation or associated with hypertension or diabetes: different results with cardioversion. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2006;291(2):H921-8.
44. Guazzi M, Belletti S, Lenatti L, Bianco E, Guazzi MD. Effects of cardioversion of atrial fibrillation on endothelial function in hypertension or diabetes. *European journal of clinical investigation*. 2007;37(1):26-34.
45. Gimbrone MA, Jr., Topper JN, Nagel T, Anderson KR, Garcia-Cardena G. Endothelial dysfunction, hemodynamic forces, and atherogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000;902:230-9; discussion 9-40.
- 45a. Vanassche T, Lauw MN, Eikelboom JW, Healey JS, Hart RG, Alings M, et al. Risk of ischaemic stroke according to pattern of atrial fibrillation: analysis of 6563 aspirin-treated patients in ACTIVE-A and AVERROES. *Eur Heart J*. 2015;36(5):281-7a.
- 45b. Steinberg BA, Hellkamp AS, Lokhnygina Y, Patel MR, Breithardt G, Hankey GJ, et al. Higher risk of death and stroke in patients with persistent vs. paroxysmal atrial fibrillation: results from the ROCKET-AF Trial. *Eur Heart J*. 2015;36(5):288-96.
46. Range FT, Schafers M, Acil T, Schafers KP, Kies P, Paul M, et al. Impaired myocardial perfusion and perfusion reserve associated with increased coronary resistance in persistent idiopathic atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 2007;28(18):2223-30.
47. Shin SY, Na JO, Lim HE, Choi CU, Choi JI, Kim SH, et al. Improved endothelial function in patients with atrial fibrillation through maintenance of sinus rhythm by successful catheter ablation. *Journal of cardiovascular electrophysiology*. 2011;22(4):376-82.
48. Yoshino S, Yoshikawa A, Hamasaki S, Ishida S, Oketani N, Saihara K, et al. Atrial fibrillation-induced endothelial dysfunction improves after restoration of sinus rhythm. *Int J Cardiol*. 2013;168(2):1280-5.
49. Luo GP, Ni B, Yang X, Wu YZ. von Willebrand factor: more than a regulator of hemostasis and thrombosis. *Acta haematologica*. 2012;128(3):158-69.
50. Nakamura Y, Nakamura K, Fukushima-Kusano K, Ohta K, Matsubara H, Hamuro T, et al. Tissue factor expression in atrial endothelia associated with nonvalvular atrial fibrillation: possible involvement in intracardiac thrombogenesis. *Thromb Res*. 2003;111(3):137-42.

51. Goldsmith I, Kumar P, Carter P, Blann AD, Patel RL, Lip GY. Atrial endocardial changes in mitral valve disease: a scanning electron microscopy study. *Am Heart J.* 2000;140(5):777-84.
52. Li-Saw-Hee FL, Blann AD, Edmunds E, Gibbs CR, Lip GY. Effect of acute exercise on the raised plasma fibrinogen, soluble P-selectin and von Willebrand factor levels in chronic atrial fibrillation. *Clinical cardiology.* 2001;24(5):409-14.
53. Ehrlich JR, Kaluzny M, Baumann S, Lehmann R, Hohnloser SH. Biomarkers of structural remodelling and endothelial dysfunction for prediction of cardiovascular events or death in patients with atrial fibrillation. *Clin Res Cardiol.* 2011;100(11):1029-36.
54. Roldan V, Marin F, Muina B, Torregrosa JM, Hernandez-Romero D, Valdes M, et al. Plasma von Willebrand factor levels are an independent risk factor for adverse events including mortality and major bleeding in anticoagulated atrial fibrillation patients. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(25):2496-504.
55. Uemura T, Kaikita K, Yamabe H, Soejima K, Matsukawa M, Fuchigami S, et al. Changes in plasma von Willebrand factor and ADAMTS13 levels associated with left atrial remodeling in atrial fibrillation. *Thromb Res.* 2009;124(1):28-32.
56. Heppell RM, Berkin KE, McLenachan JM, Davies JA. Haemostatic and haemodynamic abnormalities associated with left atrial thrombosis in non-rheumatic atrial fibrillation. *Heart.* 1997;77(5):407-11.
57. Ammash N, Konik EA, McBane RD, Chen D, Tange JI, Grill DE, et al. Left atrial blood stasis and Von Willebrand factor-ADAMTS13 homeostasis in atrial fibrillation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(11):2760-6.
58. Minamino T, Kitakaze M, Sato H, Asanuma H, Funaya H, Koretsune Y, et al. Plasma levels of nitrite/nitrate and platelet cGMP levels are decreased in patients with atrial fibrillation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(11):3191-5.
59. Tsioufis C, Syrseloudis D, Hatziyianni A, Tzamou V, Andrikou I, Tolis P, et al. Relationships of CRP and P wave dispersion with atrial fibrillation in hypertensive subjects. *Am J Hypertens.* 2010;23(2):202-7.
60. Kinoshita T, Asai T, Takashima N, Hosoba S, Suzuki T, Kambara A, et al. Preoperative C-reactive protein and atrial fibrillation after off-pump coronary bypass surgery. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery.* 2011;40(6):1298-303.
61. Schnabel RB, Wild PS, Wilde S, Ojeda FM, Schulz A, Zeller T, et al. Multiple biomarkers and atrial fibrillation in the general population. *PLoS One.* 2014;9(11):e112486.

62. Chung MK, Martin DO, Sprecher D, Wazni O, Kanderian A, Carnes CA, et al. C-reactive protein elevation in patients with atrial arrhythmias: inflammatory mechanisms and persistence of atrial fibrillation. *Circulation*. 2001;104(24):2886-91.
63. Asakura H, Hifumi S, Jokaji H, Saito M, Kumabashiri I, Uotani C, et al. Prothrombin fragment F1 + 2 and thrombin-antithrombin III complex are useful markers of the hypercoagulable state in atrial fibrillation. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis*. 1992;3(4):469-73.
64. Lip GY, Lowe GD, Rumley A, Dunn FG. Increased markers of thrombogenesis in chronic atrial fibrillation: effects of warfarin treatment. *British heart journal*. 1995;73(6):527-33.
65. Marin F, Roldan V, Climent VE, Ibanez A, Garcia A, Marco P, et al. Plasma von Willebrand factor, soluble thrombomodulin, and fibrin D-dimer concentrations in acute onset non-rheumatic atrial fibrillation. *Heart*. 2004;90(10):1162-6.
66. Coll-Vinent B, Monteagudo J, Miro O, Luis Marin J, Nava S, Scalise A, et al. Transient endothelial dysfunction is present shortly after cardioversion in patients with lone atrial fibrillation. *Thromb Res*. 2006;117(3):235-40.
67. Hijazi Z, Oldgren J, Siegbahn A, Granger CB, Wallentin L. Biomarkers in atrial fibrillation: a clinical review. *Eur Heart J*. 2013;34(20):1475-80.
68. Inoue S, Murakami Y, Sano K, Katoh H, Shimada T. Atrium as a source of brain natriuretic polypeptide in patients with atrial fibrillation. *Journal of cardiac failure*. 2000;6(2):92-6.
69. Goetze JP, Friis-Hansen L, Rehfeld JF, Nilsson B, Svendsen JH. Atrial secretion of B-type natriuretic peptide. *Eur Heart J*. 2006;27(14):1648-50.
70. Silvet H, Young-Xu Y, Walleigh D, Ravid S. Brain natriuretic peptide is elevated in outpatients with atrial fibrillation. *Am J Cardiol*. 2003;92(9):1124-7.
71. Shelton RJ, Clark AL, Goode K, Rigby AS, Cleland JG. The diagnostic utility of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide for the detection of major structural heart disease in patients with atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 2006;27(19):2353-61.
72. Dudley SC, Jr., Hoch NE, McCann LA, Honeycutt C, Diamandopoulos L, Fukai T, et al. Atrial fibrillation increases production of superoxide by the left atrium and left atrial appendage: role of the NADPH and xanthine oxidases. *Circulation*. 2005;112(9):1266-73.

73. Kim YM, Guzik TJ, Zhang YH, Zhang MH, Kattach H, Ratnatunga C, et al. A myocardial Nox2 containing NAD(P)H oxidase contributes to oxidative stress in human atrial fibrillation. *Circulation research*. 2005;97(7):629-36.
74. Taye A, El-Sheikh AA. Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 pathways. *European journal of clinical investigation*. 2013;43(7):740-5.
75. Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. LOX-1, OxLDL, and atherosclerosis. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:152786.
76. Li J, Solus J, Chen Q, Rho YH, Milne G, Stein CM, et al. Role of inflammation and oxidative stress in atrial fibrillation. *Heart Rhythm*. 2010;7(4):438-44.
77. Leftheriotis DI, Fountoulaki KT, Flevari PG, Parissis JT, Panou FK, Andreadou IT, et al. The predictive value of inflammatory and oxidative markers following the successful cardioversion of persistent lone atrial fibrillation. *Int J Cardiol*. 2009;135(3):361-9.
78. Kim SM, Lee JH, Kim JR, Shin DG, Lee SH, Cho KH. Female patients with atrial fibrillation have increased oxidized and glycated lipoprotein properties and lower apolipoprotein A-I expression in HDL. *Int J Mol Med*. 2011;27(6):841-9.
79. Richter B, Gwechenberger M, Socas A, Zorn G, Albinni S, Marx M, et al. Markers of oxidative stress after ablation of atrial fibrillation are associated with inflammation, delivered radiofrequency energy and early recurrence of atrial fibrillation. *Clin Res Cardiol*. 2012;101(3):217-25.
80. Okada A, Kashima Y, Tomita T, Takeuchi T, Aizawa K, Takahashi M, et al. Characterization of cardiac oxidative stress levels in patients with atrial fibrillation. *Heart and vessels*. 2014.
81. Pignatelli P, Pastori D, Carnevale R, Farcomeni A, Cangemi R, Nocella C, et al. Serum NOX2 and urinary isoprostanes predict vascular events in patients with atrial fibrillation. *Thromb Haemost*. 2015;113(3):617-24.
82. Potpara TS, Stankovic GR, Beleslin BD, Polovina MM, Marinkovic JM, Ostojic MC, et al. A 12-year follow-up study of patients with newly diagnosed lone atrial fibrillation: implications of arrhythmia progression on prognosis: the Belgrade Atrial Fibrillation study. *Chest*. 2012;141(2):339-47.
83. Katritsis DG, Toumpoulis IK, Giazitzoglou E, Korovesis S, Karabinos I, Paxinos G, et al. Latent arterial hypertension in apparently lone atrial fibrillation. *J Interv Card Electrophysiol*. 2005;13(3):203-7.
84. Weijts B, Pisters R, Haest RJ, Kragten JA, Joosen IA, Versteijlen M, et al. Patients originally diagnosed with idiopathic atrial fibrillation more often suffer

from insidious coronary artery disease compared to healthy sinus rhythm controls. *Heart Rhythm*. 2012;9(12):1923-9.

85. Weijs B, de Vos CB, Tieleman RG, Peeters FE, Limantoro I, Kroon AA, et al. The occurrence of cardiovascular disease during 5-year follow-up in patients with idiopathic atrial fibrillation. *Europace*. 2013;15(1):18-23.

86. Polovina MM, Ostojic MC, Potpara TS. Relation of Biomarkers of Inflammation and Oxidative Stress with Hypertension Occurrence in Lone Atrial Fibrillation. *Mediators of Inflammation*. 2015;2015:8.

87. Rostagno C, Bacci F, Martelli M, Naldoni A, Bertini G, Gensini G. Clinical course of lone atrial fibrillation since first symptomatic arrhythmic episode. *Am J Cardiol*. 1995;76(11):837-9.

88. Neunteufl T, Heher S, Katzenschlager R, Wolfl G, Kostner K, Maurer G, et al. Late prognostic value of flow-mediated dilation in the brachial artery of patients with chest pain. *Am J Cardiol*. 2000;86(2):207-10.

89. Akcakoyun M, Kargin R, Tanalp AC, Pala S, Ozveren O, Akcay M, et al. Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events and restenosis in patients undergoing coronary stent implantation: a prospective study. *Coronary artery disease*. 2008;19(5):337-43.

90. Kitta Y, Obata JE, Nakamura T, Hirano M, Kodama Y, Fujioka D, et al. Persistent impairment of endothelial vasomotor function has a negative impact on outcome in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(4):323-30.

91. Conway DS, Pearce LA, Chin BS, Hart RG, Lip GY. Prognostic value of plasma von Willebrand factor and soluble P-selectin as indices of endothelial damage and platelet activation in 994 patients with nonvalvular atrial fibrillation. *Circulation*. 2003;107(25):3141-5.

92. Krishnamoorthy S, Khoo CW, Lim HS, Lane DA, Pignatelli P, Basili S, et al. Prognostic role of plasma von Willebrand factor and soluble E-selectin levels for future cardiovascular events in a 'real-world' community cohort of patients with atrial fibrillation. *European journal of clinical investigation*. 2013;43(10):1032-8.

93. Lip GY, Lane D, Van Walraven C, Hart RG. Additive role of plasma von Willebrand factor levels to clinical factors for risk stratification of patients with atrial fibrillation. *Stroke*. 2006;37(9):2294-300.

94. Lip GY, Patel JV, Hughes E, Hart RG. High-sensitivity C-reactive protein and soluble CD40 ligand as indices of inflammation and platelet activation in 880 patients with nonvalvular atrial fibrillation: relationship to stroke risk factors, stroke risk stratification schema, and prognosis. *Stroke*. 2007;38(4):1229-37.

95. Hermida J, Lopez FL, Montes R, Matsushita K, Astor BC, Alonso A. Usefulness of high-sensitivity C-reactive protein to predict mortality in patients with atrial fibrillation (from the Atherosclerosis Risk In Communities [ARIC] Study). *Am J Cardiol.* 2012;109(1):95-9.
96. Sadanaga T, Sadanaga M, Ogawa S. Evidence that D-dimer levels predict subsequent thromboembolic and cardiovascular events in patients with atrial fibrillation during oral anticoagulant therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(20):2225-31.
97. Vene N, Mavri A, Kosmelj K, Stegnar M. High D-dimer levels predict cardiovascular events in patients with chronic atrial fibrillation during oral anticoagulant therapy. *Thromb Haemost.* 2003;90(6):1163-72.
98. Eikelboom J, Hijazi Z, Oldgren J, Andersson U, Connolly SJ, Ezekowitz MD, et al. D-dimer is Prognostic for Stroke, Major Bleeding and Death During Anticoagulation of Atrial Fibrillation - a RELY Substudy. *Circulation.* 2010;122:A18321.
99. Christersson C, Schollin M, Alexander JH, Bersh BJ, Horowitz J, Hylek EM, et al. Increased levels of D-dimer in atrial fibrillation identify patients with higher risk of thromboembolic events and death. *Eur Heart J.* 2012;33:Abstract Supplement 51.
100. Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, Hisanaga T, Maeda Y, Fukai D, et al. Attenuation of compensation of endogenous cardiac natriuretic peptide system in chronic heart failure: prognostic role of plasma brain natriuretic peptide concentration in patients with chronic symptomatic left ventricular dysfunction. *Circulation.* 1997;96(2):509-16.
101. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Omland T, et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *The New England journal of medicine.* 2004;350(7):655-63.
102. Freestone B, Gustafsson F, Chong AY, Corell P, Kistorp C, Hildebrandt P, et al. Influence of atrial fibrillation on plasma von willebrand factor, soluble E-selectin, and N-terminal pro B-type natriuretic peptide levels in systolic heart failure. *Chest.* 2008;133(5):1203-8.
103. Hijazi Z, Oldgren J, Andersson U, Connolly SJ, Ezekowitz MD, Hohnloser SH, et al. Cardiac biomarkers are associated with an increased risk of stroke and death in patients with atrial fibrillation: a Randomized Evaluation of Long-term Anticoagulation Therapy (RE-LY) substudy. *Circulation.* 2012;125(13):1605-16.
104. Meisinger C, Baumert J, Khuseyinova N, Loewel H, Koenig W. Plasma oxidized low-density lipoprotein, a strong predictor for acute coronary heart

disease events in apparently healthy, middle-aged men from the general population. *Circulation*. 2005;112(5):651-7.

105. George J, Carr E, Davies J, Belch JJ, Struthers A. High-dose allopurinol improves endothelial function by profoundly reducing vascular oxidative stress and not by lowering uric acid. *Circulation*. 2006;114(23):2508-16.

SPISAK SKRAĆENICA

ACE	Angiotenzin konvertujući enzim
AF	Atrijalna fibrilacija
AT₁	Angiotenzin-1
BMI	Body mass index (Indeks telesne mase)
BNP	B-tip natriuretskog peptida
CHA₂DS₂-VASc	Skor za procenu tromboembolijskog rizika – akronim od: C – congestive heart failure; H – Hypertension; A ₂ – age ≥75 years; D – diabetes mellitus; S ₂ – stroke; V – vascular disease; A – age 65-74 years; Sc - felames
CNS	Centralni nervni sistem
CrCl	Kreatinin klirens
CRP	C-reaktivni protein
D_{baz}	Bayalni dijametar brahijalne arterije
D_{max}	Maksimalni dijametar brahijalne arterije u toku protokom izazvane vazodilatacije
D_{NTG}	Maksimalni dijametar brahijalne arterije nakon primene nitroglicerina
EHRA	European Heart Rhythm Association (Evropsko udruženje za poremećaje srčanog ritma)
EF-LK	Ejeksiona frakcija leve komore srca

eNOS	Endotelna azot-monoksid sintaza
FMD	Flow-mediated dilatation (protokom izazvana vazodilatacija)
HDL	High-density cholesterol (lipoprotein velike gustine)
HR	Hazar Ratio
INR	International Normalized Ratio
IQR	Interkvartilni opseg
LDL	Low density cholesterol (lipoprotein male gustine)
LK-EDD	End-dijastola dimenzija leve komore
LK-ESD	End-sistolna dimenzija leve komore
LOX-1	Lecitinu sličan receptor za oksidisani LDL
NADPH	Nikotinamid-dinukleotid fosfat (redukovani)
NMD	Nitroglycerin-mediated dilatation (nitroglicerinom izazvana vazodilatacija)
NO	Azot monoksid
NYHA	New York Heart Association - klasifikacija
oxLDL	Oksidisani low density cholesterol (lipoprotein male gustine)
PCI	Perkutana koronarna intervencija
TIA	Tranzitorni ishemijski atak

TNFalfa Tumor nekrotišući faktor alfa

vWF Von Willebrandov faktor

BIOGRAFIJA

Dr Marija Polovina je rođena u Beogradu 22.4.1978.

Diplomirala je na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2003. godine sa srednjom ocenom 10 (deset).

Magistarski rad, pod nazivom, „*Razlika u brzini vazodilatacije brahijalne arterije nakon hiperemijskog stimulusa kod zdravih osoba sa i bez faktora rizika za koronarnu bolest*“, čiji je mentor Prof. Dr Miodrag Ostojić, odbranila je 2008. godine.

Od 2006. godine zaposlena je u stalnom radnom odnosu u Klinici za kardiologiju Kliničkog centra Srbije. U oktobru 2012. je položila specijalistički ispit sa odličnom ocenom i stekla zvanje specijaliste interne medicine, a od 2015. je započela užu specijalizaciju iz oblasti kardiologije. Od 2014. godine saradnik je Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, kao klinički asistent na Katedri interne medicine i kardiologije.

Od početka radnog odnosa zaposlena je u Jedinici intenzivne nege u aritmologiji i kliničkoj kardiologiji. Pored kliničkog rada, angažovana je u okviru naučno-istraživačkih projekata Ministarstva nauke RS i učestvuje je u naučno-istraživačkom radu iz oblasti atrijalne fibrilacije, endotelne funkcije i biomarkera u kardiologiji.

Godine 2009. Dr Marija Polovina je osvojila nagradu za najbolji rad mladog naučnog istraživača na međunarodnoj Konferenciji o srčanoj insuficijenciji i dijabetesu u Vršcu, a u junu 2015. je osvojila nagradu Evropske Asocijacije za poremećaje srčanog ritma (European Heart Rhythm Association, EHRA) za apstrakt prezentovan na kongresu EHRA-e. Autor je više radova publikovanih u domaćim i međunarodnim naučnim časopisima, koautor je nekoliko poglavlja u monografijama i udžbenicima iz kardiologije, a rezultate svog istraživanja izlagala je na više domaćih i međunarodnih stručnih i naučnih skupova.

Dr Marija Polovina je član Udruženja Kardiologa Srbije, Evropskog Udruženja Kardiologa, kao i radnih grupa Evropskog Udruženja kardiologa za Srčanu insuficijenciju, poremećaje srčanog ritma i celularnu elektrofiziologiju. Sekretar je Udruženja atrijalne fibrilacije Srbije

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Марија Половина
број уписа _____ дисертација одобрена 14.09.2011.

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Процена и прогностичке импликације ендотелне функције код
оболелих од атријалне фибрилације

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 02.02.2016.

MPolunich

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Марија Половина

Број уписа дисертација одобрена 14.09.2011.

Студијски програм Процена и прогностичке импликације ендотелне функције

Наслов рада код оболелих од атријалне фибрилације

Ментор професор емеритус др Миодраг Остојић

Потписани Марија Половина

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 02.02.2016.

MPolovic

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Процена и прогностичке импликације ендотелне функције код оболелих од атријалне фибрилације

која је моје ауторско дело.

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

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 02.02.2016.

MPlojic