

UNIVERZITET U BEOGRADU  
FARMACEUTSKI FAKULTET



Dejana N. Vidojević

**ZNAČAJ HORMONA HIPOTALAMO-  
HIPOFIZNO-ADRENALNE OSOVINE I  
GASNIH ANALIZA TOKOM STRESA I  
OPORAVKA OD STRESA U PROCENI  
TEŽINE KORONARNE BOLESTI I  
STRATIFIKACIJI RIZIKA**

doktorska disertacija

Beograd, 2023.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF PHARMACY



Dejana N. Vidojević

**THE SIGNIFICANCE OF HORMONES OF THE  
HYPOTHALAMIC-PITUITARY-ADRENAL  
HORMONAL AXIS AND GAS ANALYSIS  
DURING STRESS AND RECOVERY FROM  
STRESS IN ASSESSING THE SEVERITY OF  
CORONARY ARTERY DISEASE AND RISK  
STRATIFICATION**

doctoral dissertation

Belgrade, 2023

## **Mentori**

dr Dejana Popović, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za fiziologiju

dr Vladan Vukčević, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu – Medicinski fakultet, Katedra za internu medicinu

## **Članovi komisije**

dr Ratko Lasica, docent  
Univerzitet u Beogradu – Medicinski fakultet, Katedra za internu medicinu

---

dr. Marin Jukić, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za fiziologiju

---

dr Stanimir Stojiljković – redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu – Fakultet sporta i fizičkog vaspitanja

U Beogradu, \_\_\_\_\_

*Istraživanja predstavljena u ovoj doktorskoj disertaciji sprovedena su na klinici za kardiologiju, Univerzitetskog kliničkog centra Srbije, u okviru projekata 175036 i 41022 koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. Istraživanje je odobreno odlukom Etičkog odbora Univerzitetskog kliničkog centra Srbije dana 10.12.2020. pod brojem 760/01, uz saglasnost Kolegijuma za nove kliničke studije klinike za kardiologiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbije.*

*Zahvaljujem se:*

*Mom mentoru prof dr Dejani Popović na usmeravanju u istraživačkom radu, prenesenom znanju i iskustvu i mimo okvira ovog rada, na strpljenju, podršci i predanosti u svim aktivnostima koje su doprinele realizaciji ove doktorske disertacije, kao i mom ličnom putu akademskog i profesionalnog sazrevanja.*

*Katedri za fiziologiju Farmaceutskog Fakulteta Univerziteta u Beogradu*

*Univerzitetom Kliničkom centru Srbije i Laboratoriji Univerzitetskog Kliničkog centra Srbije*

*Direktorima i kolektivu AXIOM International tima na podršci i velikom uticaju na dalje oblikovanje moje privatne i profesionalne ličnosti.*

*Koleginici i velikoj prijateljici Tei Đorđević, neizmernu zahvalnost dugujem tokom svih ovih godina druženja, obrazovanja, stručnog usavršavanja, poslovne saradnje i kolegijalnosti.*

*Mojim roditeljima i mom bratu čija me ljubav, snaga i podrška prate na svim životnim putevima.*

*Mom dedi i mojim bakama koji su željno iščekivali ovo delo.*

*Mom suprugu koji je nepresušni izvor motivacije i podrške da svakim danom radimo na sebi i budemo uspešniji, a prvenstveno bolji ljudi.*



# ZNAČAJ HORMONA HIPOTALAMO-HIPOFIZNO-ADRENALNE OSOVINE I GASNIH ANALIZA TOKOM STRESA I OPORAVKA OD STRESA U PROCENI TEŽINE KORONARNE BOLESTI I STRATIFIKACIJI RIZIKA

## **Rezime**

Trenutna studija ispitala je sposobnost hormona stres osovine i alfa-melanocit-stimulišućeg hormona (alfa-MSH), ka oi analize gasova da predvide ozbiljnost i prognozu bolesti koronarnih arterija (CAD) u bazalnim uslovima, kao i tokom i nakon kardiopulmonalnog testa opterećenja (CPET).

U roku od 2 meseca nakon koronarne angiografije, 40 ispitanika bele rase sa lezijama koronarnih arterija  $\geq 50\%$ , podvrgnuto je CPET-u na ležećem ergometru (RE) i tredmilu (TM) u kombinaciji sa stres ehokardiografijom (SE). U mirovanju, na vrhuncu vežbanja i nakon trećeg minuta oporavka nakon CPET-a, nivoi kortizola, adrenokortikotropnog hormona (ACTH), NT-pro-moždanog natriuretskog peptida (NT-pro-BNP) i alfa-MSH u plazmi mereni su imunotest sendvič tehnikom, radioimunotestom, radioimunometrijskom tehnikom i tehnikom imuno-enzimskog testa, respektivno. Pokreti zida miokarda su beleženi ehokardiografijom u mirovanju i na vrhuncu vežbanja. Ishemija je kvantifikovana indeksom pokretljivosti zida miokarda (WMSI). Ispitanici su naknadno praćeni u periodu od  $32 \pm 10$  meseci.

Rezultati studije pokazuju značajno niže nivoe kortizola u plazmi tokom CPET-a u subjekata sa 1-2 stenotične koronarne arterije (SCA) u poređenju sa onima sa 3-SCA, dok ACTH i NT-pro-BNP nisu bili značajno različiti. Kortizol u mirovanju i tokom CPET oporavka pokazao je najbolju prediktivnu vrednost u razlikovanju između 1-, 2- i 3-SCA, dok  $\Delta$ kortizol na vrhuncu vežbanja i odmoru pokazuje prediktivnu vrednost kumulativnih srćanih događaja.  $\Delta$ alfa-MSH oporavak/vrh tokom RE CPET bio je najbolji prediktor nastanka srćanog događaja.

Promena izlaza ugljen-dioksida ( $\Delta VCO_2$ ) oporavak/vrh i uzimanja kiseonika ( $\Delta VO_2$ ) oporavak/vrh, kao i  $\Delta$ WMSI vrh/odmor tokom TM CPET bila je značajna u razlikovanju između 1-2-SCA i 3-SCA, dok visoku prediktivnu vrednost oporavka ima  $\Delta VO_2$ /vrh dobijen tokom TM CPET. Testiranje na tredmilu čini se boljim pristupom od testiranja na ergometru u proceni težine i prognoze CAD-a.

## **Ključne reči:**

Kardiopulmonalni test opterećenja, adrenokortikotropni hormon, koronarne obolesti arterija, kortizol, alfa-MSH, stres osovina, stress hormoni, gasne analize

## **Naučna oblast:**

Farmacija

## **Uža naučna oblast:**

Farmakologija

# THE SIGNIFICANCE OF HORMONES OF THE HYPOTHALAMIC-PITUITARY-ADRENAL HORMONAL AXIS AND GAS ANALYSIS DURING STRESS AND RECOVERY FROM STRESS IN ASSESSING THE SEVERITY OF CORONARY ARTERY DISEASE AND RISK STRATIFICATION

## **Resyme**

The current study examined the ability of stress hormones, alpha-melanocyte stimulating hormone (alpha-MSH) and gas analysis to predict CAD severity and prognosis at basal conditions as well as during and following the cardiopulmonary exercise testing (CPET).

Within 2 months of coronary angiography, forty Caucasian subjects with coronary artery lesions  $\geq 50\%$  were CPET tested on a recumbent ergometer in conjunction with stress echocardiography (SE). At rest, peak and after 3 min of recovery following CPET, plasma levels of cortisol, adrenocorticotrophic hormone (ACTH), NT-pro-brain natriuretic peptide (NT-pro-BNP) and alpha-MSH were measured by immunoassay sandwich technique, radioimmunoassay, radioimmunometric technique and **enzyme-linked immunosorbent assay** technique, respectively. Myocardial wall motion was recorded by echocardiography at rest and peak exercise. Ischemia was quantified by the wall motion score index (WMSI). Subjects were subsequently followed a mean of  $32 \pm 10$  months.

Results of the study show lower plasma cortisol levels during CPET in subjects with 1-2 stenotic coronary arteries (SCA) compared to those with 3-SCA, whereas ACTH and NT-pro-BNP were not significantly different. Cortisol at rest and during CPET recovery demonstrated the best predictive value in distinguishing between 1-, 2-SCA, and 3-SCA, while  $\Delta$ Cortisol peak/rest predicted cumulative cardiac events.  $\Delta$ alpha-MSH recovery/peak during RE CPET was the best predictor of cardiac event occurrence.

The change of carbon-dioxide output ( $\Delta$ VCO<sub>2</sub>) recovery/peak and oxygen uptake ( $\Delta$ VO<sub>2</sub>) recovery/peak and  $\Delta$ WMSI peak/rest during TM CPET were significant in distinguishing between 1-2-SCA and 3-SCA. Predictive value of  $\Delta$ VO<sub>2</sub> recovery/peak was obtained during TM CPET. TM testing seems to be a better approach in the assessment of CAD severity and prognosis.

## **Key words:**

Cardiopulmonary exercise test; adrenocorticotrophic hormone; coronary artery disease; cortisol; alpha-MSH, stress axis; stress hormones, gas analyses

## **Academic expertise:**

Pharmacy

## **Major in:**

Pharmacology

# SADRŽAJ

1.	UVOD .....	9
1.1	Stres i fiziološki odgovor na stres .....	10
1.2.	HPA osovina .....	11
1.2.1	<i>Hormoni HPA osovine</i> .....	13
1.2.2.	<i>ACTH</i> .....	14
1.2.3.	<i>α-MSH</i> .....	14
1.2.4.	<i>Glukokortikoidi</i> .....	15
1.2.5.	<i>Kortizol</i> .....	17
1.2.6.	<i>Uticaj kortizola na kardiovaskularne bolesti</i> .....	20
1.3	Nt-pro-BNP .....	20
1.4.	Bolest Koronarnih Arterija .....	23
1.5.1	<i>Uloga hormona HPA-osovine u patogenezi koronarne arterijske bolesti</i> .....	26
1.5.2.	<i>Uloga α-melanocit stimulirajućeg hormona u patogenezi koronarne arterijske bolesti</i> .....	26
1.6	Dijagnostičke metode .....	26
1.6.1	<i>Ehokardiografija</i> .....	27
1.6.2	<i>Stres ehokardiografija</i> .....	27
1.6.3	<i>Kardiopulmonalni test opterećenja</i> .....	28
2	PREDMET ISTRAŽIVANJA .....	31
3	CILJ ISTRAŽIVANJA .....	33
4	MATERIJAL I METOD .....	34
4.1	Protokol ispitivanja .....	34
4.2	Studijska kohorta .....	34
4.3	Procedure .....	35
4.3.1.	<i>Pregled nalaza rutinske ehokardiografije i katetarizacije srca</i> .....	35
4.3.1.1.	<i>Ehokardiografija</i> .....	36
4.3.1.2	<i>Koronarna angiografija</i> .....	36
4.3.2.	<i>Kardiopulmonalni test opterećenja (CPET)</i> .....	36
4.3.3.	<i>Analiza krvi</i> .....	40
4.3.4.	<i>Praćenje pojave neželjenih kardiovaskularnih događaja</i> .....	41
4.4.	Statistička analiza .....	41
5.	REZULTATI .....	42
5.1	Kliničke i ehokardiografske karakteristike ispitanika .....	42
5.2.	Ehokardiografske karakteristike ispitanika .....	43
5.3	Parametri težine koronarne bolesti .....	43
5.4.	Kardiopulmonalni parametri na biciklu i tredmilu .....	44
5.4.	Rezultati praćenja ispitanika .....	46

5.5. Prediktori neželjenih srčanih događaja .....	46
5.6. Razlike u hormonskim parametrima u odnosu na težinu CAD .....	48
5.7. Prediktivna vrednost hormonskih varijabli za razlikovanje 1- i 2 - sudovne od 3-sudovne CAD .....	52
5.8. Prediktivna vrednost hormonskih varijabli za kardiovaskularne događaje .....	53
6. DISKUSIJA .....	54
6.1. Osnov upotrebe kardiopulmonalnog testa opterećenja u dijagnostikovanju CAD .....	54
6.2. Patofiziološka osnova dijagnostičkih i prognostičkih performansi analize gasnih parametara tokom oporavka u CAD-u .....	54
6.3. Odgovori na TM CPET I RE CPET tokom oporavka u pacijenata sa CAD .....	56
6.4. Vežbanje kao akutni stress model i uloga hormona .....	57
6.5. Hronični stres model i uloga hormona .....	58
6.6. Uloga alfa MSH u stresu .....	59
7. OGRANIČENJA .....	62
8. ZAKLJUČAK .....	63
9. LITERATURA .....	65
10. SPISAK SKRAĆENICA.....	83
11. PRILOZI .....	85
11.1 Biografija .....	85
11.2 Obrazac 5. - Izjava o autorstvu.....	86
11.3 Obrazac 6. -Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada .....	87
11.4 Obrazac 7. - Izjava o korišćenju .....	88

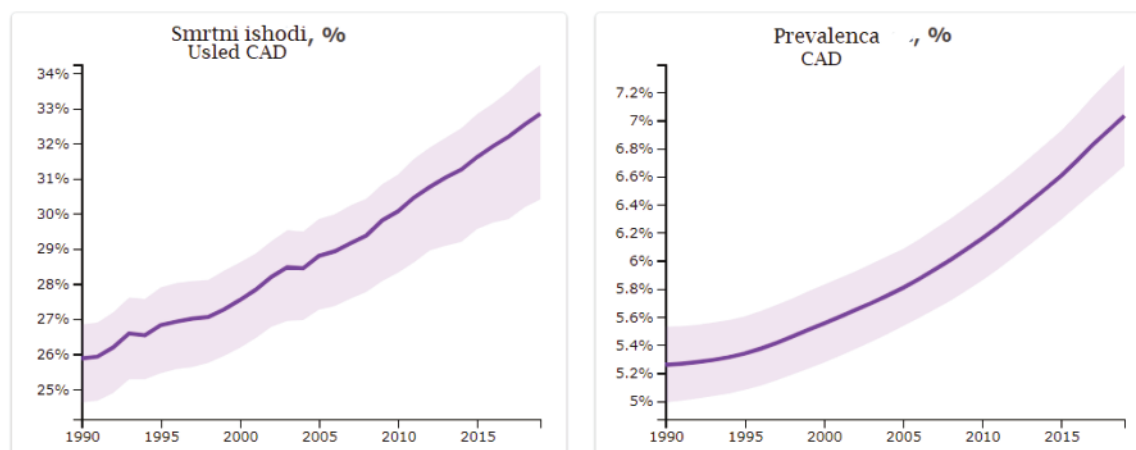


## 1. UVOD

Bolesti srca i krvnih sudova su već decenijama unazad vodeći uzrok obolevanja, radne nesposobnosti, izostajanja sa posla i prevremene smrtnosti (pre 65. godine) u razvijenim zemljama i u zemljama u razvoju (Mackay i sar., 2004., WHO, 2004.). Uprkos značajnom poboljšanju u identifikaciji i tretmanu, bolest koronarnih arterija i dalje rezultira visokim morbiditetom i mortalitetom, gde se smatra da je CAD uzrok jedne trećine svih smrtnih ishoda populacije starije od 35 godina (Sanchis-Gomar i sar. 2016), a prema skorijim istraživanjima, smatra se da je taj procenat nešto niži u razvijenim zemljama te iznosi 19% smrtnih slučajeva svih uzroka kod muškaraca i 20% žena. (Malakar i sar. 2019). Sve veće socioekonomske razlike dovode do povećanja mortaliteta, a prisutan je i negativan uticaj životnih stilova koji pogoduju neaktivnosti i razvoju gojaznosti (Leischik i sar. 2015), te umanjuju uticaj borbe protiv CAD koji je postignut u pojedinim zemljama (Laatikainen i sar.2005).

Kao najteži oblik koronarne bolesti, akutni koronarni sindrom je jedan od najčešćih uzroka hitnog prijema i iznenadne smrti u razvijenim delovima sveta, a poslednjih decenija i u zemljama u razvoju (Bertrand i sar., 2002; Gaziano i sar., 2015). Više od 870,000 muškaraca i žena godišnje umire od posledica koronarne bolesti, čineći je najčešćim uzrokom smrti (Townsend i sar., 2015).

Prema poslednjim podacima Instituta za metrike i evaluacije u zdravstvu (IHME), Univerziteta u Vašingtonu, broj smrtnih ishoda usled koronarne bolesti, kao i prevalenca su u konstantnom porastu na globalnom nivou (slika 1). Stoga, veoma je važno razumeti patogenezu koronarne bolesti, faktore koji na nju utiču, i raditi na ranoj detekciji i lečenju ove bolesti. Rad na poboljšanju dijagnostičke i prognostičke vrednosti testova koji se primenjuju u detekciji koronarne bolesti su u ovom smislu neophodni.



Slika 1. The Global burden of disease studija pokazuje kontinuirani porast smrtnih ishoda usled koronarne bolesti.

The Global Burden of Disease study 2019 (GBD 2019), Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME), University of Washington.

## 1.1 Stres i fiziološki odgovor na stres

Fiziološka reakcija na fizički i psihološki stres, koja uključuje aktivaciju osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlezda (HPA osovina) i simpato-adreno-medularnu osovinu, dobro je opisana, međutim veza sa kardiovaskularnim sistemom se i dalje istražuje (Steptoe i Kivimäki, 2012).

Hormoni stresa regulišu raznolik spektar bioloških procesa u organizmu uključujući i metabolizam, te se pretpostavlja da stoga doprinose progresiji i komplikacijama kardiovaskularnih bolesti (Oakley i Cidlowski, 2013). Već je poznato da su neki od ključnih činioca u patogenezi ateroskleroze medijatori stresa, prevashodno hormoni HPA ose, pored epinefrina i norepinefrina, kao i medijatori u korelaciji sa njima, što je pokazano i na animalnom (Kaplan i sar., 1990) i na humanom modelu (Iso i sar., 2002; Cohen i sar., 2007). U ovom smislu najviše je ispitivan ACTH, parametar akutnog stresa, kao i kortizol, parametar hroničnog stresa, ali je relevantnih podataka vrlo malo (Koelsch i sar.2016).

Akutni stres označava iznenadne pojave koje su odgovor na situaciju koja ugrožava bezbednost ili fizički integritet subjekta, i gotovo uvek je povezan sa rapidnim oslobađanjem kateholamina, ali i značajnim povećanjem natural killer (NK) ćelija u perifernoj cirkulaciji, koji se zajedno sa ostalim oslobođenim citokinima ponašaju kao hemoatraktanti (Whiteside i sar., 2007). Prema Mc Laughlin-u hronični stres se psihološki opisuje kao nesposobnost „snalaženja” sa okolinom, kao i gubitak kontrole u situaciji koja traje duže vreme i teže ga je biohemijski odrediti, iako (McLoughlin i sar., 1993).

Prema tome, stres može biti fizički i psihički, a predstavlja reakciju na različite stresore kao što su prirodne katastrofe, socijalni i ekološki stresori, psihološki traumatski ili somatski traumatski događaji ili imunološki i metabolički poremećaji. U tabeli 1. Navedeni su stresori prema kategorijama.

**Tabela 1. Podela stresa i stresora**

	STRES	STRESORI
	Ambijentalni i ekološki stres	Poplave, zemljotresi, požari, bombardovanje, rat i slično
<b>Psihički stres</b>	Socijalni stres	Mentalno zlostavljanje (u porodici, na radnom mestu ili školi) Kriminalni napadi, neredi, tuče i slično Promena sociokulturnog ambijenta, odbačenost od društva ili kolektiva
	Psihološki stres	Neizvesnost, osećaj nemoćnosti, nepravde, moralne osude, gubitak samopoštovanja ili fizička nemoć i nesamostalnost Pandemije, bolesti i/ili smrt bliske osobe, razvodi i slično Stres na radnom mestu, gubitak posla, materijalna i egzistencijalna ugroženost
<b>Fizički stres</b>	Somatski stress	Trauma, frakture, saobraćajne nesreće, operacije, porodaji i slično, nedostatak sna, hladnoća
	Ekološki stress	izloženost pirogenima, zagađenju vazduha, buka
	Imunološki i metabolički stres	Autoimmune bolesti, Hipoglikemija, glad, somatske bolesti itd.

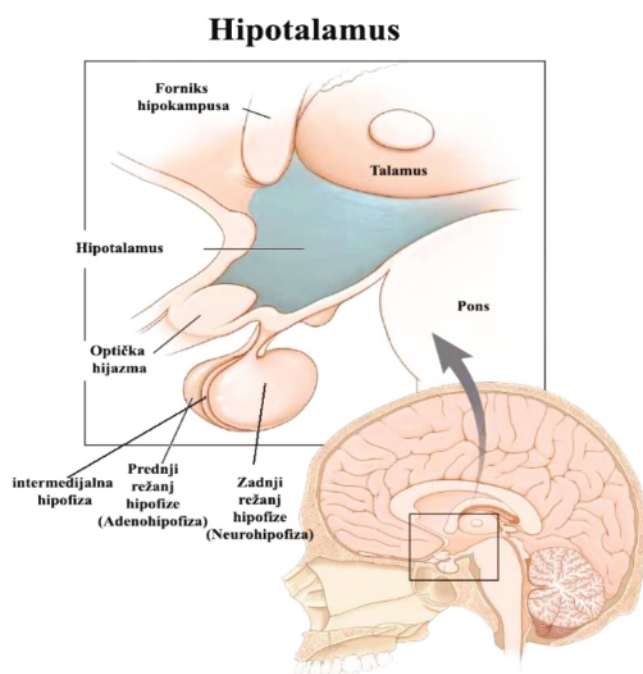
Profesor Marić u publikaciji psihopatološke reakcije na stresne situacije navodi da reakcija organizma na akutni stres počinje odmah i može trajati i nekoliko dana, a osnovni simptomi akutne stresne reakcije su: strah, anksioznost, panika i u suprotnom povlačenje, inhibicija i stupor. Od disocijativnih fenomena zabeleženo je sužavanje svesti i pažnje, kao i dezorijentacija, derealizacija, depersonalizacija i disocijativna amnezija. Vegetativni pokazatelji akutnog odgovora na stres su tahikardije, znojenje, tremor, crvenilo i bledilo (Marić, 1998).

Za prepoznavanje stresornih uticaja i kategorizaciju na preteće i ne preteće, kao i posledičnu reakciju na njih odgovoran je centralni nervni sistem. Osim osovine hipotalamusa i moždanog stabla koji su uključeni u nezavisne neuroendokrine odgovore na stresore, značajnu ulogu imaju i područja mozga uključena u kognitivne funkcije višeg nivoa, kao što su pamćenje, donošenje odluka i emocionalni odgovor (McEwen, 2007).

## 1.2. HPA osovina

Kao odgovor na stresore aktiviraju se prvenstveno autonomni nervni sistem i osovina hipotalamo-hipofiza-nadbubrežna žlezda (HPA). Odgovor koji se obično naziva "bori se ili beži" (fight or flight) tradicionalno je povezan sa biheviornalnim i fiziološkim reakcijama na neposrednu pretnju koja se javlja usled ugrožavajućih situacija, kao što su napadi predatora, neočekivani incidenti ili prirodne nepogode (McEwen, 2007). U laboratorijskim uslovima za izazivanje stresa koriste se razni modeli, od kojih izdvajamo fizički stres po modelu vežbanja.

Hipotalamus je mala, ali izuzetno značajna struktura diencefalona, teška svega 2-5 grama koja povezuje nervni i endokrini sistem, regulišući endokrine, autonomne i bihejvioralne funkcije organizma (Daniel, 1976). Supraoptički region hipotalamusa je smešten iznad optičke hijazme, te je u normalnim uslovima oslobađanje svih hormona hipotalamo-hipofizne osovine regulisano cirkadijalnim ritmom.

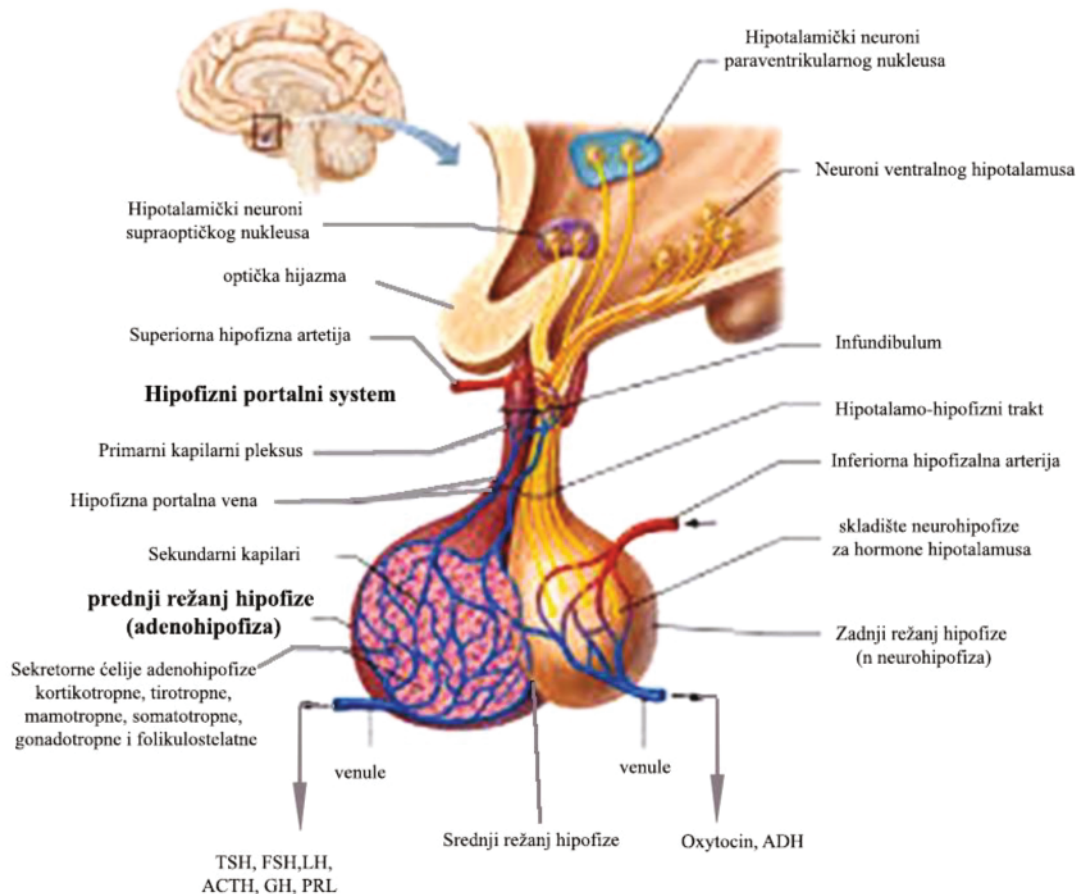


Slika 2. Anatomski položaj hipotalamusa, prilagođeno prema Cleveland Clinic, 2022.



Hipofiza ili pituitarna žlezda je mala žlezda smeštena pri bazi mozga koja je povezana sa hipotalamusom preko pituitarne peteljke. U građi same žlezde razlikuju se prednji režanj ili adenohipofiza (pars distalis ili pars anterior), srednji režanj (pars intermedia), zadnji režanj (neurohipofiza-pars neuralis) i tuberalni deo pituitarne peteljke (pars proximalis ili pars infundibularis).

Adenohipofiza predstavlja žlezdani deo hipofize i sastoji se iz različitih tipova sekretornih ćelija raspoređenih u obliku folikula i obavijenih bazalnim laminama. Sekretorne ćelije hipofize su kortikotropne, mamotropne, somatotropne, gonadotropne, i tireotropne (Daniel, 1976).



**Slika 3. Srednji sagitalni presek humane hipofize i hipotalamusa**

Prilagodeno prema Netter, FH (1989) Atlas of Human Anatomy, 2nd Ed. Novartis Summit New Jersey, Icon Learning Systems, LLC, ilustrovao Frank H. Netter, MD.

Glavne moždane regije koje su aktivirane u uslovima stresa su hipokampus, amigdala i medijalni prefrontalni korteks (Wulsin i sar, 2010). Tačan mehanizam oslobađanja hormona stres sistema je i dalje spekulativan. Na primer, zna se da fizički i emocionalni stres aktiviraju HPA osovinu različitim putevima; fizički preko kičmene moždine do hipotalamusa i hipofize, a emocionalni preko supraspinalnih struktura i limbičkog sistema do hipotalamusa i hipofize (Herman i sar., 2016).

Odgovor organizma na stres prvenstveno uključuje aktivaciju HPA osovine, složenog sistema koji uključuje tri strukture: 1. paraventrikularno jezgro hipotalamusa (PVN) u kome se sintetišu kortikotropin-oslobađajući hormon (CRH) i arginin-vazopresin (AVP); 2. prednji režanj hipofize i 3. periferne komponente koju čine nadbubrežna žlezda, eferentni simpatički neuroni i neke komponente parasimpatičkog sistema. Šematski prikaz osnovnih komponenti HPA osovine predstavljen je na slici 8.



Reakciju na stres pokreću neuroni kortikotropin oslobađajućeg hormona (CRH) u paraventricularnom jedru hipotalamusa. CRH se oslobađa i putem hipofiznih portalnih krvnih sudova dolazi u prednji režanj hipofize gde deluje na kortikotropne ćelije. Po stimulaciji, kortikotropne ćelije prednjeg režnja hipofize dalje oslobađaju adrenokortikotropni hormon (ACTH) u sistemsku cirkulaciju, a on dalje odlazi do kore nadbubrežne žlezde gde podstiče lučenje glukokortikoida.

AVP u smislu lučenja ACTH, deluje sinergistički sa CRH preko svojih  $V_3$  receptora na kortikotropnim ćelijama hipofize, dok putem delovanja na  $V_2$  receptore na distalnim tubulima i sabirnim kanalčićima bubrega ostvaruje efekte regulacije metabolizma soli i vode. AVP takođe putem  $V_2$  receptora u jetri deluje na glikogenolizu, a u mišićima krvnih sudova ostvaruje vazokonstrikciju (*Pompili i sar., 2010*).

Pored stimulacije kortikotropnih ćelija prednjeg režnja hipofize da luči ACTH, CRH i AVP stimulišu i lučenje pro-opimelanokortina (POMC) u kortikalnim ćelijama prednjeg režnja i melanotropnim ćelijama intermedijalnog režnja hipofize, koji ima važnu ulogu u endokrinoj, metaboličkoj, neurološkoj, imunološkoj i kardiovaskularnoj regulaciji putem svog sopstvenog POMC sistema (*Evans i sar. 1994*).

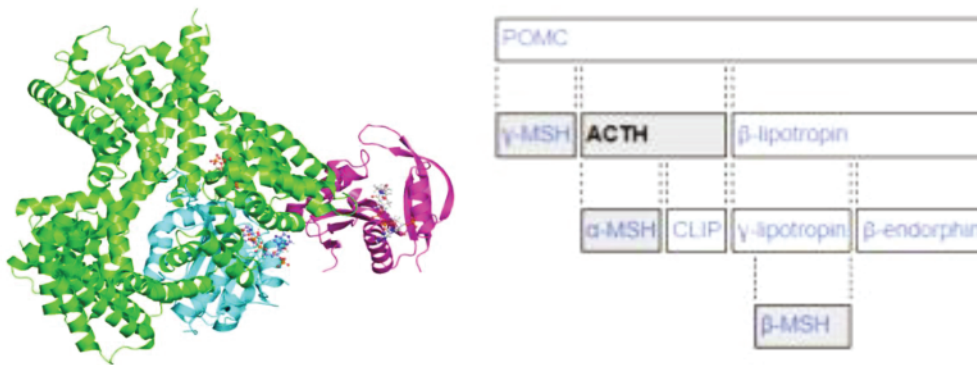
### *1.2.1 Hormoni HPA osovine*

Hipotalamo-hipofizno-nadbubrežna osa (HPA) opisuje složeni skup pozitivnih i negativnih povratnih informacija između hipotalamusa, hipofize i nadbubrežne žlezde. Pozitivni i negativni mehanizmi povratne sprege funkcionišu na neuroendokrini način kako bi modulirali brojne fiziološke procese kao što su imunitet, plodnost i odgovor tela na stres itd. (*DeMorrow S., 2018*).

U najvažnije hormone HPA osovine spadaju kortikotropin-oslobađajući hormon (CRH) i arginin-vazopresin (AVP) koji stimulišu hipofizu na produkciju pro-opimelanokortina (POMC), takođe i adrenokortikotropni hormon (ACTH), koji dalje stimuliše oslobađanje glukokortikoida kortizola i kortikotropina, i delom epinefrina i norepinefrina, kao i dalji produkti ACTH kao što je alfa melanocitstimulišući hormon ( $\alpha$ -MSH) (*Chen i sar., 1993*).

POMC se dominantno stvara u kortikalnim ćelijama adenohipofize i melanotropnim ćelijama intermedijalnog režnja hipofize, kao i iz nuclei arcuatus hipotalamusa, međutim primećena je i ekspresija POMC-sličnih transkriptata i u perifernim tkivima (*Evans i sar., 1994*). Osim ACTH i CRH, sekreciju POMC podstiču i proinflamatorni citokini IL1, IL6, TNF- $\alpha$ , kao i gp130 proinflamatorni citokini. Glukokortikoidi inhibitorno deluju na oslobađanje POMC, kao i CRH mehanizmom negativne povratne sprege.

POMC nastaje iz 267-amino-kiseline dugog polipeptidnog prekursora pre-pro-opiomelanokortina (pre-POMC), uklanjanjem 26-amino-kiseline duge signalne peptidne sekvence tokom translacije. POMC predstavlja prekursorski peptid sa 241 aminokiselinskim ostatkom, čijim daljim cepanjem nastaje više peptidnih produkata: ACTH i posledično  $\alpha$ -MSH, kao i endogeni opioidni derivati  $\beta$ -endorfin i [Met]enkefalin (*Aguilera i sar., 1983*), prikazano na Slici 4. Navedeni fragmenti POMC se oslobađaju u sistemsku cirkulaciju i ostvaruju kako periferne tako i centralne efekte. Takođe, fragmenti POMC mogu igrati važnu ulogu u adaptaciji na hronični stres, a za sada nema kompletnih saznanja na koji način hormoni HPA ose utiču na homeostazu.



Slika 4. Struktura peptidnog lanca Pro-opiomelanokortina i njegovi derivati

### 1.2.2. ACTH

ACTH je peptid dužine lanca od 39 aminokiselina, čijim se daljim odvajanjem prvih 13 aminokiselina polazeći od N-terminalnog kraja formira  $\alpha$ -MSH i CLIP (kortikotropinu sličan peptid intermedijarnog režnja), peptid čija je aktivnost nedovoljno istražena kod ljudi. U normalnim uslovima ACTH se, kao i ostali endokrini medijatori hipotalamo-hipofiznog sistema, oslobađa pod uticajem cirkadijalnog ritma, a koji je pod kontrolom centralnih i perifernih sistema. Centralno, cirkadijalni ritam određuje suprahijazmatski nukleus (SHN) koji je direktno povezan sa paraventrikularnim nukleusom (PVN). Periferno, na cirkadijalni ritam utiču adrenalna žlezda i srce (*Dickmeis, 2009*). Cirkadijalni ritam se takođe prilagođava uslovima života, a najviše zavisi od svetlosti i temperature.

Dodatno na povećano oslobađanje ACTH direktno ili indirektno utiču aktivacija simpatikusa, stres, fizička aktivnost, akutne bolesti, proinflatorni citokini (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6), hipoglikemije, kao i serotoninergički i holinergički sistem. Inhibitorno na lučenje ACTH deluje, u normalnim uslovima, povišena koncentracija kortizola putem negativne povratne sprege, a pokazano je i inhibitorno delovanje od strane  $\beta$ -endorfina i enkefalina. ACTH se, pored epinefrina, norepinefrina i kortizola, smatra najznačajnijim parametrom endokrinog odgovora na stres (*Hampelmann i Adams, 1991*).

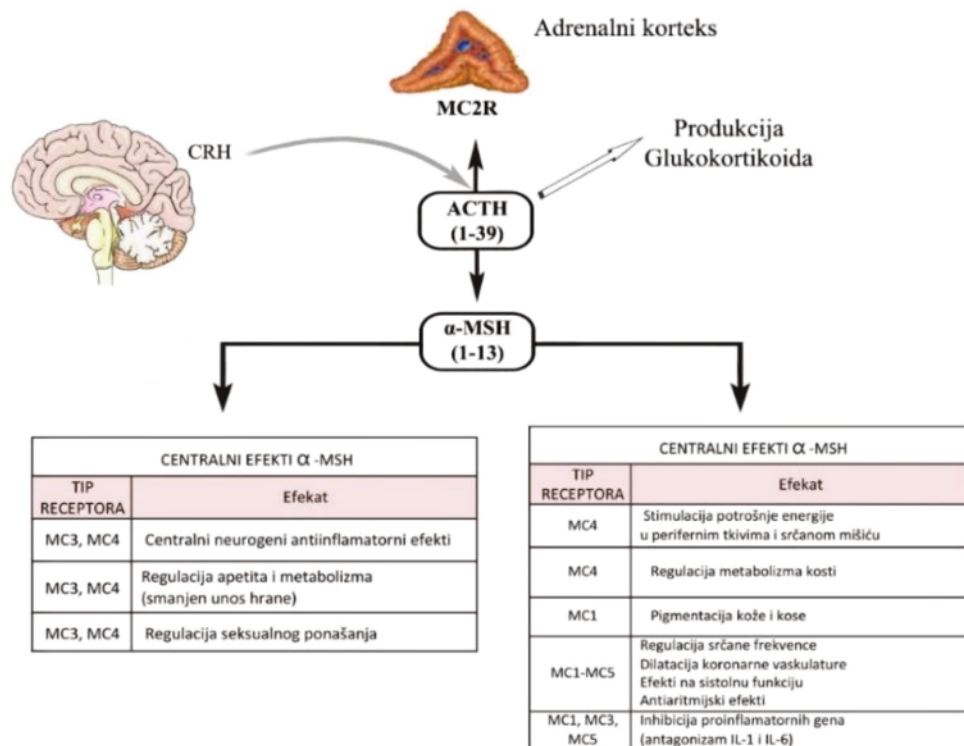
ACTH deluje putem melanokortin-2 receptora (MC<sub>2</sub>R), iako ACTH selektivno agonistički dejstvo ostvaruje i na MC<sub>1</sub>R, MC<sub>3</sub>R, MC<sub>4</sub>R i MC<sub>5</sub>R. (*Yang i sar., 2009*). Receptori za ACTH se nalaze gotovo isključivo u adrenalnoj kori u zoni fascikulati i zoni glomerulozi, a u nešto manjoj meri i u koži i adipoznom tkivu (*Chida i sar., 2007*). Putem MC<sub>2</sub>R receptora ACTH ostvaruje efekte neophodne za adekvatnu funkciju adenalne žlezde i steroidogenezu (*Clark i sar., 2005*). Polimorfizam ACTH receptora prisutan je u značajnoj meri (*Naville i sar., 1997*), i ima veze sa kardiopulmonalnim parametrima iako nije direktno pokazano da utiče na odgovor stres osovine i telesni sastav (*Popovic i sar., 2014*). Prisustvo polimorfizma MC<sub>2</sub>R može uticati na adaptaciju na stres (*Slawik i sar., 2004*).

Sa stanovišta etiopatogeneze, dijagnoze i prognoze koronarne bolesti, interesantno je ispitati kakav je značaj ACTH, kao parametra akutnog stresa, kako u uslovima mira, tako i njegove aktivacije u uslovima stresa.

### 1.2.3. $\alpha$ -MSH

$\alpha$ -MSH je endogeni peptidni hormon koji svoje efekte ostvaruje kao neselektivni agonista melanokortinskih receptora MC<sub>1</sub>, MC<sub>3</sub>, MC<sub>4</sub> i MC<sub>5</sub>, ali ne ispoljava delovanje na MC<sub>2</sub> receptore preko kojih isključivo deluje ACTH. Efekti  $\alpha$ -MSH primarno se vezuju za pigmentaciju kože i kose koji su efekti koje  $\alpha$ -MSH ostvaruje putem MC<sub>1</sub> receptora, međutim  $\alpha$ -MSH ostvaruje širok spektar efekata putem MC<sub>3</sub> i MC<sub>4</sub> receptora, kao što su regulacija apetita, metabolizma i seksualnog

ponašanja. Pokazano je i da putem MC<sub>4</sub> receptora ostvaruje efekte na metabolizam kosti (*Cornish i sar., 2003*).  $\alpha$ -MSH predstavlja važan neuropeptid i u kardiovaskularnom i reproduktivnom sistemu, ali i u imunološkoj reakciji organizma, kao što je prikazano na Slici 5. (*Catania A., 2007*).



Slika 5 . Efekti ACTH i  $\alpha$ -MSH putem melanokortin receptora MC<sub>2</sub>, MC<sub>3</sub> i MC<sub>4</sub>

ACTH: adrenokortikotropni hormon; MCR: melanokortin receptor; MSH: melanocit-stimulišući hormon; POMC: proopiomelanokortin.

#### 1.2.4. Glukokortikoidi

Adrenalne žlezde, takođe nazvane suprarenalne žlezde, su trouglaste žlezde dimenzije prosečno 5cm x 2cm smeštene na gornjem polu bubrega. Iako teže svega 4 do 5 grama, ipak imaju izuzetno važan uticaj na fiziološke i patofiziološke aspekte celog organizma. Decenije istraživanja nadbubrežne žlezde pružile su višestruki uvid u razvoj, strukturu, funkciju i održavanje ovog suštinskog organa (*Megha i sar., 2022*).

Nadbubrežna žlezda se sastoji od dva različita tkiva: spoljašnjeg korteksa i unutrašnje medule, a cela žlezda obmotana je kapsulom od vezivnog tkiva. Kora nadbubrežne žlezde je mnogo veća od medule (koja čini samo oko 15% žlezde) i sastoji se od tri različite zone (*Megha i sar., 2022*):

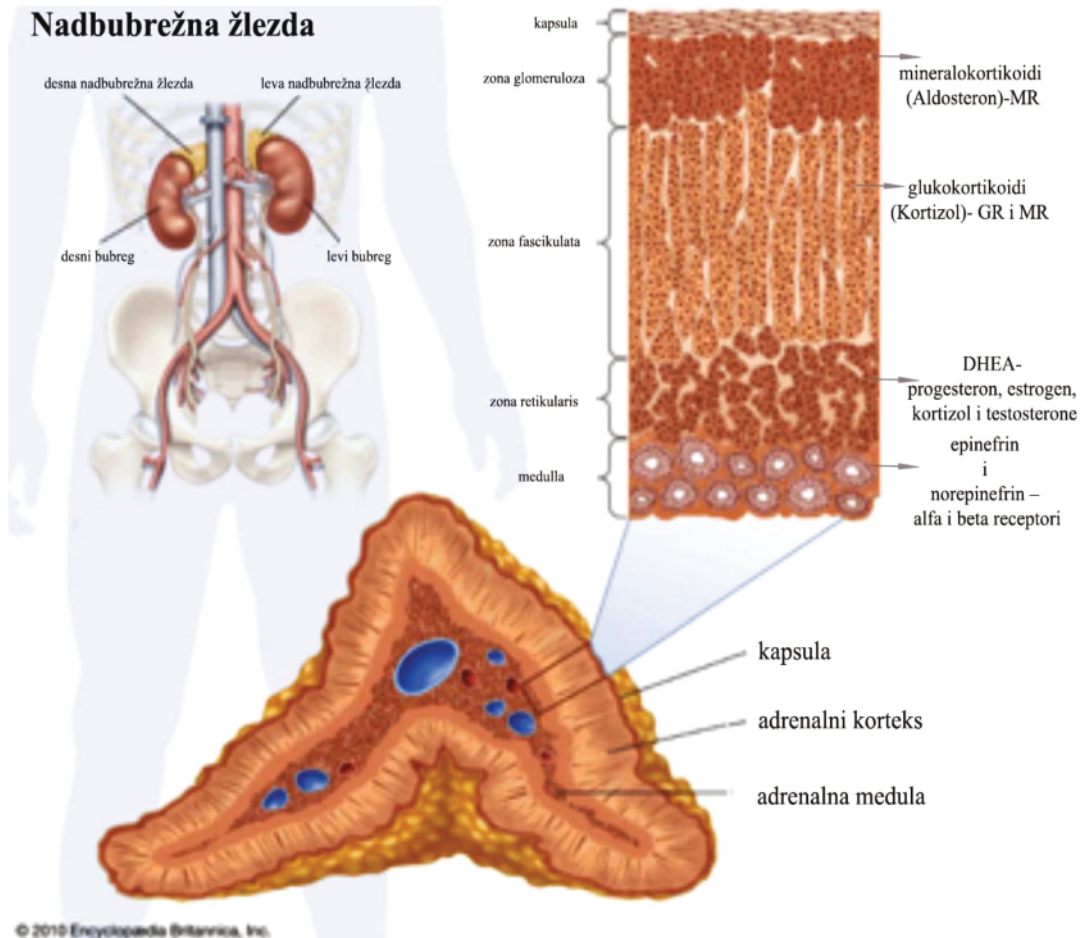
-Zona glomerulosa (spoljašnja zona) je odgovorna za sintezu mineralokortikoida, od kojih je najvažniji aldosteron. Ovaj hormon igra važnu ulogu u ravnoteži elektrolita i regulaciji krvnog pritiska. Receptori putem kojih ostvaruju svoje efekte su Mineralokortikoidni receptori (MR).

-Zona fasciculata (središnja zona) odgovorna je za produkciju glukokortikoida, od kojih je dominantni hormon kortizol, o kome će biti reči u kasnijem tekstu. Receptori putem kojih ostvaruju svoje efekte su Glukokortikoidni receptori (GR).



-Zona reticularis (unutrašnja zona) odgovorna je za produkciju androgena i igra ulogu u razvoju sekundarnih polnih karakteristika. Primarni androgen proizveden u zoni reticularis je dehidroepiandrosteron (DHEA), koji, između ostalog, služi kao prekursor za sintezu mnogih drugih hormona koje proizvodi nadbubrežna žlezda, kao što su progesteron, estrogen, kortizol i testosteron.

Srž adrenalne žlezde, medula, sastoji se od hromafinih ćelija zaduženih za produkciju dopamina, norepinefrina i epinefrina, čije oslobađanje u sistemsku cirkulaciju reguliše autonomni nervni sistem, s tim što se srž adrenalne žlezde smatra intergalnim delom simpatičkog nervnog sistema (*Utiger Robert, 2023*).



**Slika 6. Građa Adrenalne žlezde**  
Adaptirano prema Utiger Robert D. Encyclopædia Britannica.

Nadbubrežna žlezda je visoko vaskularizovano tkivo i u odnosu na svoju veličinu ima izuzetno visok protok krvi - oko 0,14% minutnog volumena srca za približno 0,02% ukupne telesne težine (*Sapirstein i Goldman 1959*). Vaskularizacija adrenalne žlezde polazi od grana bubrežne arterije i donjih freničnih arterija (*Blaschko i sar., 1975*) koje ulaze u kapsulu nadbubrežne žlezde i dele se na arteriole unutar kapsule i centripetalno teku kroz korteks nadbubrežne žlezde u medulu. Protok krvi kroz arterijski pleksus adrenalne žlezde je regulisan neuralno i hormonalno (*Ehrhart-Bornstein i sar., 1998, Edwards i Jones 1993*), a Toth i saradnici su 1997 pokazali da je adrenalni korteks naročito bogato inervisan, te da noradrenergička inervacija ima primarni uticaj na ćelije zone glomeruloze, moguće preko beta 1 adrenergičkih i dopaminergičkih receptora (Toth i sar., 1997). Zapaženo je i da ACTH stimulacija povećava i biosintezu kortikosteroida, kao i nadbubrežni protok krvi, što utiče na sintezu kortizola u pacova (Porter i Klaiber 1965) i pasa (Stark i sar., 1965).

Stoga, ova žlezda je u mogućnosti da isporuči dovoljne količine odgovarajućih hormona u akutnim stresnim uslovima, ali isto tako ima važnu ulogu u adaptaciji organizma na stres.

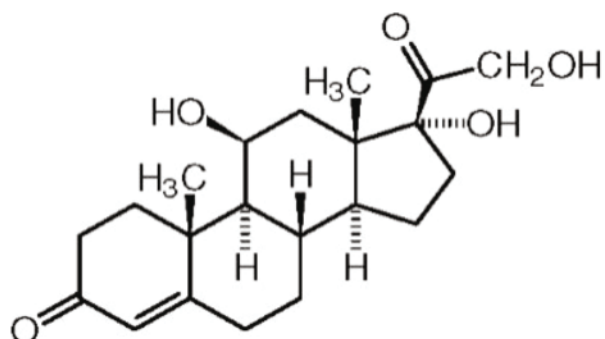
Glukokortikoidi su zaduženi za regulaciju brojnih fizioloških procesa u cilju održavanja homeostaze, ali i za odbranu organizma (Oakley i Cidrowski, 2013), od kojih su najznačajniji kortizol kod ljudi i kortikosteron kod miševa i pacova.

Glukokortikoidi su hormoni steroidne strukture koji se sintetišu u kortikalnim ćelijama nadbubrežne žlezde, iz holesterola. Adrenokortikotropni hormon (ACTH), oslobođen iz prednjeg režnja hipofize, povećava broj LDL receptora i aktivnost holesterol desmolaze, koja pretvara holesterol u pregnenolon i predstavlja ključni korak sinteze kortizola (Angelousi i sar., 2020). Glukokortikoidi se u normalnim uslovima izlučuju putem stimulacije paraventrikularnog jedra hipotalamusa sigalima iz supraventrikularnog jedra prateći cirkadijalni ritam, te njihove koncentracije u krvi variraju predvidivo tokom dana, dok u uslovima stimulacije paraventrikularnog jedra stresorima, koncentracije glukokortikoida dinamično variraju, čak i desetostruko (Spencer i Deak, 2017).

Po izlučivanju, glukokortikoidi putuju sistemskom cirkulacijom u kojoj se mogu naći kao slobodni, vezani za protein plazme i jedan deo metabolisanih hormona. Dva tipa proteina plazme služe kao transporteri za kortizol- jedan je kortizol vezujući globulin ili transkortin koji ima nizak kapacitet ali veliki afinitet, a drugi je albumin koji ima nizak afinitet a visok kapacitet (Jameson i sar., 2004). Slobodna koncentracija je aktivna, i čini oko 5% ukupne količine, i kao takav ostvaruje efekte delujući prvenstveno na glukokortikoidne (GR), ali i na mineralokortikoidne receptore (MR) u različitim tkivima i organima (Rivier i Vale, 1985; Ulrich-Lai i Herman, 2009). Ova dva tipa receptora imaju različitu osetljivost na glukokortikoide, stoga proizvode i različit odgovor na stres, kao što su regulacija metabolizma, imuniteta, kognicije i emocija (de Kloet i sar., 2005; Reul i de Kloet, 1985).

U normalnim uslovima, HPA osovina je konačno regulisana negativnim povratnim mehanizmom, s obzirom na to da sami glukokortikoidi deluju na različite moždane regije da inhibiraju aktivnost PVN-a i adenohipofize hipofize i time zaustave prekomernu stimulaciju kore nadbubrega (Ratman i sar., 2013). Ovaj mehanizam vraća normalnu ravnotežu hormona i funkcija nakon stresnog događaja. Ovi odgovori su adaptivni i pomažu organizmu da se prilagodi budućim izazovima (McEwen i Gianaros, 2010). Poremećaji u normalnim profilima aktivnosti HPA ose povezani su sa širokim spektrom fizioloških i mentalnih poremećaja zdravlja, kao što su imunski deficit, poremećaj pamćenja, gojaznost i kardiometabolički poremećaji (Spencer i Deak, 2017; Munck i sar., 1984; Sapolsky i sar., 2000; Smith i Vale, 2006).

### 1.2.5. Kortizol



Slika 7. Hemijska struktura kortizola  
IUPAC 11β,17α,21-Trihydroxypregn-4-ene-3,20-dione

Kortizol prevashodno deluje preko glukokortikoidnog receptora (GR), mada delimično ostvaruje svoja metabolička dejstva i preko mineralokortikoidnog receptora (MR) (*Schaaf i Cidlowski, 2003*).

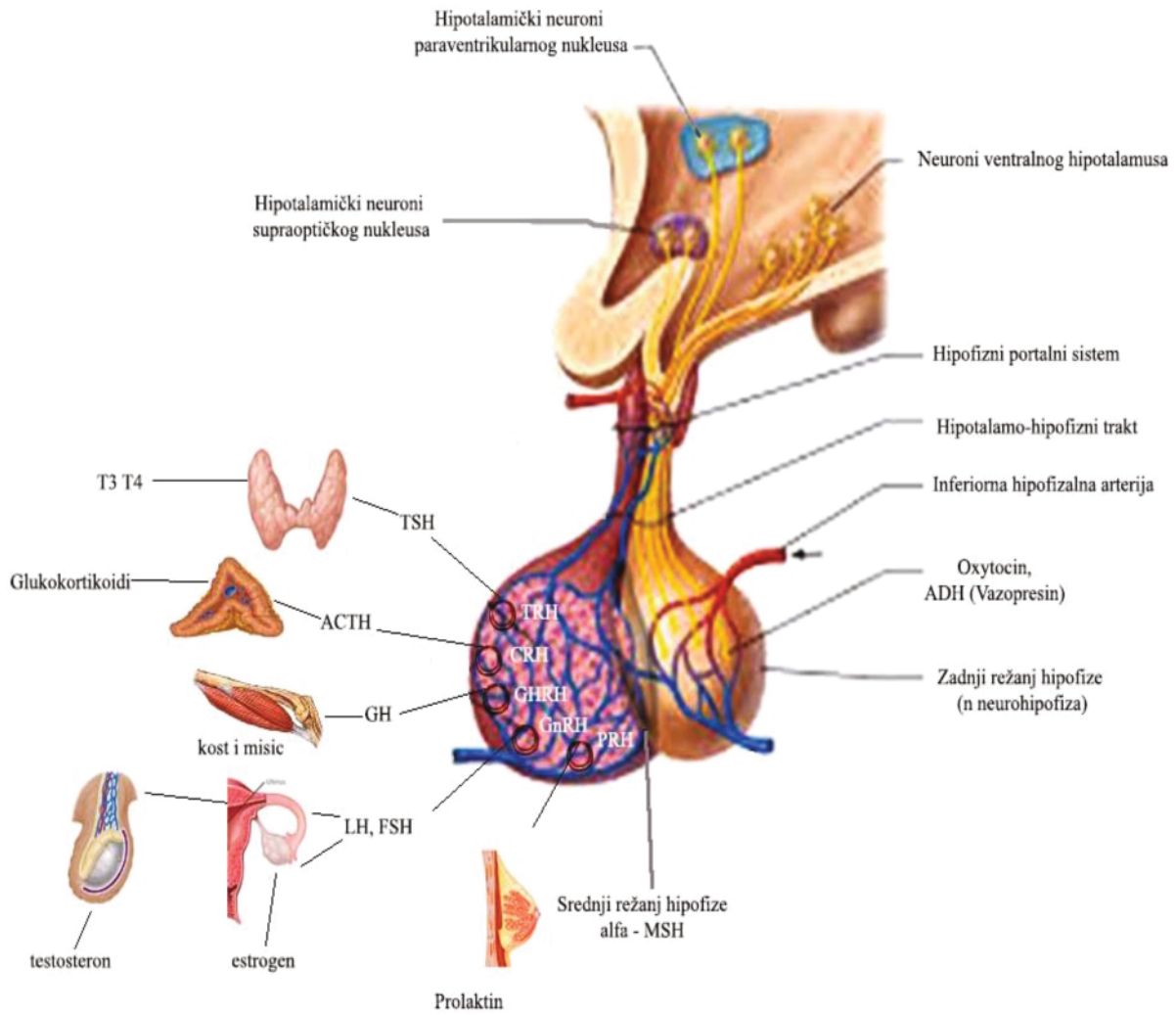
Receptori su po tipu intracelularni, locirani u citoplazmi a efekte ostvaruju u nukleusu, tako da kortizol kao steroidni hormon, prolazi ćelijsku membranu i u citoplazmi se vezuje za svoj receptor, potom se stvara dimer kompleksa kortizol-receptor i kao takav putuje do jedra, prolazi jedrovu membranu i intranuklearno ostvaruje svoje efekte putem modulacije genske ekspresije. U odsustvu kortizola, glukokortikoidni receptor se vezuje za Hsp90 protein u citosolu. Vezivanje kortizola za glukokortikoidni receptor disocira Hsp90 (*Thau i sar., 2023*).

Glukokortikoidni receptor ima četiri najpoznatija GR-gen- (NR3C1) polimorfizma (ER22/23EK, N363S, Bcl I, 9β) koji utiču na način aktivacije HPA ose, a takođe su i supstrat glikokortikoidne senzitivnosti (*Van den Akker i sar., 2006*). Genetska varijabilnost ovog gena može biti zaslužna za individualno reagovanje na stres i poremećaje u vezi sa tim. S obzirom na veliku ulogu inflamatornih procesa, kao i metabolizma glukoze i lipida, u etiopatogenezi koronarne bolesti, te značaj kortizola u njihovoj regulaciji, sasvim je logična veza između nivoa ovog hormona u miru i njegove sekrecije u uslovima stresa, sa dijagnozom i prognozom koronarne bolesti. Međutim, podataka koji potkrepljuju ovo stanovište ima veoma malo.

Iako su glukokortikoidni receptori prisutni u skoro svim tkivima, te kortizol ostvaruje svoje efekte na skoro svaki sistem organa: nervni, imuni, kardiovaskularni, respiratorni, reproduktivni, muskuloskeletni, kožni (Kadmiel i Cidlowski), kortizol prvenstveno ispoljava imunosupresivno i antiinflamatorno dejstvo i to indukcijom apoptoze proinflamatornih T ćelija, supresijom proizvodnju antitela B ćelija i smanjenjem migracije neutrofila tokom inflamacije (*Goldfarb i sar., 2006*).

Vazokonstriktorno dejstvo, izazivanje leukocitoze, deplecije eozinofila i limfoidnog tkiva, smanjenje celularnog imuniteta, inhibicija produkcije limfokina, prostaglandina i leukotriena, inhibicija oslobađanja interferona iz T limfocita, produkcija IL-1 i IL-6, faktora rasta T-ćelija IL-2, faktora inhibicije migracije makrofaga (MIF), inhibicija bradikinina, faktora aktivacije trombocita i serotonina (*Jameson i sar., 2004*) samo su neki od mehanizama delovanja ovog hormona. Kortizol takođe utiče i na regulaciju telesnih tečnosti, ponašanje (*Jameson i sar., 2004*), regulaciju ćelijske proliferacije (*Dickmeis, 2009*), mobilise aminokiseline iz proteina, kao i masti, do jetre gde će poslužiti za sintezu glukoze (*Goldfarb i sar., 2006*). Vršu inhibiciju perifernog preuzimanja glukoze, stimulaciju glikoneogeneze i povećava sadržaj glikogena u jetri (*Goldfarb i sar., 2006*). Produžena hiperkortizolemija takođe povećava insulinsku rezistenciju i inhibitorno utiče na nivo leptina (*DeRijk i sar., 2002*).





### Slika 8. Hipotalamo-hipofiza-adrenalna osovina (HPA) osovina

Hormoni hipotalamusa:

TRH- tireotropin oslobađajući hormon; CRH- kortikotropin oslobađajući hormon; GHRH- oslobađajući hormon za hormon rasta; GnRH- gonadotropin oslobađajući hormon; PRH- prolaktin oslobađajući hormon; oksitocin; vazopresin

Hormoni hipofize:

LH – luteinizirajući hormon; FSH- folikulostimulirajući hormon; GH- hormon rasta; TSH-tireostimulišući hormon; ACTH-adrenokortikotropni hormon; alfa-MSH

Hormoni žlezda:

T3 trijodtironin; T4 – tiroksin; estrogen, testosteron, prolaktin, glukokortikoidi

### 1.2.6. Uticaj kortizola na kardiovaskularne bolesti

Sve više pažnje pridaje se otkriću važne uloge glukokortikoida u kasnom gestacijskom sazrevanju. Studije pokazuju da promena mikrosredine izazvana glukokortikoidima u fetalnom razvoju kardiovaskularnog sistema ima snažan uticaj na formiranje endotelnih ćelija, fibroblasta i imunih ćelija, te se više pažnje pridaje razumevanju molekularnih mehanizama putem kojih glukokortikoidi izazivaju sazrevanje kardiovaskularnog sistema u fetusa. Pokazano je da stres ili hipoksija majke indukuje oslobađanje visokih koncentracija glukokortikoida u krv majke, koji potom prolaze placentu i ulaze u fetalnu cirkulaciju i aktiviraju glukokortikoidne receptore. Glukokortikoid-receptor kompleks potom ima sposobnost da aktivira ćelijske signalne puteve i izmeni gensku ekspresiju i posledično utiče na strukturnu i funkcionalnu maturaciju kardiomiocita (*Song i sar., 2019*). Pretpostavlja se da delovanje glukokortikoida doprinosi metaboličkom prebacivanju sa oksidacije ugljenih hidrata na oksidaciju masnih kiselina u perinatalnim kardiomiocitima. U primarnim mišjim fetalnim kardiomiocitima, tretman deksametazonom je indukovao ekspresiju gena uključenih u oksidaciju masnih kiselina i povećanu mitohondrijalnu oksidaciju palmitata, zavisnu od glukokortikoidnog receptora (*Ivy i sar., 2021; Rog-Zielinska i sar., 2013*)

Postoje brojne interakcije kortizola sa drugim hormonskim sistemima. Poznato je da kortizol inhibira ostale Hipotalamo-hipofizne osovine; tireoidnu osovinu te smanjuje produkciju TSH i inhibira konverziju T4 u metabolički aktivni T3, što ima direktnu vezu sa brojem i osetljivošću beta receptora, zatim gonadnu osovinu na više nivoa, inhibira osovinu GH-IGF1, te posledično hormon rasta. S obzirom na to da su glavni efekti glukokortikoida, između ostalog, vezani za metabolizam glukoze, pokazana je interakcija između insulina i kortizola, gde hiperinsulinemija povećava aktivnost HPA osovine (Syed i Weaver, 2005). Takođe, kortizol utiče na metaboličku aktivnost visceralnog masnog tkiva, pa i na hormone leptin i grelin a koji pokazuju direktan efekat na srčani mišić (Raastad i sar., 2001).

Pažnja je usmerena na ulogu mineralokortikoidnog receptora (MR) u posredovanju profibroznih i prohipertrofičnih efekata kortikosteroida na srce. Nasuprot tome, uloga glukokortikoidnog receptora (GR) u srcu i vaskulaturi je manje shvaćena. Richardson i saradnici sugerišu da je ravnoteža u efektima putem glukokortikoidnih i mineralokortikoidnih receptora kritična u signalizaciji kortikosteroida u specifičnim tipovima srčanih ćelija (*Richardson i sar., 2017*).

### 1.3 Nt-pro-BNP

Natriuretski peptidi (NP) su peptidni hormoni koji se prevashodno sintetišu u srcu i mozgu, ali i u drugim organima. Poznato je da su natriuretski peptidi od izuzetnog značaja za održavanje zapremine ekstracelularne tečnosti u okviru uskog raspona uprkos velikim varijacijama u unosu natrijuma ishranom. Postoji složena interakcija između antinatriuretskog sistema, renin-angiotenzin-aldosteron sistema kao i antinatriuretskog bubrežnog simpatičkog sistema, koji pomažu u očuvanju natrijuma kada je unos natrijuma nizak, i natriuretskih hormona, koji pojačavaju izlučivanje natrijuma kad god dođe do viška natrijuma (*David, 2008*).

Atrijalni natriuretski peptid (ANP) je peptidni lanac od 28 aminokiselina koji se sintetiše, čuva i oslobađa u atrijalnim miocitima kao odgovor na atrijalnu distenziju, stimulaciju angiotenzina II, endotelina i simpatičku stimulaciju (posredovano beta-adrenoceptorima) (*Klabunde, 2021*). ANP se prvo sintetiše i skladišti u srčanim miocitima kao prepro-ANP, koji se zatim cepa na pro-ANP i konačno na ANP koji je biološki aktivan oblik peptida (*Jacob i Allan, 2007*).

ProBNP (pro B-natriuretski peptid) predstavlja hormon koji je prvi put izolovan iz moždanog tkiva svinja te je stoga i dobio naziv brain derived natriuretic peptide, i zaista, ovaj peptid ima veoma važnu ulogu u diferencijaciji (*Binder i Scharfman 2004*), sazrevanju (*Acheson i sar., 1995*), i preživljavanju neurona (*Huang i Reichardt LF. 2001*), a takođe pokazuje i neuroprotektivni efekat u



različitim uslovima kao što su glutamatergička stimulacija, cerebralna ishemija, hipoglikemija i neurotoksičnost (*Maisonpierre i sar 1991*). BDNF stimuliše i kontroliše rast novih neurona iz matičnih ćelija (neurogeneza) (*Zigova i sar. 1998*). Takođe, pokazano je da je BDNF važan regulator lipidnog metabolizma preko doznog zavisnog povećanja serotonina, kao i to da BDNF u plazmi značajno korelira sa višestrukim faktorima rizika za metabolički sindrom i kardiovaskularnu disfunkciju, stim u vezi, nedovoljno je podataka koji odgovaraju na pitanje da li BDNF doprinosi patogenezi ovih poremećaja ili funkcioniše u adaptivnim odgovorima na ćelijski stres u perifernim tkivima, kao što se dešava u nervnom tkivu (*Golden i sar., 2010*). Dalja istraživanja gojaznosti, kao faktora predispozicije za dijabetes melitus tip-2, hipertenzije, koronarne bolesti srca i određenih oblika raka, pokazala su da primena BDNF jednom ili dva puta nedeljno (70 mg/kg/nedeljno) u miševa tokom 3 nedelje značajno smanjuje koncentraciju glukoze u krvi i hemoglobina A1c (HbA1c) u poređenju sa kontrolnom grupom, dalje rezultati sugerišu da BDNF ne samo da je smanjio koncentraciju glukoze u krvi, već je i obnovio sistemski balans glukoze, što ukazuje da bi BDNF mogao biti novi hipoglikemijski agens (*Das i sar., 2010*).

Istraživanjima je ustanovljeno da se BDNF sekretuje u kardiomiocitima kao odgovor na istezanje komora nastalog pod uticajem mehaničkog stresa, sistemske ishemije i hipoksije kao i cirkulatorne nedovoljnosti kao posledice komorskog opterećenja pritiskom ili volumenom (*Klabunde, 2021*). U laboratorijskim uslovima, fizičko vežbanje povećava koncentracije BDNF, putem povećanja komorskog opterećenja pritiskom i povećanja srčane frekvence.

Po pristizanju u cirkulaciju, ovaj peptid se cepa na dve manje biološki aktivne forme: C-terminalni BNP (B-tip natriuretskog peptida) koji sadrži 32 aminokiseline i NT-proBNP (N-terminalni proBNP) koji sadrži 76 aminokiselina (*Jacob i Allan, 2007*). Posle vezivanja za jedan od tri tipa membranskih natriuretskih receptora A, B i C (NR A-C), BNP se suprotstavlja efektima renin-angiotenzin-aldosteron-sistema (RAAS), smanjuje simpatički uticaj i deluje diuretski, natriuretski i vazodilatatorno (*Hall, 2004*). Regulacija aktivnosti ovog peptida postiže se putem dva nezavisna mehanizma (*Potter i sar., 2009; Gaggin i Januzzi, 2018*). Prvi mehanizam je posredovan efektima istezanja na mehanoreceptore koji preko aktivacije mitogen-aktivirane protein kinaze (MAPK) signalnog puta i interakcije sa NF-kB omogućavaju promotorsku aktivnost i formiranje pre-proBNP.

Drugi mehanizam je posredovan uticajem mehaničkog stresa na formiranje angiotenzin-II (Ang-II)/endotelin-1 (ET-1) kompleksa koji preko ekstracelularnim signalom regulisanog (ERK) signalnog puta povećavaju ekspresiju gena za BNP. Pored toga, preko vezivanja za svoj receptor (AT<sub>1</sub>R) i indukcijom gena za ET-1, Ang-II dovodi do povećane produkcije BNP. Iako se oba fragmenta mogu rutinski koristiti radi dijagnostike, procene ishoda i praćenje efekta terapije, deo opsežne PARADIGM-HF studije koje je uključivala pacijente sa srčanom insuficijencijom i redukovanom ejekcionom frakcijom, pokazale su zavisnost uzrasta, bubrežne funkcije (stepen glomerulske filtracije) i antropometrijskih mera (indeks telesne mase) na NTproBNP/BNP odnos. Naime, pokazano je da uzrast, pol, nivo kreatinina i udružena oboljenja (poremećaji srčanog ritma, kardiomiopatije) povećavaju NTproBNP/BNP odnos, dok su gojaznost i raniji infarkt miokarda povezani sa snižavanjem ovog odnosa. Kada govorimo o prognostičkoj vrednosti ovog hormona, ona je dokazana kod pacijenata u dekompenzovanoj fazi srčane insuficijencije, bez obzira na stepen slabosti leve srčane komore i vrednosti ejekcione frakcije (*Myhre i sar., 2019*).

**Tabela 2 : Renalni i kardiovaskularni efekti natriuretskih peptida**

<b>Renalni efekti natriuretskih peptida</b>	<b>Kardiovaskularni efekti natriuretskih peptida</b>
Natriureza	Sistemska vazodilatacija
Diureza	Smanjen venski prliv
Povećana glomerularna filtracija i filtraciona frakcija	Snižena arterijska tenzija
Inhibicija oslobađanja renina	Snižen pulmonalni kapilarni pritisak
Sniženje koncentracije cirkulišućeg angiotenzina II	Smanjena proliferacija mišića krvnih sudova i miokarda, posledično smanjena hipertrofija srca i krvnih sudova
Sniženje koncentracije cirkulišućeg aldosterina	

Prema preporukama američkih udruženja American College of Cardiology Foundation/American Heart Association (ACCF/AHA), BNP i NTproBNP se smatraju najvrednijim i najpouzdanijim biomarkerima težine, prognoze i adekvatnog lečenja srčane insuficijencije. Zajedno sa srčanim troponinima (cTnT), mioglobinom i kreatin-kinazom MB (KK-MB), NT-proBNP se smatra pouzdanim markerom i akutnog oštećenja srca a dovodi se u korelaciju i sa aritmijama i kardiomiopatijama.

NTproBNP je značajno viši i u populaciji pacijenata sa dijastolnom disfunkcijom, s obzirom da ona dovodi do povećanja end-dijastolnog pritiska leve komore, potom leve pretkomore i posledično povećanog rizika za razvoj atrijalne fibrilacije (*Međedović i sar., 2009*).

Značajno je spomenuti da ovaj hormon ima prediktivnu ulogu i kod zdravih pojedinaca, pogotovo onih koji su izloženi pojačanom fizičkom opterećenju. Naime, u nedavnoj studiji sprovedenoj na uzorku zdravih rekreativnih sportista, nakon rezultata ispitivanja uticaja dugotrajne fizičke aktivnosti niskog intenziteta na bazalni metabolizam i nivo cirkulišućih stres hormona, registrovan je statistički značajan porast koncentracija markera miokardne afekcije (CRP, CK, CK-MB, kortizol i NTproBNP). Ovaj porast pojedini naučnici smatraju delom fiziološke adaptacije miokarda na alteriranu hemodinamiku izazvanu fizičkim opterećenjem i ističu veći uticaj trajanja fizičke aktivnosti od samog intenziteta na serumske koncentracije NTproBNP, a sam fenomen je vezan za manje prethodno opterećenje desne pretkomore nakon intenzivne fizičke aktivnosti, usled skraćivanja R-R intervala i povećanja srčane frekvencije (*Costache i sar. 2022., Banfi i sar., 2008*).

#### 1.4. Bolest Koronarnih Arterija

S obzirom da je bolest koronarnih arterija sve više prisutna, moguće je bilo vršiti dodatna istraživanja same patogeneze nastanka ove bolesti sa ciljem boljeg razumevanja, prevencije, ranije dijagnostike i adekvatnije farmakoterapije. Došlo se do saznanja da centralni događaj u patogenezi ateroskleroze predstavlja zapaljenski proces a ne, kako se ranije smatralo, skladištenje holesterola, i potvrđuje se da je zapaljenski proces prisutan u svim fazama aterogeneze (*Libby i Theroux, 2005*).

Iako su lipoproteini niske gustine (LDL) prepoznati kao vodeći faktor rizika ateroskleroze, doprinos mehanizama imunog i inflamatornog odgovora su u poslednjih dvadeset godina sve više istraživani i potvrđeni kao centralni događaj etiopatogeneze ateroskleroze krvnih sudova srednjeg i malog dijametra (*Ross, 1999, Hanson, 2018*).

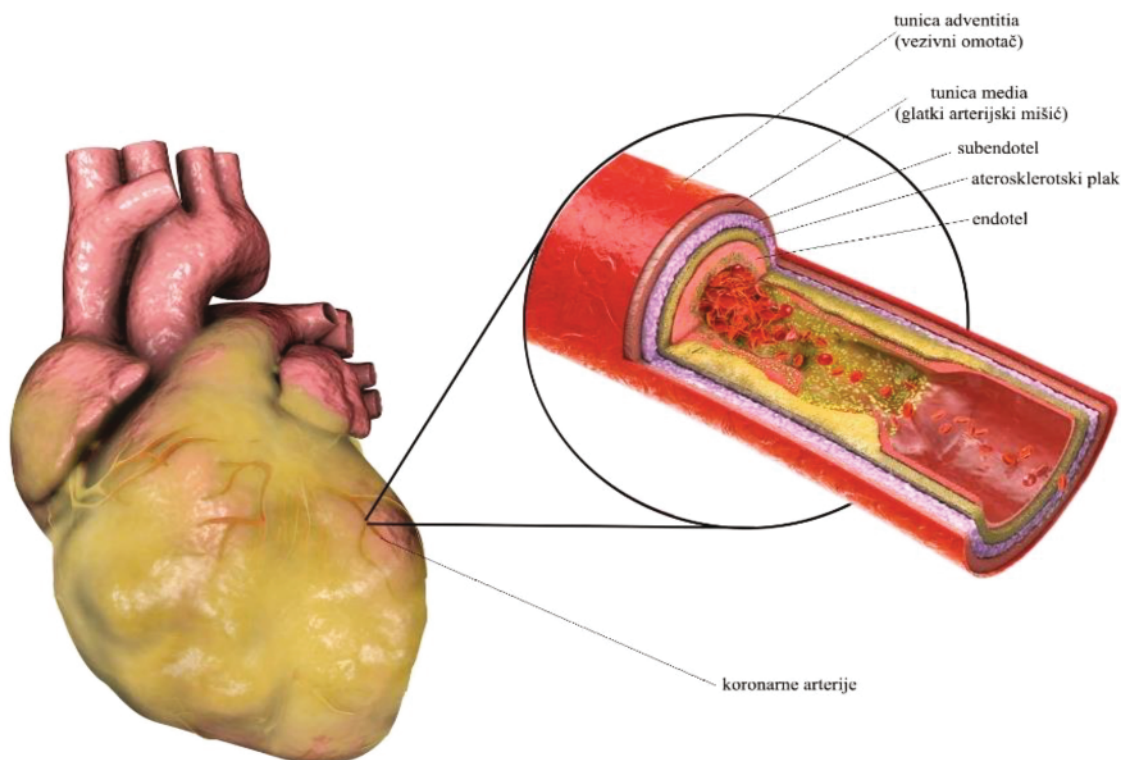
Uz sve navedeno, poznato je da su neki od ključnih činioca u patogenezi arteroskleroze medijatori stresa, prevashodno hormoni HPA ose, pored epinefrina i norepinefrina, kao i medijatori u korelaciji sa njima, što je pokazano i na animalnom (*Kaplan i sar.,1982*) i na humanom modelu (*Iso i sar., 2002*). U ovom smislu najviše je ispitivan ACTH, parametar akutnog stresa, kao i kortizol, parametar hroničnog stresa, ali je relevantnih podataka vrlo malo. (*Lee i sar., 2015*)

Aterosklerozu je prvi put definisao doktor Jean Frederic Lobstein - francuski naučnik nemačkog porekla 1833. godine, kao stanje u kojem dolazi do zadebljavanja zidova krvnih sudova i posledično gubitka elasticiteta (*Lobstein,1833*). Definicija je danas proširena i pojašnjava da ateroskleroza predstavlja difuzno oboljenje arterijskih krvnih sudova koje zahvata sva vaskularna korita i karakteriše se zadebljanjem i otvrdnućem arterijskog zida usled akumulacije ekstracelularnih i intracelularnih lipida, monocitno/makrofagne infiltracije, formiranja penastih ćelija, proliferacije glatkih mišićnih ćelija i akumulacije vezivno-tkivnih proteina u tunici intimi arterijskih krvnih sudova (*Insull, 2009*). Na slici 9. Prikazana je struktura koronarne arterije sa aterosklerotskim plakom.

Bolesti arterijskih krvnih sudova se klinički manifestuju kao:

- 1) koronarna bolest srca (angina pectoris, infarkt, nagla srčana smrt);
- 2) cerebrovaskularna bolest (prolazni ishemični ataci- TIA, šlog);
- 3) periferna vaskularna bolest (intermitentne klaudikacije, gangrena) (*Libby, 2002*)



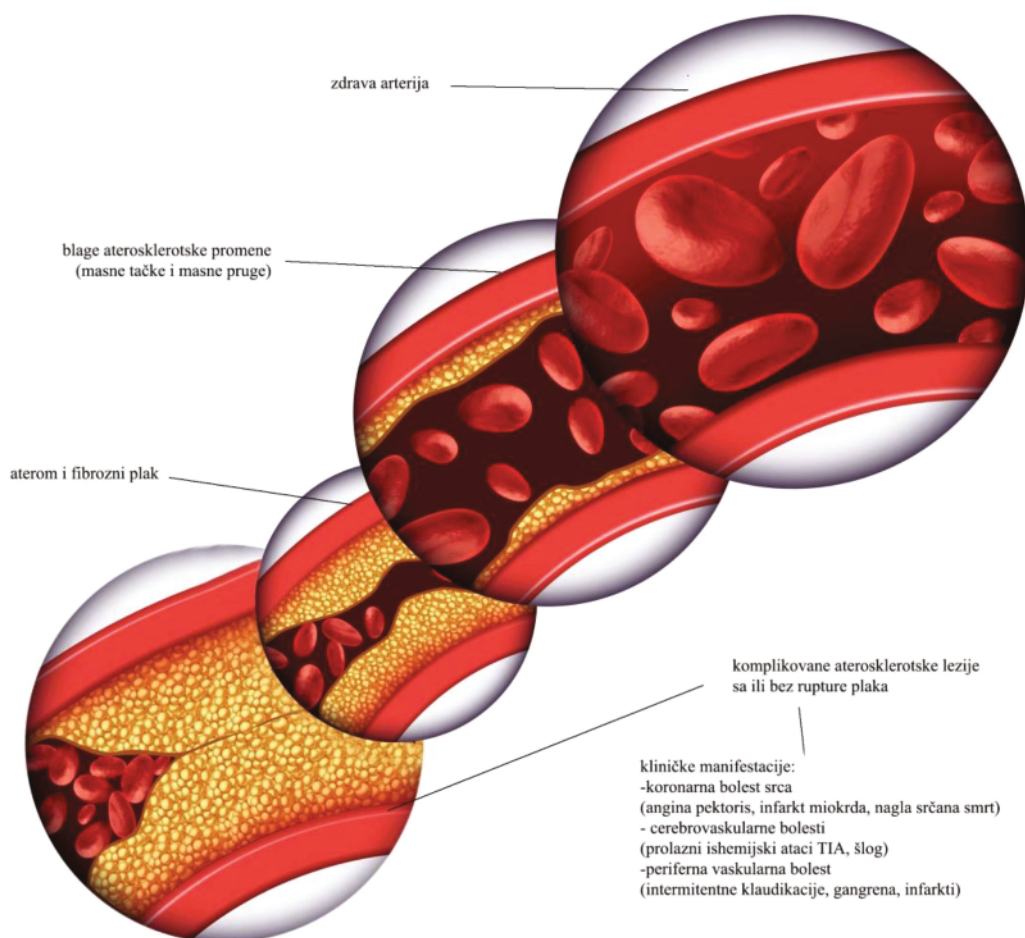


**Slika 9. Struktura koronarnih arterija i prikaz formiranja aterosklerotskog plaka**  
 Plaćena prava korištenja sa Profimedia.rs

S obzirom na to da su koronarne arterije malog promera, slikovito prikazano debljine špagete, nakupljanje plaka u unutrašnjosti arterije značajno smanjuje njenu sposobnost da ishrani miokard, što ne mora uvek da dovede do ispoljavanja primetnih simptoma, stoga se sa kliničkog aspekta bolest može podeliti na simptomatske i asimptomatske.

Simptomi koronarne arterijske bolesti počinju sa simptomima opšte slabosti, malaksalosti, umora i progrediraju do pojave nelagode i bola u grudima, hladnog prenožavanja i kratkoće daha. Simptomi se prvo javljaju prilikom napora, dok kod uznapredovale bolesti koronarnih arterija počinju da se javljaju i u miru. Kod aterosklerotskog plaka koji je nestabilan i sklon rupturi, prilikom suženja lumena na ispod 30%, kardiovaskularne bolesti se manifestuju kroz infarkte miokarda, cerebrovaskularne infarkte i nagle srčane smrti. Na slici 10 predstavljen je prikaz progresivnog smanjenja lumena koronarnih arterija usled progresivnog formiranja aterosklerotskog plaka.

Uzimajući u obzir sve gorenavedeno, od izuzetne je važnosti da se postojanje kardiovaskularne bolesti dijagnostikuje na vreme i da dijagnostičke metode imaju povećanu rezoluciju i tačnost.



**Slika 10. Prikaz progresivnog smanjenja lumena koronarnih arterija**  
Adaptirano uz plaćena prava korištenja sa Profimedia.rs

### 1.5. Uloga stresa u patogenezi koronarne arterijske bolesti

Stres je prepoznati faktor rizika za koronarnu bolest srca (CAD) (Piepoli i sar., 2016). Psihosocijalni stresori povećavaju rizik od CAD i povezanih nepovoljnih događaja (Bagheri i sar., 2016; Edmondson i sar., 2013; Kivimaki i sar., 2015; Mostofsky i sar., 2014; Piepoli i sar., 2016; Rutledge i sar., 2016). Drugi tipovi stresa, kao što su fizički, metabolički i imunološki, u kombinaciji sa genetskim faktorima, vrstom ličnosti, obukom i statusom ishrane takođe doprinose napredovanju ateroskleroze (Grande i sar., 2012; Lundberg i sar., 2016; Pänkäläinen i sar., 2015; Piepoli i sar., 2016; Zuccarella-Hackl i sar., 2016). Uprkos značajnom znanju o važnosti stresa u patogenezi KBS-a, klinička primena je zaostajala zbog nedostatka tačne kvantifikacije kao i nemogućnosti definisanja standardnih pristupa lečenju (Piepoli i sar., 2016; Schnohr i sar., 2015). Stoga je dodatno istraživanje u ovoj oblasti visoko opravdano.

### 1.5.1 Uloga hormona HPA-osovine u patogenezi koronarne arterijske bolesti

Dokumentovano je da hormoni imaju ključnu ulogu u prilagođavanju stresa, omogućavajući srčanom mišiću da se prilagodi povećanim metaboličkim zahtevima koji su inherentni ovoj bolesti (*Lightman, 2008*).

Adrenokortikotropni hormon (ACTH) i kortizol, pored epinefrina i norepinefrina, su primarni hormoni stresa (*Herman i sar., 2016; Lightman, 2008*). Poznato je da ACTH i kortizol imaju složenu ulogu u regulaciji metabolizma ugljenih hidrata, lipida i proteina, homeostaze energije i regulacije telesnih tečnosti i telesne kompozicije, što je sve povezano sa funkcijom srca (*Pivonello i sar., 2016; van Ockenburg i sar. 2016*). Neki od prepoznatih efekata ovih hormona u stanju hroničnog stresa su smanjena osetljivost na insulin, centralna gojaznost, hipertenzija, inflamacija i regulacija imunološkog sistema, aktivacija trombocita, disfunkcija endotela i disregulacija autonomnog sistema, što sve doprinosi patogenezi KBS-a.

### 1.5.2 Uloga $\alpha$ -melanocit stimulišućeg hormona u patogenezi koronarne arterijske bolesti

Već smo pomenuli da  $\alpha$ -MSH deluje putem melanokortin receptora MC<sub>1</sub>, MC<sub>3</sub>, MC<sub>4</sub> i MC<sub>5</sub> koji su različito raspoređeni u centralnom i perifernom sistemu.

Od centralnih efekata  $\alpha$ -MSH je poznat kao primarni regulator energetske homeostaze i termogeneze i spada u anoreksigene neuropeptide zahvaljujući efektu inhibicije unos hrane putem MC<sub>3</sub> i MC<sub>4</sub> receptora u centralnom nervnom sistemu, kao i stimulacije potrošnje energije putem MC<sub>4</sub> receptora u perifernim tkivima i srčanom mišiću uz moguće delovanje i na MC<sub>5</sub> receptore koji se nalaze na mišićima (*Sainsbury i sar., 2002; Anderson i sar., 2016*). Sa druge strane, putem perifernih MC<sub>1</sub> receptora,  $\alpha$ -MSH reguliše pigmentaciju kose i kože (*Dutia i sar., 2012; Thody i Graham, 1998*). Daljim istraživanjem signalnih puteva melanokortina kao i lokalizaciju podtipova melanokortinskih receptora, sve više studija pokazuje širok spektar kardiovaskularnih efekata alfa-MSH-a, kao što su efekti na srčanu frekvenciju (HR), dilatativni efekat koronarne vaskulature, antiartimijjski efekti i efekti na sistolnu kardijalnu funkciju (*Vecsernyes i sar., 2017; Catania i sar., 2010; Vecsernyes i sar., 2003; Colombo i sar., 2005*).

Neki od kardiovaskularnih efektata su povezani sa blagom simpatičkom aktivacijom u kardiovaskularnom sistemu koja može uticati na sistolnu aktivnost (*Rinne i sar., 2012*). Niz studija ukazuje da je  $\alpha$ -MSH takođe značajan modulator reakcija domaćina, uključujući groznicu i upalu (*Catania i sar., 1998; Catania i Lipton, 1994*). Iako precizan mehanizam delovanja još uvek nije poznat, smatra se da je antagonizam citokina odgovoran za bar deo njegovog protivupalnog uticaja, kao što su antagonizam interleukina-1, interleukina-6, faktora nekroze tumora i interferona (*Catania i sar., 1998; Catania i Lipton, 1994*).

U skladu sa tim, pokazano je da alfa-MSH ima značajnu ulogu kao endogena protivmera povredama miokarda izazvanim ishemijskom-reperfuzijom i transplantacijom srca (*Vecsernyes i sar., 2003; Getting i sar., 2004; Airaghi i sar., 1995; Ottani i sar., 2015; Colombo i sar., 2005*). Alfa-MSH se povećava u cirkulaciji pacijenata sa akutnim infarktomiokarda (MI) koji podležu trombolitičkoj terapiji (*Airaghi i sar., 1995*). Međutim, većina studija koje se bave alfa-MSH-om sprovedena je na životinjama, dok su kliničke studije na ljudima oskudne.

## 1.6 Dijagnostičke metode

Bolest koronarnih arterija obično se dijagnostikuje nizom neinvazivnih testova, kao što su elektrokardiogrami, ehokardiogrami, testovi opterećenja, rentgen grudnog koša i CT koronarni angiogrami. Invazivni koronarni angiogrami, iako trenutno najtačnija metoda dijagnoze, obično su rezervisani za slučajeve kada su drugi testovi nedovoljno precizni.



### 1.6.1 Ehokardiografija

Ehokardiografija predstavlja dijagnostičku metodu koja koristi ultrazvuk za neinvazivno ispitivanje strukturnih komponenti srca.

Prva iteracija ove tehnologije bila je ehokardiografija u M-režimu, koju je opisao Inge Edler 1953. (*Singh i Gojal, 2007*). M-režim je kombinovao ultrasonografiju A-režima sa tehnikama B-režima, dodajući "vremensku" dimenziju ehokardiografiji (*Feigenbaum, 2010*). Međutim, ova tehnologija nije imala mogućnost produkcije slike, već je imala sposobnost da pokaže promenu struktura srca tokom srčanog ciklusa. M-režim je bio primarna tehnologija do razvoja 2D ultrasonografije u narednim godinama. Prema Reef-u, M-mode ehokardiografija omogućava merenje različitih struktura uključujući prečnik aorte na zaliscima, levu i desnu komoru, levog pretkomorskog vrha, kao i debljinu interventrikularnog septuma i slobodnog zida leve komore (*Reef, 1991*). S druge strane, dvodimenzionalna ehokardiografija pruža vizualizaciju intrakardijalnih struktura, aorte i plućne arterije, čime povećava dijagnostičku moć za stanja kao što su valvularne regurgitacije, valvularne lezije, abnormalnosti funkcije miokarda i perikardijalni izliv (*Li i Min, 2020*).

Džonsonova 2D ultrasonografija i dopler tehnologija omogućili su lekarima da otkriju protok krvi u krvnim sudovima, a do 1979. godine, Holen i Hatle su otkrili kako da koriste Bernulijevu jednačinu za otkrivanje gradijenta pritiska (*Sing i Gojal, 2007*). Savremena ehokardiografija kombinuje ove tehnologije, čime ehokardiografija postaje primarni neinvazivni dijagnostički metod koji omogućava kombinovanje i drugih testova sa ciljem bolje preciznosti i povećanja dijagnostičke i prognostičke moći testa.

Transtorakalna ehokardiografija (TTE) je najčešće korišćena metoda za procenu veličine, strukture i funkcije srca u realnom vremenu tokom srčanog ciklusa (*Kossaiify i sar., 2020; Omerović i Jain, 2023*).

Transtorakalna ehokardiografija (TTE) uključuje procenu četiri standardna pogleda na srčane komore, uključujući parasternalnu dugu osu, parasternalnu kratku osu, apikalni četvorokomorni i subksifoidni pogled (*Rylski i sar., 2014; Lang i sar., 2015; Omerović i Jain, 2023*). Parasternalni prikaz duge ose procenjuje desnu i levu komoru, levu pretkomoru i izlazni trakt aorte sa pripadajućim zaliscima (*Rylski i sar., 2014*). Parasternalni prikaz kratke ose procenjuje funkciju zida leve komore, povezane papilarne mišiće i desnu komoru (*Rylski i sar., 2014; Omerović i Jain, 2023*). Apikalni četvorokomorni prikaz efikasno upoređuje komore i otkriva naprezanje desnog srca zbog velike plućne embolije (*Lang i sar., 2015*). Subksifoidni prikaz obuhvata sve srčane komore, levi režanj jetre i donju šuplju venu (IVC), koja procenjuje predopterećenje na osnovu njene kompresibilnosti (*Rylski i sar., 2014*).

Američko društvo za ehokardiografiju daje smernice za upotrebu ehokardiografije u prisutne ili suspektne koronarne srčane bolesti (*Doherti i sar., 2019*).

### 1.6.2 Stres ehokardiografija

Stres ehokardiografija (SE) je dobro uspostavljena metoda za otkrivanje težine i obima koronarne arterijske bolesti, koja kombinuje transtorakalnu ehokardiografiju sa fizičkim, farmakološkim ili električnim stresom radi procene abnormalnosti pokreta srčanog zida (*Kossaiify i sar., 2020; Bonagura i Blissitt, 1995*). Tehnika precizno otkriva ishemiju miokarda posmatrajući privremeni pad regionalne funkcije tokom perioda stresa koji karakteriše inducibilnu ishemijsku. Stres ehokardiografija nudi dijagnostičku i prognostičku tačnost koja je slična magnetnoj rezonanciji, ali sa znatno nižim troškovima i bez bioloških opasnosti ili uticaja na životnu sredinu kako za pacijenta tako i za medicinsko osoblje (*Sicari i Cortigiani, 2017*).

Stres ehokardiografija se izvodi zajedno sa elektrokardiografijom, koja daje dodatni uvid u električnu aktivnost struktura srca, frekvencu rada srca i regularnost srčanog ritma.

Ehokardiografija koja za stresor koristi fizički rad ili vežbanje se može izvoditi ili na traci za trčanje (tredmil) ili sa biciklističkim protokolom (rekumbentni ergometar) (Picano i Pellikka, 2020). Regionalne abnormalnosti pomeranja zida mogu se otkriti snimanjem nakon vežbanja: neposredno nakon testa na traci za trčanje ili zadržavanjem pacijenta u mirnom stanju tokom snimanja na vrhuncu vežbanja kako bi se izbegli lažno negativni rezultati u slučaju naglog oporavka (Armstrong i sar., 2007; Calasans i sar., 2013). Kapacitet vežbanja, odziv otkucaja srca, promene ritma i krvnog pritiska, kao i podaci analize kretanja zida se procenjuju zajedno sa ciljem poboljšanja dijagnostičke rezolucije, te da bi se obezbedila konačna interpretacija nalaza (Fletcher i sar., 2013)

Detekcija CAD tokom stes testa, najčešće se zasniva na analizi depresije ST segmenta, kao snažnim prognostičkim parametrom (Fletcher i sar., 2013). Poslednjih godina se sve više značaja pridaje proceni analiziranih parametara u fazi oporavka od stresa. Shodno tome, markeri poput brzine oporavka promena ST segmenta i promena sistolnog krvnog pritiska pokazali su značajnu dijagnostičku i prognostičku vrednost (Bourque i Beller, 2015). Štaviše, abnormalnost promene srčanog pulsa (HR) u fazi oporavka, dosledno je pokazala prognostičku vrednost kod pacijenata sa dokazanom CAD (Fletcher i sar., 2013; Bourque i Beller, 2015; Kiviniemi i sar., 2015, Cole i sar., 1999, Gayda i sar., 2012).

1989 godine Detrano i saradnici su ispitali dijagnostičku tačnost stres ehotesta i evaluiranih parametara pout ST segmenta u predviđanju koronarne bolesti i njenoj prognozi, objedinivši analizu 147 studija i 22 godine prakse, te su kao zaključak podvukli da stres testiranje ima zbirnu osetljivost (Sn) od 68% i specifičnost (Sp) od 77% u detekciji CAD (Detrano i sar., 1989).

Uprkos napretku u tehnologiji i preciznosti korištenih uređaja, poboljšanje dijagnostičke tačnosti standardnog stres testa je i dalje veoma značajno, naročito u specifičnim populacijama pacijenata, kao što su žene, one koje podležu proceduru revaskularizacije, kao i u prisustvu konfoundera kao što je ST-depresija u miru, upotreba digoksina, blok levog snopa i hipertrofija leve komore sa promenama u repolarizaciji (Fletcher i sar., 2013; Bourque i Beller, 2015).

Još jedno važno pitanje u dijagnozi CAD-a predstavlja nedostatak objektivnih alata za kvantifikaciju, a što je važno za donošenje odluka o intervenciji npr., perkutana koronarna intervencija (PCI) ili bajpas graft koronarne arterije (CABG) (Fletcher i sar., 2013; Bourque i Beller, 2015; Serruys i sar., 2009), s obzirom na sve veći broj dokaza u literaturi koji ukazuju na to da revaskularizacija može biti korisna samo kod pacijenata sa visokim nivoom ishemije (Boden i sar., 2007). Stoga broj neinvazivnih ehokardiografskih i radionuklidnih imidžing studija koje su izvedene radi identifikacije ishemijske bolesti srca značajno raste, uz dodatni rizik izloženosti radijaciji kao i uz veće troškove (Bourque i Beller, 2015). Istovremeno, predloženo je da dodatna analiza ventilacionih parametara na standardni test opterećenja, tj. Kardiopulmonalni test opterećenja (CPET) može poboljšati dijagnostičke performanse (Belardinelli i sar., 2003).

### **1.6.3 Kardiopulmonalni test opterećenja**

Kardiopulmonalni test opterećenja (CPET) predstavlja dodatak analize gasnih parametara standardnoj stres ehokardiografiji.

Malhorta i Mazaheri sugerišu da se CPET testiranjem dobija dodatni uvid u analizu razmene gasova razmatrajući sledeće parametre: zapremina udahnutog kiseonika ( $VO_2$ ), zapremina izdahnutog ugljen-dioksida ( $VCO_2$ ), i ventilacija (VE). Analizom ovih parametara, možemo dobiti uvid u stanje drugih obrazaca razmene gasova koji odražavaju slabe adaptivne reakcije na vežbanje specifične za organe, posebno kada je CPET povezan sa standardnim merljivim varijablama tokom vežbanja



(srčani puls, sistolni i dijastolni krvni pritisak, elektrokardiogram), ultrazvučnim snimanjem srca i invazivnim hemodinamskim merenjima tokom vežbanja (*Malhorta i sar., 2016; Mazaheri i sar., 2016*).

Sa druge strane, superiornost CPET-a u odnosu na standardni test opterećenja u detekciji CAD koje je demonstrirao Belardinelli, doprinosi većoj senzitivnosti (Sn) i specifičnosti (Sp), putem merenja kiseoničnog (O<sub>2</sub>) pulsa i radne efikasnosti (WR) tj. odnosa promena zapremine kiseonika i promene radne efikasnosti ( $\Delta VO_2 / \Delta WR$ ), što doprinosi njegovom potencijalu za otkrivanje smanjenja udarnog volumena i početku ishemije u realnom vremenu (*Belardinelli i sar., 2003*).

Mancini je pre trideset godina sproveo značajnu studiju na 114 ambulantnih pacijenata sa srčanom insuficijencijom (HF) i smanjenom ejectionom frakcijom (HFrEF) koja je utvrdila vršnu granicu VO<sub>2</sub> od  $\leq 14$  ml/kg/min kao kriterijum za koji je jednogodišnje preživljavanje bilo značajno niže od onog koji se postiže transplantacijom (tj. 70%). Sa druge strane, pacijenti sa vršnim VO<sub>2</sub>  $>14$  ml/kg/min imali su 6% jednogodišnju smrtnost, što sugerise da se transplantacija može bezbedno odložiti u ovoj podgrupi pacijenata sa simptomatskom HF. Multivarijantna analiza je identifikovala vršni VO<sub>2</sub> kao najbolji prediktor preživljavanja u ovoj populaciji HF (*Mancini i sar., 1991*).

Nedavna studija je takođe pokazala dijagnostičku vrednost odnosa minutne ventilacije i proizvodnje ugljen-dioksida (VE / VCO<sub>2</sub>) u otkrivanju CAD (*Mazaheri i sar., 2016*).

Izmereni maksimalni VO<sub>2</sub> u vrhuncu napora tokom CPET-a ograničenog na simptome je najobjektivnija metoda za procenu funkcionalnog kapaciteta i sastoji se od sledećih komponenti (*Balady i sar., 2010*):

Računa se prema formuli:  $Peak\ VO_2 = HR_{MAX} \times SV_{MAX} \times (CaO_2 - CvO_2)_{MAX}$

gde je SV udarni volumen, CaO<sub>2</sub> kapilarni arterijski kiseonik, CvO<sub>2</sub> kapilarni venski kiseonik, a (CaO<sub>2</sub> – CvO<sub>2</sub>) je neto ekstrakcija kiseonika iz perifernih tkiva i zavisi od koncentracije hemoglobina (*Malhorta i sar., 2016*)

Jedan od parametara koji se analizira je nagib efikasnosti preuzimanja O<sub>2</sub> (VO<sub>2</sub> slope), koji predstavlja odnos između VO<sub>2</sub> i log VE tokom vežbanja. VO<sub>2</sub> slope je parametar koji je nadmašio vršni VO<sub>2</sub> u multivarijantnoj analizi prediktora ishoda kod 243 pacijenata sa HFrEF, gde je pokazano više od dva puta povećanje mortaliteta pri vrednostima  $<1,47$  l/min (*Hollenberg i Tager, 2000*).

VO<sub>2</sub> pri ventilatornom pragu (VT) je još jedan parametar preuzimanja O<sub>2</sub> koji pruža značajne informacije pri submaksimalnom vežbanju. Gitt i kolege su pokazali da je VT  $<11$  ml/kg/min bio povezan sa 5,3 puta povećanom verovatnoćom mortaliteta nakon 6 meseci kod 223 pacijenta sa HFrEF (*Gitt i sar., 2002*).

Dodatno, plato u porastu VO<sub>2</sub>/HR (pulsa kiseonika) ukazuje na smanjenu sposobnost povećanja udarnog volumena ekstrakcije kiseonika iz perifernih tkiva – CavO<sub>2</sub> (CaO<sub>2</sub> – CvO<sub>2</sub>) tokom vežbanja. Linearni porast CavO<sub>2</sub> tokom vežbanja sugerise dinamičku kardijalnu disfunkciju koja se uočava u inducibilnoj ishemiji (*Chaudhry i sar., 2009*), kao i desnoj ventrikularnoj pulmonalno-vaskularnoj diskrepanci (*Guazzi i sar., 2015*).

Modifikovana alveolarna jednačina opisuje determinante nagiba VE/VCO<sub>2</sub>:  $VE/VCO_2 = 863 / (1 - V_D/V_T) \times PaCO_2$

gde je V<sub>D</sub> mrtvi prostor, V<sub>T</sub> je plimni volumen, a PaCO<sub>2</sub> je parcijalni arterijski pritisak ugljen-dioksida

Povećana ventilacija u uslovima plućnog edema dovodi do smanjenog parcijalnog arterijskog pritiska CO<sub>2</sub>, sa druge strane hipoperfuzija pluća dovodi do diskrepance sa VQ sa povećanim frakcionim mrtvim prostorom. Zajedno, smanjen PaCO<sub>2</sub> i povećani frakcioni mrtvi prostor dovode do poremećaja nagiba VE/VCO<sub>2</sub> (*Chaudhry i sar., 2009; Guazzi i sar., 2015*).

Lewis i saradnici ukazuju da poremećena ventilatorna efikasnost VE/VCO<sub>2</sub> nagib ukazuje na povećan plućni vaskularni otpor u miru i naporu, da je obrnuto srazmeran ejectionnoj frakciji desne komore u pacijenata sa srčanom insuficijencijom sa očuvanom ejectionom frakcijom leve komore (Lewis i sar., 2008), dok Methvin i saradnici asociraju ventilacionu efikasnost VE/VCO<sub>2</sub> nagib sa sniženim trikuspidalnim anularnim sistolnim pokretima (TAPSE), a Ukkonen i saradnici je povezuju sa poremećajima oksidativnog metabolizmom desne komore (Methvin i sar., 2011; Ukkonen i sar., 2008).

Iz svega navedenog, zaključak je da CPET dozvoljava sveobuhvatnu procenu metaboličkih promena i ukupnih fizioloških oštećenja, objektivno izraženih u brojevima i na ekonomičan način, može imati dodatnu vrednost u kvantifikaciji i prognozi CAD (Guazzi i sar., 2016).

Zbog toga smo pretpostavili da razmena gasova u fazi oporavka može doneti više informacija nego samostalan EKG nalaz, na osnovu činjenice da period oporavka nosi veće metaboličke i ventilacione zahteve, koje karakteriše oporavak energetske rezervi i otplata kiseoničnog duga. U pacijenata sa ishemijom ovaj proces može biti izmenjen utičući na kinetiku VO<sub>2</sub> i VCO<sub>2</sub> posle vežbanja. Štaviše, predloženi model otkrivanja ishemije preko CPET-a zahteva testiranje na biciklu u uspravnom položaju (Berladinelli i sar., 2003), bez razmatranja drugih načina testiranja vežbanjem.

Indikacije za CPET sa ciljevima testiranja predstavljene su u tabeli 3.

**Tabela 3. Indikacije za CPET i ciljevi CPET testiranja**

Prilagodeno prema Malhorta i sar., 2016, American college of cardiology foundation, Heart Failure

Klinička slika	Cilj CPET testiranja
Multifaktorska dispnea, zamor pri vežbanju, ili naporu	Definisati uzrok limitirane razmene gasova
Postojeća koronarna ili pulmonalna bolest	Dijagnoza i prognoza bolesti, diferencijacija između pacijenata sa potrebom za invazivnom dijagnostikom ili potrebom za transplantacijom srca ili mehaničkom cirkulatornom podrškom
Valvularna ili kongenitalna bolest srca	Estimacija odnosa potrebe i rizika za hirušku intervenciju
Započinjanje farmakoterapije	Evaluacija funkcionalnog odgovora na terapiju
Klinička ispitivanja	Evaluacija efikasnosti i bezbednosti nove terapije

Aktuelne smernice Evropske asocijacije za kardiovaskularnu prevenciju i rehabilitaciju, kao i američka kardiološka asocijacija (European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation and the American Heart Association (AHA)), definišu i kriterijume za obustavu CPET testiranja deleći ih na postignut maksimalni napor bez prevremene obustave i kriterijume za prevremenu obustavu testiranja (submaksimalni kriterijumi) o kojima će biti reči u daljim poglavljima.

## 2 PREDMET ISTRAŽIVANJA

Uprkos velikom znanju o ulozi hormona stresa u patogenezi koronarne arterijske bolesti, u rutinskoj kliničkoj praksi je zanemaren njihov značaj, velikim delom zbog nedostatka standardizovanih, objektivnih metoda njihove procene, kao i adekvatne interpretacije. Hormoni hipotalamo-hipofizno-adrenalne (HPA) stres osovine, kortizol i adrenokortikotropni hormon (ACTH), mereni u miru su u ovom smislu najviše istraživani, a u poslednje vreme se sve više značaja u adaptaciji na stres pridaje alfa-melanocit stimulišućem hormonu – alfa-MSH, najpre zbog njegovih efekata na simpatičku regulaciju kardiovaskularnog sistema, sistolnu aktivnost srca i krvni pritisak. Vrlo je malo podataka koji pokazuju odgovor navedenih hormona na stres izazvan u laboratorijskim uslovima, za čije potrebe se u rutinskoj praksi izvodi test fizičkim opterećenjem, kao i o značaju ovog odgovora u dijagnozi i prognozi koronarne bolesti. Podataka o značaju ovih hormona merenih u uslovima oporavka od stresa zapravo i nema.

Test opterećenja ili stres test se inače standardno koristi za detekciju koronarne bolesti i stratifikaciju rizika, što je najpre zasnovano na analizi depresije ST segmenta, zajedno sa trajanjem i kapacitetom vežbanja, pa i vrednostima srčane frekvence u oporavku. Dodatna analiza ventilacionih parametara tokom ovog testa, tj. CPET, poboljšava performanse standardnog testa opterećenja u dijagnostičkom i prognostičkom smislu, dok je značaj merenja ventilacionih parametara u oporavku od stres testa neistražen.

Iz svega navedenog, nameće se pretpostavka da odgovor hormona stresa (kortizola, ACTH, alfa-MSH i NT-pro-BNP), kao i gasnih analiza, u naporu i oporavku od napora, može biti izvor značajnih podataka koji bi doprineli boljoj proceni težine koronarne bolesti i stratifikaciji rizika.

Cilj ove studije je da se pronade najpraktičniji način da se poveća snaga analiziranih parametara dobijenih u oporavku i stres hormona kod često korišćenih protokola u kliničkoj praksi uključujući i Bruce protokol. Prepostavili smo da dodatak gasnih analiza i analiza hormona oslobođenih u stresu standardnim procedurama tokom oporavka može doprineti informativnijoj i preciznijoj prognostičkoj vrednosti uz veoma malo dodatno uloženog truda. Dodatni napor bi trebao biti uložen i kako bi se ovaj metod prihvatio od strane lekara i uključio u rutinsku kliničku praksu. Shodno tome, ovo naučno istraživanje ima za cilj da istraži različite aspekte fizičkog napora i oporavka kod pacijenata sa bolešću koronarnih arterija.

Istraživanjem smo uporedo ispitivali odgovor odgovor kortizola, ACTH-a, alfa-MSH i NT-pro-BNP tokom ovih faza, sa ciljem da dobijemo važne uvide u ozbiljnost i procenu rizika bolesti. Koliko nam je poznato, ne postoje studije koje se bave potencijalnom dijagnostičkom i prognostičkom vrednošću alfa-MSH-a kod pacijenata sa koronarnom bolešću arterija (CAD). Cilj ove studije bio je da se ispita odgovor alfa-MSH-a tokom vežbanja kod pacijenata sa dijagnostikovanom CAD i da se proceni njegova vrednost u proceni težine i prognoze CAD.

Pretpostavljamo da odgovori alfa-MSH-a na vežbanje, koji se smatra akutnim stresnim modelom, mogu biti različiti u zavisnosti od težine CAD i da ti odgovori mogu biti povezani sa budućim kardijalnim događajima. Pored toga, studija će proceniti važnost analize gasova tokom fizičkog napora i oporavka od stresa, što može pružiti dragocen uvid u napredovanje bolesti i ishode pacijenata. Stoga je cilj tekuće studije bio da se proceni sposobnost odabira CPET varijable tokom faze oporavka, dobijene tokom oba testiranja, na tredmilu (TM) i ležećem ergometru (RE), u predviđanju težine CAD, kao primarni cilj studije, i CAD prognoze, kao sekundarni studijski cilj.

Stoga je predmet naučnog istraživanja doktorske disertacije ispitivanje odgovora kortizola, ACTH, alfa-MSH i NT-pro-BNP tokom fizičkog stresa i oporavka od fizičkog stresa kod bolesnika sa koronarnom bolešću, kao i evaluacija značaja ovih merenja u proceni težine koronarne bolesti i stratifikaciji rizika.



### **3 CILJ ISTRAŽIVANJA**

Ciljevi naučnog ispitivanja navedeni su redosledom:

1. Da se ispita odgovor kortizola, ACTH, alfa-MSH i NT-pro-BNP tokom fizičkog opterećenja i oporavka kod bolesnika sa koronarnom bolešću
2. Da se ispita značaj kortizola, ACTH, alfa-MSH i NT-pro-BNP merenih tokom fizičkog opterećenja i oporavka u proceni težine koronarne bolesti
3. Da se ispita značaj kortizola, ACTH, alfa-MSH i NT-pro-BNP merenih tokom fizičkog opterećenja i oporavka u stratifikaciji rizika bolesnika sa koronarnom bolešću
4. Da se ispita značaj gasnih analiza tokom fizičkog opterećenja i oporavka u proceni težine koronarne bolesti
5. Da se ispita značaj gasnih analiza tokom stresa i oporavka od stresa u stratifikaciji rizika bolesnika sa koronarnom bolešću

## 4 MATERIJAL I METOD

### 4.1 Protokol ispitivanja

Istraživanja predstavljena u ovoj doktorskoj disertaciji sprovedena su na Klinici za kardiologiju, Univerzitetskog kliničkog centra Srbije, u okviru projekata 175036 i 41022 koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. Istraživanje je odobreno odlukom Etičkog odbora Univerzitetskog kliničkog centra Srbije dana 10.12.2020. pod brojem 760/01, uz saglasnost Kolegijuma za nove kliničke studije Klinike za kardiologiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbije.

Nakon što su pacijenti informisani, upoznati sa protokolom, procedurama i obavezama, potpisivali su pismenu saglasnost za učešće u istraživanju formi Obrasca Informisanog pristanka, a u skladu sa Zakonom o lekovima i medicinskim sredstvima, kao i smernicama dobre kliničke prakse.

U ovo prospektivno opservaciono istraživanje uključeno je 40 ispitanika oba pola sa dijagnostikovanom koronarnom bolešću (prisustvo značajnih lezija koronarnih arterija što podrazumeva redukciju lumena  $\geq 50\%$ ). U cilju identifikovanja uključujućih i isključujućih kriterijuma pregledana je medicinska dokumentacija, a koristili su se i podaci sa rutinske ehokardiografske procene i kateterizacije srca koji su izvođeni od strane iskusnih kardiologa unutar dva meseca od početka istraživanja. Iz medicinske dokumentacije preuzeti su podaci pacijenata o godištu, visini, telesnoj težini, pratećim bolestima i stanjima kao i o aktuelnoj terapiji.

Pacijenti su potom podvrgnuti CPET na tredmilu i biciklu koji su izvodile iskusne medicinske sestre i farmaceut, pod supervizijom supspecijaliste kardiologa (uz dva dana razmaka između ova dva testa), sa uzorkovanjem krvi u miru, piku napora, kao i nakon trećeg minuta oporavka nakon testa. Iz uzoraka krvi merene su vrednosti plazma nivoa kortizola, ACTH, NT-pro-BNP i alfa-MSH u laboratoriji Univerzitetskog kliničkog centra Srbije. S obzirom na to da je jedan od ispitivanih hormona alfa-MSH, pacijenti su pre početka ispitivanja bili hospitalizovani 3 dana kako bi se ujednačio ciklus spavanja. Pacijentima je savetovano da idu na spavanje između 22 h i 23 h, a da se bude oko 07 h ujutru.

Nakon drugog CPET, pacijenti su praćeni do ukupno  $32 \pm 10$  meseci u smislu pojave neželjenih srčanih događaja (smrt kao posledica srčanih uzroka, infarkt miokarda, revaskularizacija srca i hospitalizacija).

Praćenje pacijenata se završilo pojavom neželjenog događaja ili nakon  $32 \pm 10$  meseci ako nije bilo pojave neželjenog događaja.

### 4.2 Studijska kohorta

Regrutovano je 40 pacijenata (21,2% žena), sa značajnim lezijama koronarnih arterija ( $\geq 50\%$ ) dokumentovanih koronarnom angiografijom, unutar dva meseca od izvođenja CPET. Nijedan od uključenih pacijenata nije bio aktivni pušač u periodu od 2 godine pre samog ispitivanja, niti su koristili antidepresive ni anksiolitike.

U **tabeli 4**.su navedeni uključujući i isključujući kriterijumi za procenu podobnosti ispitanika za učešće u ispitivanju.

**Tabela 4.** Uključujući i isključujući kriterijumi za procenu podobnosti ispitanika za učešće u ispitivanju.

Uključujući kriterijumi	Isključujući kriterijumi
Dobrovoljno data saglasnost za učešće u ispitivanju uz potpisan informisani pristanak	Hronična srčana insuficijencija
Starost od 18 do 75 godina, bez obzira na pol	Nestabilna angina pektoris
Prisutni znaci i simptomi koronarne bolesti srca	Nedavni akutni koronarni sindrom
Postojanje ehokardiografskog nalaza ne starijeg od dva meseca	Nekontrolisana hipertenzija i/ili diabetes mellitus tip I ili II
Uradena kateterizacija srca ne starija od dva meseca.	Anemija
	Respiratorne bolesti
	Trudnoća
	Nepokretnost ili nemogućnost vežbanja.

Dijagnoza koronarne bolesti bazirana je na kriterijumima Evropskog udruženja kardiologa (*Piepoli i sar., 2016; Task Force Members i sar., 2013; Knutti i sar., 2019*). Značajnom koronarnom bolešću smatra se:

- 1) prethodni infarkt miokarda,
- 2) prethodna revaskularizacija srca,
- 3) smanjenje luminalnog dijametra koronarnih arterija  $\geq 50\%$  na koronarnoj angiografiji.

### 4.3 Procedure

#### 4.3.1. Pregled nalaza rutinske ehokardiografije i katetarizacije srca

Prema nalazu koronarne angiografije ispitanici će biti dihotomno podeljeni na one koji imaju stenozu jedne ili dve koronarne arterije (1, 2-SCA) i na one koji imaju značajnu stenozu sve tri koronarne arterije (3-SCA).

Prema medicinskoj dokumentaciji za dobijanje ehokardiografskih parametara korišćeni su standardna M - mod i dvodimenzionalna ehokardiografija u mirovanju na ultrazvučnom uređaju Vivid 9 (BTO6, 1,5-3,6 MHz; GE Healthcare Technologies, Vaukesha, VI, SAD), a preglede su izvodila dva iskusna kardiologa prema aktuelnim preporukama (Lang i sar., 2015).

#### 4.3.1.1. Ehokardiografija

Evaluirani su sledeći parametri:

- 1) vrednost ejezione frakcije leve komore (LVEF) (%) merena B-mod tehnikom;
- 2) end-dijastolni dijametar leve komore (LVDd, cm), meren M-mod tehnikom;
- 3) masa leve komore (LVM, g) izračunata prema Devereux formuli:  $LVM (g) = 0.8 (1.04 (LVDd + IVSd + PWT)^3 - LVDd^3) + 0.6$ , gde su IVSd end-dijastolna debljina septuma, a PWTd end-dijastolna debljina posteriornog srčanog zida.
- 4) ostali ehokardiografski parametri:  
promer leve pretkomore (LA, cm),  
debljina interventrikularnog septuma u dijastoli (IVSd, cm),  
end-dijastolni dijametar leve komore (LVDd, cm),  
debljina zadnjeg zida leve komore u dijastoli (PWTd, cm),  
dijametar desne komore u dijastoli (RVDd, cm),  
amplituda mitralnog i trikuspidnog anularnog sistolnog pokreta (MAPSE, TAPSE, mm) koji su dobijeni M-mod tehnikom.

#### 4.3.1.2 Koronarna angiografija

Koronarna angiografija je prema medicinskoj dokumentaciji izvršena Judkins metodom (*Scanlon i sar., 1999*).

Stenoza je smatrana hemodinamski značajnom ako je prisutno smanjenje  $\geq 50\%$  luminalnog prečnika. Određen je i broj stenotičnih koronarnih arterija (SCA) i takođe dihotomno kategorizovan kao 1-2-SCA ili 3-SCA. Kako bi odredili težinu CAD, izračunat je Syntax skor (SS) (*Sianos i sar., 2005*)

#### 4.3.2. Kardiopulmonalni test opterećenja (CPET)

Bolesnici koji ispune kriterijume uključenja podvrgnuti su kardiopulmonalnom testu opterećenja (CPET) na tredmilu i biciklu (uz 2 – 4 dana razmaka između testova) koji je bio ograničen njihovim simptomima, a u skladu sa aktuelnim vodičima (*Guazzi i sar., 2012*; American Thoracic Society, American College of Chest Physicians, ATS/ACCP statement on cardiopulmonary exercise testing, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 167 (2) (2003) 211–277).

Podaci o svakom pojedinačnom udisaju su prikupljeni tokom CPET pomoću metaboličkog uređaja Cardiovit CS 200 (Schiller, Baar, Švajcarska).





**Slika 11. Oprema za izvođenje kardiopulmonalnog testa opterećenja:** Ergospirometar, Tredmil, Rekumbentni ergometar

Na slici 11 prikazana je potrebna oprema za izvođenje kardiopulmonalnog testa, a obuhvata Ergospirometar, sa funkcijom uporednog merenja arterijskog krvnog pritiska i srčane frekvence, elektrokardiografskog zapisa, i spirometrije, zajedno sa tredmilom ili rekumbentnim ergometrom.

Pre svakog testa, oprema je kalibrisana u skladu sa specifikacijama proizvođača koristeći referentne gasove. Ambijentni uslovi su bili podešeni pre svakog testa. CPET je izvođen u jutarnjim časovima u stanju gladovanja. Pacijenti su izvodili dva testa u nasumičnom redosledu.

Testovi na biciklu (RE) su izvođeni prema ramp protokolu koji je podrazumevao povećanje radnog opterećenja (WR) 15W u minutu.

Testovi na tredmilu (TM) su izvođeni koristeći standardni Bruce protocol.

Radno opterećenje (WR) tokom testiranja na tredmilu je automatski računato prema formuli proizvođača (HP cosmos sports & medical gmbh, Nussdorf - Traunstein, Nemačka), i to:  $WR = [mv \cdot (2.11 + 0.25 g) - 2.2 m - 151] / 10.5$ , gde je WR (W) = radno opterećenje, m (kg) = telesna masa, v (km / h) brzina i g (%) = nagib.

Propisana farmakološka terapija je korigovana prilikom pripreme za CPET (nitrati su obustavljeni 24 h pre testiranja, antagonisti kalcijuma 48 h i beta blokatori 3 dana pre testiranja). Čaj, kafa, koka kola-pića, čokolada i pušenje nisu bili dozvoljeni 24 h pre testa. Kriterijumi za prekid testa su prema aktuelnim smernicama navedeni su u tabeli 5.:

**Tabela 5. Kriterijumi za prekid testa**

<b>Kriterijumi za prekid testa</b>	
1.	Postizanje respiratornog količnika (RER) $\geq 1.1$
2.	Hipertenzivni odgovor na napor ( $\geq 230/130$ mm Hg)
3.	Pojava kratkotrajne ventrikularne tahikardije sa uticajem na hemodinamsku stabilnost
4.	Pojava kardiovaskularnih simptoma (dispnea i/ili zamor)
5.	Pad sistolnog krvnog pritiska $>20$ mmHg tokom progresivnog napora
6.	Pojava dugotrajne ventrikularne tahikardije
7.	Pojava horizontalne ili nishodne depresije ST segmenta $>2$ mm u najmanje dva susedna elektrokardiografska odvoda.

Parametri koji su određeni pre početka samog testa, tokom testa u maksimumu napora, i nakon trećeg minuta oporavka su bili sledeći:

- a) Arterijski krvni pritisak (BP) (sistolni i dijastolni)
- b) Srčana frekvencija (HR)
- c) Potrošnja kiseonika ( $VO_2$ )
- d) Proizvodnja ugljen- dioksida ( $VCO_2$ ),
- e) Minutna ventilacija (VE)
- f) Parcijalni pritisak end-tidalnog  $CO_2$  ( $P_{ETCO_2}$ )

Elektrokardiografski podaci beleženi su neprekidno pre početka, tokom testa i tokom oporavka na samom uređaju i štampani u intervalima od po 10 sekundi. EKG zapis prikazan je na Slici 12.



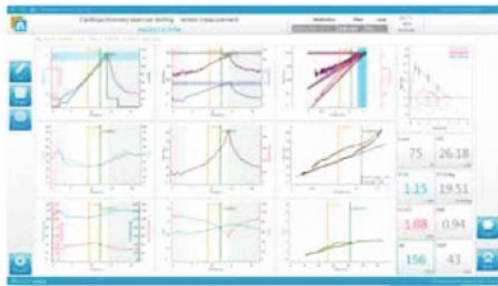
**Slika 12. EKG parametri beleženi u kontinuitetu pre početka testa, tokom trajanja testa i tokom 3 minuta oporavka.**

Gasne analize vršene su metodom “dah-po-dah” i štampane u intervalima od po 10 sekundi, prikazano na slici 13.

Za vršni  $VO_2$  i vršni RER uzet je najviši 10-sekundni prosečni uzorak dobijen tokom poslednjih 15 sekundi CPET-a. Promene u odnosu vrednosti oporavak/maksimum za testirane varijable računane su kao razlika između vrednosti nakon trećeg minuta oporavka i maksimalne vrednosti. Za određivanje nagiba krive  $VE/VCO_2$  korišćen je tabelarni proračun (Microsoft Excel, Microsoft Corp., Bellevue, WA) uz pomoć linearne regresije najmanjih kvadrata ( $y = mx + b$ ,  $m$ =nagib).

Pomoću integrisanog softvera opreme prema formuli:  $\text{pik}VO_2/T - 0.75 \times S$  ( $S$ -nagib povećanja WR u Watt/min;  $T$ -vreme povećanja napora) automatski je računato zaravnjenje krive  $VO_2$  u odnosu na WR. Smanjenja drugog nagiba za  $>35\%$  u poređenju sa prvim, tokom  $\geq 30$  s smatra se značajnim (Belardinelli i sar., 2003).

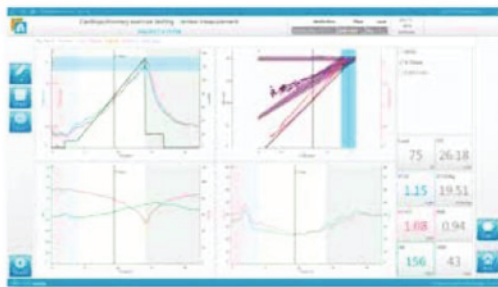




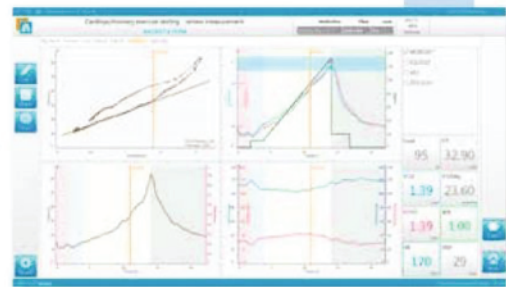
Spirometrijski parametri prikazani u panelu od 9 grafikona prema Wassermanu



Spirometrijski parametri tabelarni prikaz



VT parametri tokom testiranja prikaz 1



VT parametri tokom testiranja prikaz 2

**Slika 13. Spirometrijski parametri beleženi pre početka testa, tokom vrhunca napora i u trećem minutu nakon testa**

#### 4.3.3. Analiza krvi

Uzorci krvi za analizu nivoa kortizola, ACTH, NT-pro-BNP i alfa MSH (20 ml) uzeti u miru (20 ml) i u piku CPET (20 ml), kao i nakon trećeg minuta oporavka nakon CPET (20 ml). Kako bi se izbegla hormonalna stimulacija prilikom uboda igle, uzorci krvi uzimani su pomoću braunile plasirane u brahijalnu venu pacijenta 30 minuta pre samog testa, a 1.5 h nakon buđenja (Smyth i sar., 2016). Uzorci su čuvani na  $-80^{\circ}\text{C}$  i centrifugirani na 4000 Hz.

Promena nivoa analiziranih hormona računata je kao razlika vrednosti dobijenih u trećem minute oporavka nakon testa i vrednosti dobijenih u piku CPET-a.

Kortizol je meren radioimunoesej metodom (CORTCT2, CIS BioInternational, Gif-Sur-Yvette Cedex, France) sa donjom granicom osetljivosti 4.6 nmol/l.

ACTH je meren imunoradiometrijskom metodom (ELSA-ACTH, CIS BioInternational, Gif-Sur-Yvette Cedex, France) sa donjom granicom osetljivosti 2 ng/l.

Alfa-MSH je meren enzimskim imunosorbentnim esejom (Cusabio Biotech, Wuhan, China) sa donjom granicom osetljivosti 0.039 ng/ml.

NT-pro-BNP je meren u svim uzorcima plazme pomoću imunoesej sandwich tehnike (pro-BNP II, Cobas, Burges Hill, England), sa donjim limitom osetljivosti od 5 pg/ml.

#### *4.3.4. Praćenje pojave neželjenih kardiovaskularnih događaja*

Praćenje pacijenata je započelo dan nakon završetka poslednjeg CPET-a.

Pacijenti su praćeni u cilju otkrivanja ozbiljnih srčanih neželjenih događaja (smrt kao posledica srčanih uzroka, infarkt miokarda, revaskularizacija srca, hospitalizacija) kroz posete bolnici ili pregled medicinskog kartona pacijenata tokom perioda praćenja. Praćenje pacijenata se završilo pojavom neželjenog događaja ili nakon 32 meseca ako nije bilo pojave neželjenog događaja.

#### **4.4. Statistička analiza**

Rezultati su izraženi klasičnim deskriptivnim parametrima - srednja vrednost i standardna devijacija za parametarske varijable, odnosno medijana i interkvartilni rang za varijable koje ne prate normalnu distribuciju. Kategorički podaci su procentualno izraženi. Podaci koji nisu normalno distribuirani prema Kolmogorov-Smirnov testu, logaritamski su transformisani u cilju primene parametarske statistike.

Razlike između grupa stratifikovanih prema prisustvu 1-2-SCA i 3-SCA testirane su studentskim t-testom za nezavisne uzorke. Mann-Whitney test korišćen je za neparametarske varijable, dok su korelacije između varijabli izvršene pomoću Pearson korelacionog testa i Spearman testa rangiranja.

Za procenu prognostičkih vrednosti ključnih CPET i biohemijskih parametara korišćena je univarijantna i multivarijantna Cox regresiona analiza. Za multivarijantnu regresiju koristio se napredni kondicionalni model sa stepenastim unosom i kriterijumom za uklanjanje podešenim na 0.05 i 0.10, respektivno. Zatim su konstruisane Kaplan-Meier krive preživljavanja kako bi se dodatno ispitalo značaj biohemijskih i CPET varijabli u predviđanju kumulativne stope neželjenih srčanih događaja. SPSS 22.0 (IBM, Armonk, New York) statistički softverski paket je korišćen za sve navedene analize.

Svi testovi sa p-vrednošću  $<0.05$  smatrani su statistički značajnima. Dodatno, da bi se procenila osetljivost na cenzurisane subjekte, izračunat je i Harrell C, kao mera dobrog uklapanja binarnih ishoda u modelu regresione analize preživljavanja, što je ekvivalentno površini ispod ROC krive. Za ovu analizu korišćen je program STATA 14 (STATA, College Station, TKS).

## 5. REZULTATI

### 5.1 Kliničke i ehokardiografske karakteristike ispitanika

U istraživanje je uključeno ukupno 40 ispitanika bele rase, srednje starosti  $63,5 \pm 7,6$  godina, od kojih je bilo 7 žena i 33 muškarca. Kliničke i ehokardiografske karakteristike ispitanika pokazuju da su ispitanici bili sličnih godina, distribucije po polu i indeksa telesne mase (BMI). Među ispitanicima nije bilo pušača.

Kliničke karakteristike ispitanika prikazane su u tabeli 6.

Tabela 6. *Kliničke karakteristike studijske populacije*

	Srednja vrednost $\pm$ SD		
<b>Muškarci/Žene (n)</b>	33		7
<b>Starost (godine)</b>	63.5	$\pm$	7.6
<b>Visina (cm)</b>	173.2	$\pm$	7.6
<b>Težina (kg)</b>	76.6	$\pm$	14.9
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	25.2	$\pm$	5.4
<b>BSA (m<sup>2</sup>)</b>	1.9	$\pm$	0.2
<b>Dijabetes, n (%)</b>	16 (40.0)		
<b>Prethodni infarkt miokarda, n (%)</b>	19 (47.5)		
<b>Prethodne PCI ili CABG, n (%)</b>	16 (40.0)		
<b>Lekovi u terapiji, n</b>	-Beta blokatori, 37 -ACE-inhibitori, 39 -Angiotenzin II receptor blokatori, 5 -Antiagregacioni lekovi, 40 -Statini, 40 -Antidijabetici, 16		

*ACE=angiotenzin konvertujući enzim, BMI= Indeks telesne težine (kg/m<sup>2</sup>), BSA= Telesna površina (m<sup>2</sup>), CABG= bajpas graft koronarne arterije, PCI=perkutana intervencija Vrednosti su predstavljene kao  $\pm$  SD*

Od 40 ispitanika, 2 nije izvršilo test na tredmilu i 3 nije izvršio test na biciklu, jer su odbili da izvede test dva puta.

Od 40 ispitanika 25 je imalo manje aritmije tokom testiranja (tj. supraventrikularni i ventrikularni preuranjeni ektopični otkucaji); nije bilo značajnih srčanih događaja, smrti ili neželjenog srčanog stresa tokom testiranja, što je kasnije dokumentovano normalnim laboratorijskim parametrima troponina i mioglobina nakon svakog testa.

Bol u grudima ili dispneja su bili prisutni kod 13/37 (35,14%) pacijenata koji su testirani na RE i 17/38 (44,74%) pacijenata testiranih na TM.

Depresija ST segmenta  $\geq 1$  mm zabeležena je u 71,05% ispitanika koji su testirani na TM, dok je kod RE bila prisutna u 27,02% bolesnika; što je znatno češće ( $p=0,04$ ).

Parametri spirometrije u miru su bili u referentnim granicama.



## 5.2. Ehokardiografske karakteristike ispitanika

Evaluacijom ehokardiografskih parametara zabeležene su srednje vrednosti ehokardiografskih parametara studijske populacije, gde srednja vrednost ejskione frakcije iznosila 57%, srednja vrednost end dijastolnog dijametra zida leve komore srca bila je 5.3 cm, dok je srednja vrednost mase leve komore iznosila 375.4g.

Ehokardiografske karakteristike ispitanika prikazane su u tabeli 7.

**Tabela 7. Ehokardiografske karakteristike ispitanika**

	Srednja vrednost $\pm$ SD		
<b>EF (%)</b>	57	$\pm$	10
<b>LVDd (cm)</b>	5.3	$\pm$	0.9
<b>LVM (g)</b>	375.4	$\pm$	92.9

*EF* = ejskiona frakcija leve komore; *LVDd* = end-dijastolni dijametar zida leve komore srca; *LVM* = masa leve komore

## 5.3 Parametri težine koronarne bolesti

Parametri težine CAD-a izvedeni su iz koronarne angiografije.

Broj pacijenata sa 1-SCA bio je 16, 2-SCA 14 i 3-SCA 10.

Syntax score je bio  $12.8 \pm 7.9$ .

#### 5.4. Razlike u kardiopulmonalnim parametrima CPET testiranja na biciklu i tredmilu

U tabeli 8 su pokazane brojne značajne razlike u odgovoru CPET kod bolesnika sa 1-sudovnom i 2-sudovnom CAD u poređenju sa 3-sudovnom CAD. Razlike u odgovoru postoje samo prilikom TM testiranja, osim za  $\Delta$ HR oporavak/pik koji se razlikovao tokom RE testiranja.

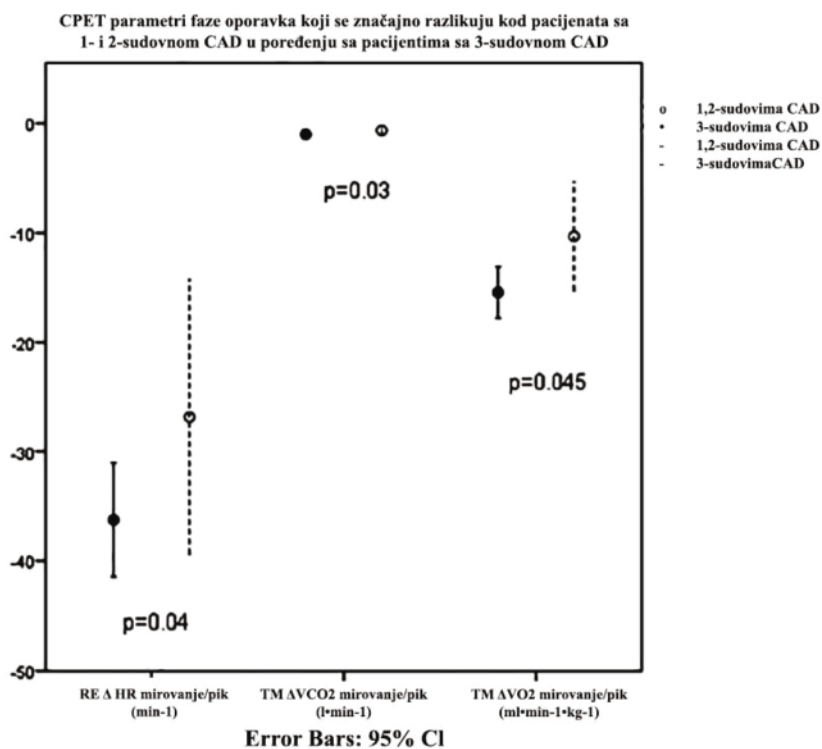
**Tabela 8. Razlike u CPET parametrima na biciklu i tredmilu kod pacijenata sa 1- i 2-sudovnom CAD u poređenju sa pacijentima sa 3-sudovnom CAD**

	Rekumbentni Ergometar (RE)			Tredmil (TM)		
	1-2-SCA	3-SCA	p	1-2-SCA	3-SCA	p
Trajanje testa (min)	10.95 ± 1.96	10.00 ± 2.86	ns	7.58 ± 2.51	4.60 ± 1.96	0.003
Opterećenje (watt)	113.82 ± 30.41	92.86 ± 32.34	ns	130.22 ± 43.76	101.29 ± 31.42	ns
RER pik	0.99 ± 0.09	1.00 ± 0.03	ns	0.98 ± 0.10	0.92 ± 0.13	ns
VO <sub>2</sub> pik (ml x min <sup>-1</sup> x kg <sup>-1</sup> )	18.25 ± 4.18	15.26 ± 2.96	ns	22.43 ± 7.04	17.00 ± 4.18	0.03
$\Delta$ VO <sub>2</sub> / $\Delta$ WR ((ml/min)/watt)	7.99 ± 2.20	7.94 ± 2.59	ns	-	-	-
VE/VCO <sub>2</sub> nagib	29.50 ± 6.03	31.77 ± 4.74	ns	30.73 ± 5.27	37.31 ± 4.65	0.002
$\Delta$ HR oporavak / pik (min <sup>-1</sup> )	- 36 ± 12	- 26 ± 12	0.04	- 43 ± 17	- 30 ± 18	0.06
$\Delta$ VO <sub>2</sub> oporavak / pik (ml x min <sup>-1</sup> x kg <sup>-1</sup> )	-10.59 ± 3.24	-8.75 ± 3.37	ns	-14.49 ± 6.78	-8.87 ± 6.36	0.045
$\Delta$ VO <sub>2</sub> oporavak / pik kao % od VO <sub>2</sub> pik (%)	- 57.47 ± 9.50	- 55.51 ± 13.66	ns	- 65.05 ± 8.08	- 55.85 ± 17.96	0.05
$\Delta$ VCO <sub>2</sub> oporavak / pik (l x min <sup>-1</sup> )	-0.57 ± 0.33	-0.54 ± 0.34	ns	-0.95 ± 0.47	-0.54 ± 0.42	0.03
$\Delta$ O <sub>2</sub> puls oporavak / pik (ml/otkucaj)	- 4.60 ± 2.79	- 5.10 ± 2.35	ns	- 6.08 ± 3.67	- 4.07 ± 3.54	ns
$\Delta$ VE oporavak / pik (l x min <sup>-1</sup> )	-18.32 ± 10.93	- 15.88 ± 7.69	ns	- 28.74 ± 15.81	- 17.92 ± 12.39	0.06
$\Delta$ P <sub>ET</sub> CO <sub>2</sub> oporavak / pik (mmHg)	- 1.49 ± 2.37	- 0.44 ± 2.57	ns	- 0.90 ± 2.61	0.35 ± 1.34	0.06

HR = srčana frekvenca; SCA – stenozirana koronarna arterija; P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub> – end-tidal parcijalni pritisak ugljen-dioksida; RE = ležeći ergometar; RER = respiratorni količnik; TM = tredmil; VE = minutna ventilacija; VO<sub>2</sub> = potrošnja kiseonika; VCO<sub>2</sub> = proizvodnja ugljen-dioksida; WR = radno opterećenje. Vrednosti su izražene kao srednja vrednost ± standardna devijacija (SD).

Na slici 14, prikazani su rezultati dobijeni iz faze oporavka nakon CPET, gde se parametri oporavka dobijeni testiranjem na tredmilu i rekumbentnom ergometru značajno razlikuju u pacijenata sa 1- i 2-sudovnom CAD u poređenju sa pacijentima sa 3-sudovnom CAD.

Da bi pronašli parametre za razlikovanje 1-sudovnih i 2-sudovnih CAD u poređenju sa 3-sudovnim CAD-om, korišćena je ROC analiza. Među izmerenim CPET parametrima, najbolja prediktivna sposobnost za identifikovanje bolesnika sa 1,2- sudovnom CAD i 3-sudovnom CAD je pokazana za parameter  $\Delta VCO_2$  oporavak /pik dobijen tokom TM CPET (površina ispod ROC krive 0.77, SE = 0.09, p = 0.02). Optimalna vrednost praga za identifikovanje pacijenata sa 3-sudovnom CAD  $\geq -0,76$  l/min, proizvela je Sn i Sp od 87,5% i 70,4%, redom, kao što je prikazano na Slici 14.

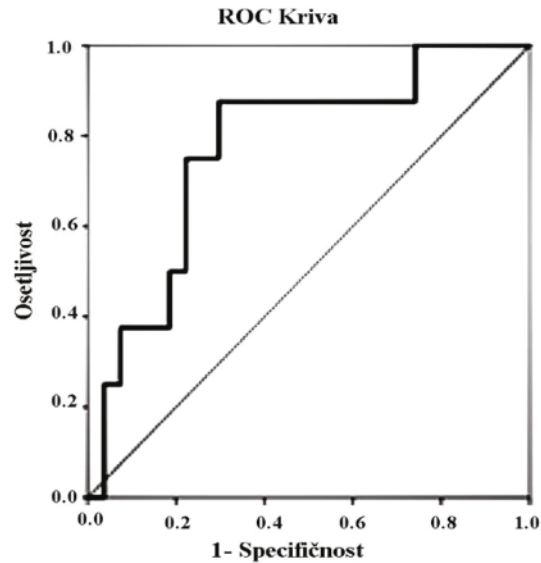


**Slika 14.**

CPET parametri faze oporavka koji se značajno razlikuju u pacijenata sa 1- i 2-sudovnom CAD u poređenju sa pacijentima sa 3-sudovnom CAD

Prediktivna vrednost je takođe prikazana za parametar  $\Delta VO_2$  oporavak /pik dobijen tokom TM CPET (površina ispod ROC krive 0.76, SE = 0.10, p = 0.03), sa optimalnom vrednošću praga za identifikaciju pacijenata sa 3-sudovnom CAD  $\geq -12,51$  ml · kg-1 · min-1 (Sn 75,0%, Sp 77,8%).





Slika 15.

ROC analiza parametra  $\Delta VCO_2$  oporavak / maksimum dobijenog tokom TM CPET u razlikovanju pacijenata sa 1- i 2-sudovnom CAD od pacijenata sa 3-sudovnom CAD

Na ROC analizi parametri  $\Delta HR$  oporavak / pik dobijen tokom RE CPET i  $\Delta VE$  oporavak / pik dobijeni tokom TM CPET nisu dostigli statističku značajnost u predviđanju težine CAD-a (površina ispod ROC krive 0.72, 0.73, SE = 0.06, 0.10; p = 0,06, 0,054).

Binarna logistička regresija takođe pokazuje da su značajni diskriminatori između 1,2-sudovne i 3-sudovne CAD: 1)  $\Delta VCO_2$  oporavak / pik dobijen tokom TM CPET (OR = 6,80, CI = 0,98-46,98, p = 0,04); i 2)  $\Delta VO_2$  oporavak / pik (OR = 1.26, CI = 1.00-1.59, p = 0.04).  $\Delta HR$  oporavak / pik dobijen tokom RE CPET (OR = 1.09, CI = 1.00-1.19, p = 0,06) i  $\Delta VE$  oporavak / pik dobijen tokom TM CPET (OR = 1.05, CI = 0.99-1.11, p > 0.05) nisu dostigli statističku značajnost.

Na binarnoj logističkoj regresiji registrovana depresija ST segmenta tokom TM i RE CPET nije pokazala značaj u razlikovanju između 1- i 2- sudovne CAD u poređenju sa 3- sudovnom CAD (B = 0,40, 0,98; SE = 0,91, 1,25; p = 0,28, 0,75, respektivno).

#### 5.4. Rezultati praćenja zdravstvenih ishoda ispitanika

Tokom perioda od  $32 \pm 10$  meseci praćenja pacijenata dogodilo se 0 (0%) smrti, 6 (15%) infarkta miokarda, 8 (20%) hospitalizacija, i 32 (80%) procedura revaskularizacije (CABG ili PCI).

#### 5.5. Prediktori neželjenih srčanih događaja

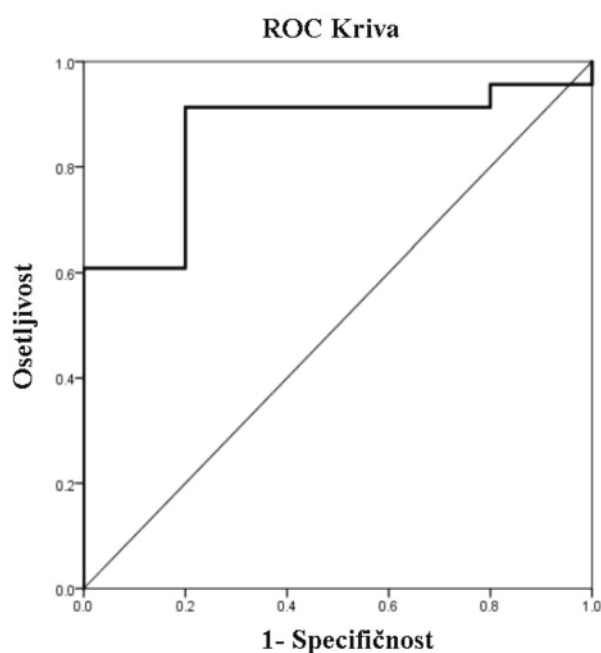
Korišćenjem univarijantne Cox regresione analize pokazano je da  $\Delta HR$  oporavak / pik tokom RE i TM CPET nisu pokazali statistički značaj u predviđanju nastanka neželjenog kardiovaskularnog događaja (HR = 1,03, 1,01; CI = 0,99-1.07, 0.98-1.03; p: 0.05, respektivno). Isto je prikazano za depresiju ST segmenta registrovanu tokom TM i RE CPET (HR = 1.24, 0,89; CI = 0,49-3,19, 0,36-2,21; p N: 0.05, respektivno), kao i za  $\Delta VO_2$  oporavak / pik tokom RE CPET (HR = 1.07, CI = 0.94-1.23, p > 0.05), dok  $\Delta VO_2$  oporavak / pik tokom TM CPET-a pokazuje tendenciju da bude značajan prediktor nastanka neželjenih srčanih događaja (HR = 1.08, CI = 0,98-1,19, p = 0,08).

Multivarijantni model koji uključuje sve ove varijable izdvaja  $\Delta VO_2$  oporavak / pik tokom TM CPET kao značajan prediktor pojave neželjenog kardiovaskularnog događaja (HR = 1.27, CI = 1.07-1.51, p = 0.008).

Među izmerenim CPET parametrima, ROC analiza pokazala je visoku prediktivnu vrednost  $\Delta VO_2$  oporavak/maksimum dobijenog tokom TM CPET za nastanak kompozitnog kumulativnog kardiovaskularnog neželjenog događaja (površina ispod ROC krive 0.86, SE = 0.08, p = 0.013). Optimalna vrednost praga za identifikaciju pacijenata koji će pokazati srčani događaj je bila  $\geq -12,71$  ml/kg-1/ min-1, Sn i Sp od 91,3% i 80,0%, kao što je prikazano na Slici 16.a

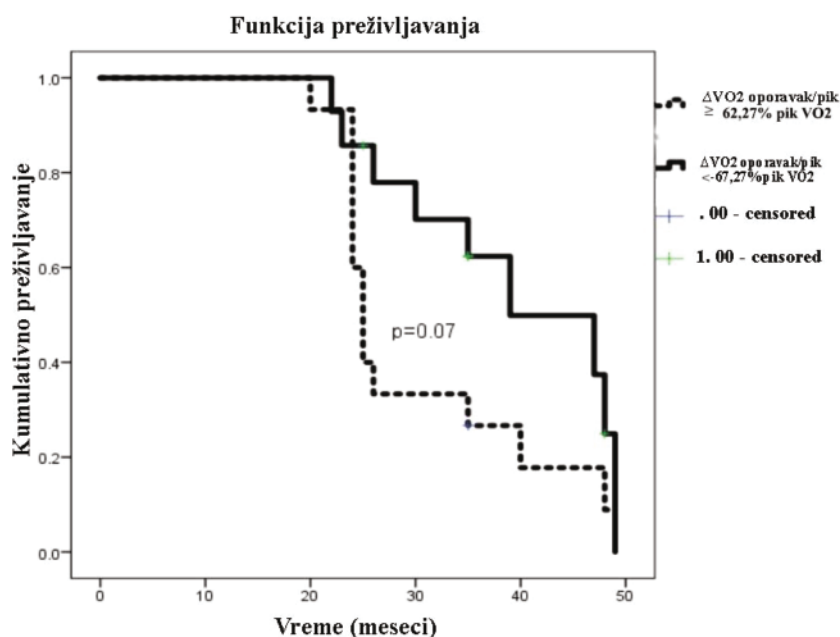
Kako ROC analiza nije uzela u obzir osetljivost na cenzurisane subjekte, da bi se postigao ovaj cilj, ekvivalentna Harrellova C analiza je izvršena, pokazujući vrednost 0,77 za primenjen multivariantni Cox regresioni model.

Na Kaplan-Meierovoj analizi  $\Delta VO_2$  oporavak / maksimum kao procenat vršnog  $VO_2$  dobijenog tokom TM CPET-a, sa pragovnom vrednošću od -67,27%, pokazuje tendenciju za razlikovanje pacijenata sa i bez pojave kardiovaskularnih događaja u periodu od  $32 \pm 10$  meseci, ali ne dostiže statističku značajnost (Log Log - Mantel Cox 3.14, p = 0.07), kao što je prikazano na Slici 16.b. Pacijenti sa produženim  $\Delta VO_2$  oporavak /maksimum dobijenim na TM pokazali su učestaliju pojavu kardiovaskularnih događaja.



**Slika 16a**

ROC analiza parametra  $\Delta VO_2$  oporavak / pik dobijenog tokom RE CPET u predviđanju kompozitnog kumulativnog neželjenog kardiovaskularnog ishoda



**Slika 16b**

Kaplan-Meier analiza parametra  $\Delta VO_2$  oporavak / pik kao procenat vršnog  $VO_2$  dobijenog tokom TM CPET-a, sa pragovnom vrednošću od -67,27%, u razlikovanju pacijenata sa i bez pojave kardiovaskularnih događaja u periodu od  $32 \pm 10$  meseci praćenja pacijenata

## 5.6. Razlike u hormonskim parametrima u odnosu na težinu CAD

Procenjajući sve ispitanike zajedno, promena u nivou kortizola i ACTH tokom CPET-a nije pokazala statističku značajnost ( $p > 0.05$ ), dok je kortizol pokazao značajan pad tokom faza oporavka ( $p = .036$ ). Ispitanici sa 1- i 2- sudovnom CAD su pokazali statistički značajno niži nivo kortizola u plazmi u mirovanju, na vrhuncu napora, i oporavku od CPET-a ( $p = .015, .036, .036$ ; veličina efekta 0,86, 0,80, 0,84, respektivno), međutim promene između faza nisu bile značajnije različite u poređenju sa ispitanicima sa 3-sudovnom CAD, kao što je prikazano na Slici 17a. Nije bilo statistički značajnih razlika u odgovoru kortizola kod ispitanika prema a rezultatima Syntax skora  $< / 23$  ( $p > .05$ ), kao i u ACTH odgovoru u poređenju sa pacijentima sa 1- i 2- sudovnom CAD u odnosu na pacijente sa 3-sudovnom CAD ( $p > .05$ ).

Međutim, ispitanici sa Syntax skorom  $< 23$  pokazuju značajno veće vrednosti ACTH u mirovanju i maksimumu CPET (veličina efekta 0,64, odnosno 0,61), dok nije bilo razlika pri oporavku i u promenama između faza CPET-a, kao što je prikazano na Slici 17b. NT-pro-BNP odgovor tokom CPET-a nije se značajno razlikovao kod ispitanika sa drugačijim brojem SCA ili vrednošću Sintaks skora  $\leq 23$  ( $p > 0.05$ ).

Odnos kortizola i ACTH u plazmi bio je značajno niži u mirovanju kod ispitanika sa 1- i 2- sudovnom CAD u odnosu na pacijente sa 3-sudovnom CAD-a u mirovanju ( $p = .015$ , veličina efekta 0,60) sa tendencijom da bude niži u vrhuncu vežbanja, ali bez dostignute statističke značajnosti ( $p = .06$ ), kao što je prikazano na Slici 17c.

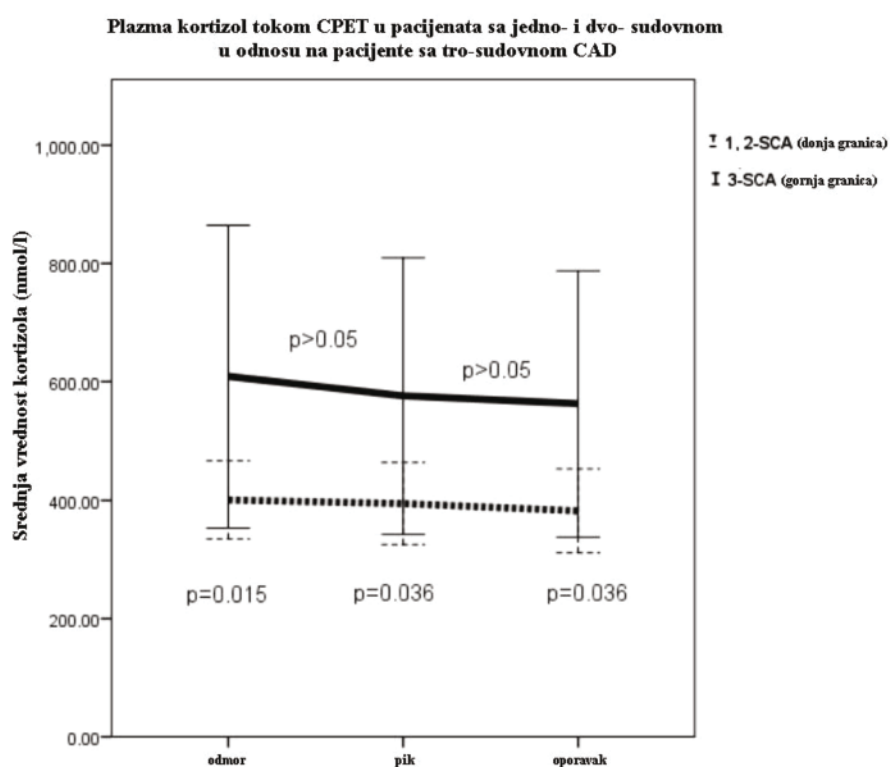
Alpha-MSH pokazuje povećanje tokom CPET; tokom oporavka alfa-MSH vrednosti se snižavaju. Nije bilo značajnih razlika ni u jednom od merenja alfa-MSH među pacijentima sa 1, 2-SCA i 3-SCA, niti među pacijentima sa Syntax skorom  $< 23$  i  $\geq 23$  ( $p > 0.05$ ), Slika 17d.

NT-pro-BNP odgovor tokom CPET-a nije se značajno razlikovao kod ispitanika sa različitim brojem SCA ili vrednošću Syntax skora ( $p > 0.05$ ), Slika 17e.



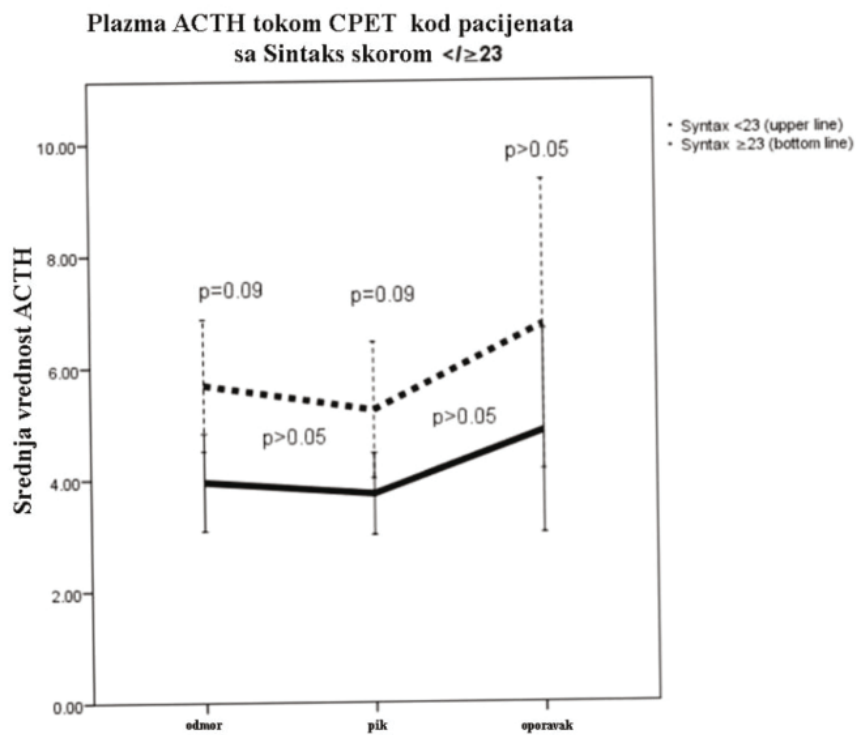
Slika 17 sastoji se iz 5 podslika sa sledećim prikazima:

- Plazma nivoi kortizola tokom CPET kod pacijenata sa 1- i 2- sudovnom CAD u odnosu na pacijente sa 3-sudovnom CAD. Prikazane su srednje vrednosti  $\pm$  interval poverenja (CI).
- Plazma nivoi ACTH tokom CPET na RE kod pacijenata sa Syntax skorom  $\leq/\geq 23$ . Prikazane su srednje vrednosti  $\pm$  interval poverenja (CI).
- Odnos kortizol/ACTH tokom CPET na RE kod pacijenata sa 1- i 2- sudovnom CAD u odnosu na pacijente sa 3-sudovnom CAD. Prikazane su srednje vrednosti  $\pm$  interval poverenja (CI).
- Plazma nivoi alfa-MSH tokom CPET kod pacijenata sa Syntax skorom  $\leq/\geq 23$ . Prikazane su srednje vrednosti  $\pm$  interval poverenja (CI).
- Plazma nivoi NT-pro-BNP tokom CPET kod pacijenata sa Syntax skorom  $\leq/\geq 23$ . Prikazane su srednje vrednosti  $\pm$  interval poverenja (CI).

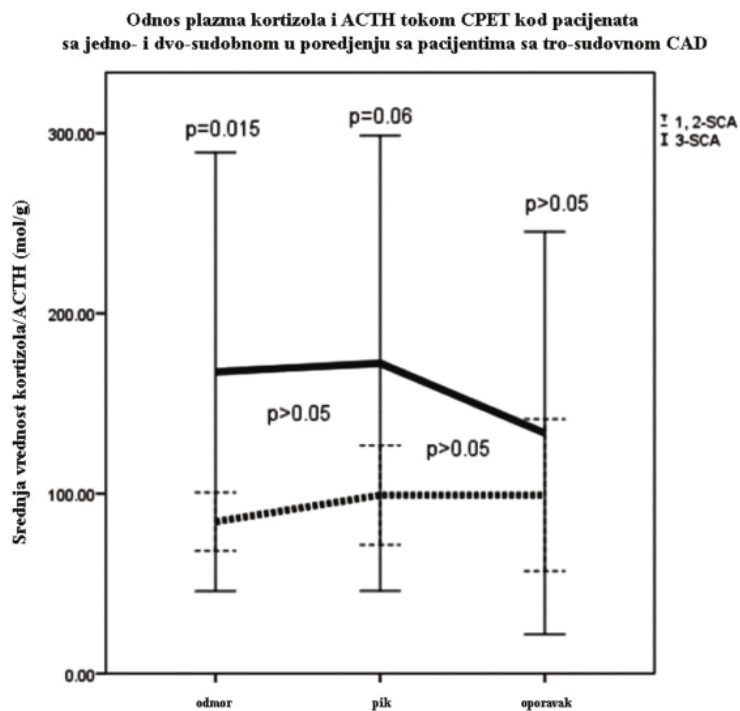


Slika 17.a

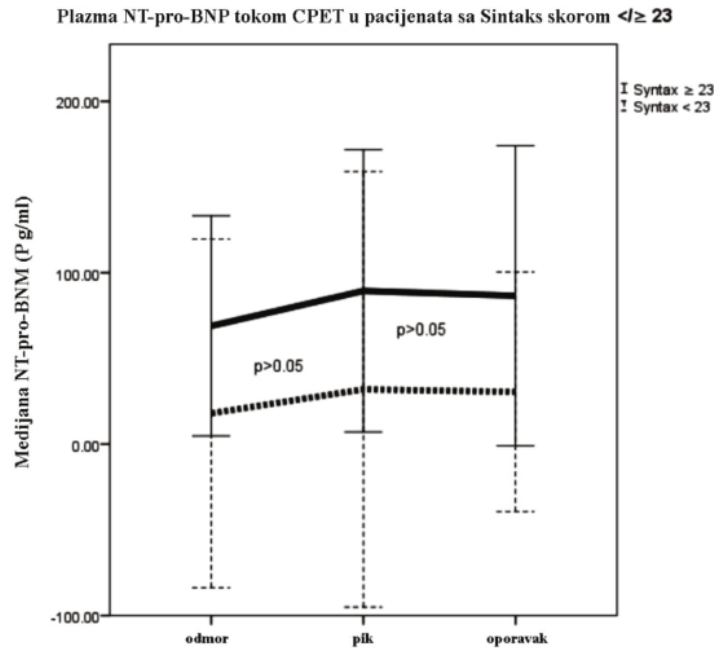
*ACTH = adrenokortikotropni hormon; alfa-MSH = alfa-melanostimulirajući hormon, CAD = koronarna arterijska bolest; CPET = kardiopulmonalni test; NT-pro-BNP = N-terminalni pro B tip natriuretski peptid, SCA = broj stenotičnih koronarnih arterija.*



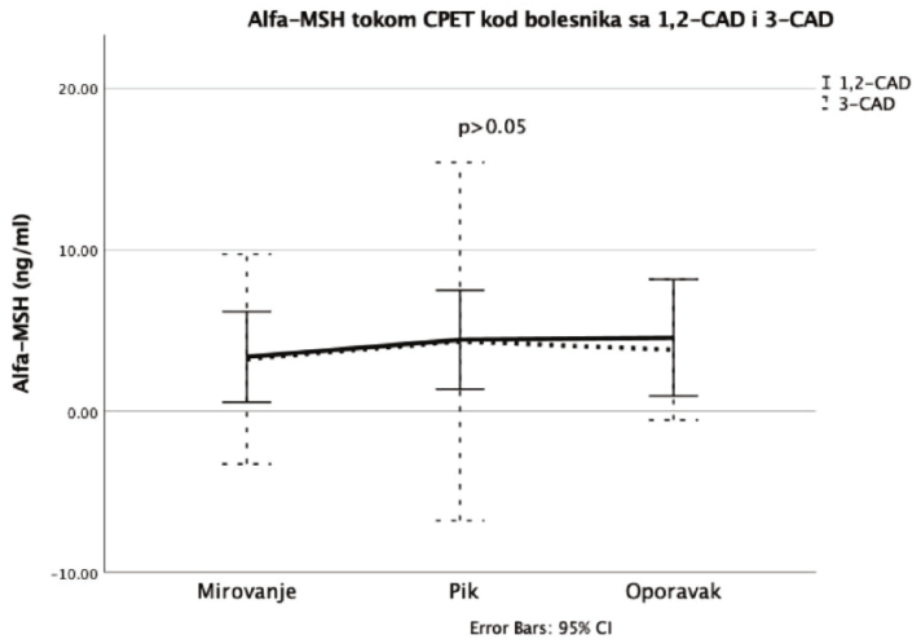
**Slika 17.b** Plazma ACTH tokom CPET kod pacijenata sa Sintaks skorom  $\leq/\geq 23$



**Slika 17.c** Odnos plazma kortizola i ACTH tokom CPET kod pacijenata sa jedno- i dvo-sudobnom u poredjenju sa pacijentima sa tro-sudovnom CAD



Slika 17.d Plazma NT-pro-BNP tokom CPET kod pacijenata sa Sintaks skorom  $\leq 23$



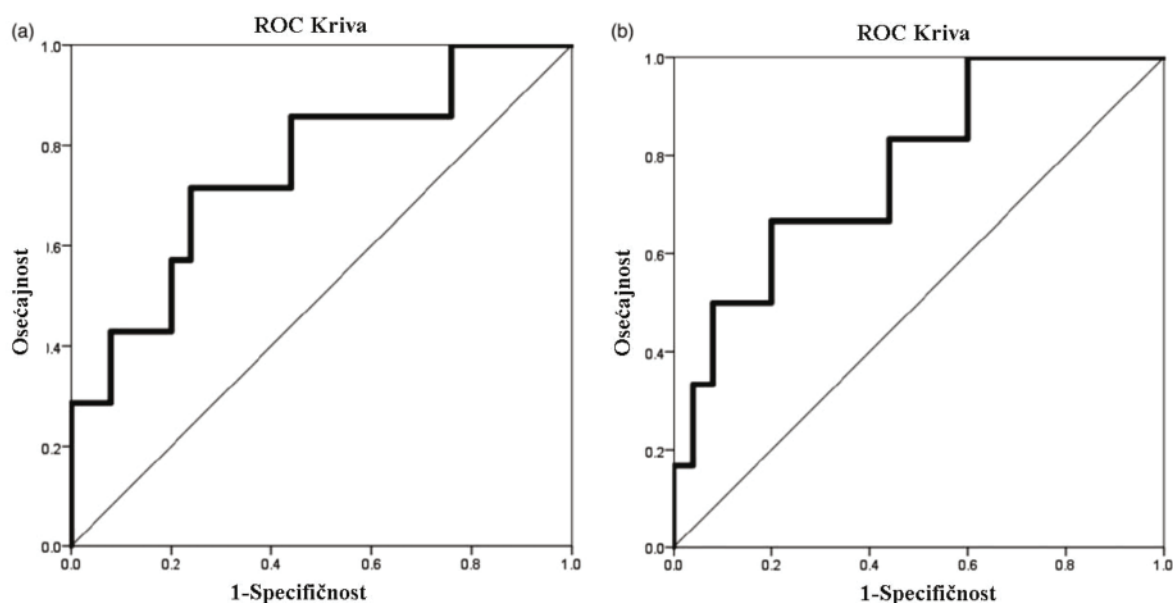
Slika 17.e Alfa – MSH tokom CPET kod pacijenata sa 1,2 CAD i 3-CAD

### 5.7. Prediktivna vrednost hormonskih varijabli za razlikovanje 1- i 2- sudovne od 3-sudovne CAD

Da bi se pronašli parametri za razlikovanje onih bolesnika sa 1- i 2- sudovnom CAD u odnosu na one sa 3-sudovnom CAD korišćena je binarna logistička regresiona analiza. Među CPET i hormonskim promenljivima uključenim u model (pik  $VO_2$ ,  $\Delta VCO_2$  oporavak/pik,  $\Delta HR$  oporavak/pik,  $\Delta VO_2/\Delta WR$ , nagib  $VE/VCO_2$ ; kortizol, ACTH, ACTH/kortizol u mirovanju, piku napora i oporavku, kao i njihove promene između faza), pokazana je najbolja prediktivna sposobnost kortizola u mirovanju, piku napora i oporavku, gde je pokazana statistička značajnost [ $p = 0.023, 0.047, 0.049$ , respektivno;  $B = -1.3, SE = 0.5, Wald = 8.6, p = 0.003, Exp(B) = 0.3$ ].

ROC analiza pokazala je najbolju prediktivnu sposobnost za kortizol u mirovanju i u fazi oporavka CPET (površina ispod ROC krive 0,75, 0,77;  $SE=0.11, 0.10$ ;  $p= .043, .04$ , respektivno). Optimalna pragovna vrednost kortizola u mirovanju za identifikaciju pacijenata sa 3-sudovnom CAD bio je  $</ 495$  nmol / l, uz Sn i Sp od 71, odnosno 76%, kako je prikazano na Slici 18a. Optimalna pragovna vrednost kortizola u fazi oporavka za identifikaciju pacijenata sa 3-sudovnom CAD iznosi  $</ 521$  nmol / l, uz Sn i Sp od 67%, odnosno 80%, kako je prikazano na Slici 18b.

Nijedna od hormonskih varijabli nije pokazala statistički značajne prediktivne vrednost za Syntax skor ( $p > 0.05$ ).



Slika 18.

- ROC analiza nivoa plazma kortizola u miru u razlikovanju 1,2-CAD u odnosu na 3-CAD (površina ispod ROC krive 0.75;  $SE = 0.11, p = 0.043$ ). Optimalna pragovna vrednost kortizola u mirovanju u identifikaciji pacijenata sa 3-CAD je  $</ \geq 495$  nmol/l, uz Sn i Sp od 71 i 76% respektivno.
- ROC analiza nivoa plazma kortizola u oporavku od CPET u razlikovanju 1, 2- sudovne CAD u odnosu na 3-sudovnu CAD (površina ispod ROC krive 0.77;  $SE = 0.10; p = 0.04$ ). Optimalna pragovna vrednost kortizola u oporavku u identifikaciji pacijenata sa 3-sudovnom CAD je  $</ \geq 521$  nmol/l, uz Sn i Sp 67% i 80% respektivno.

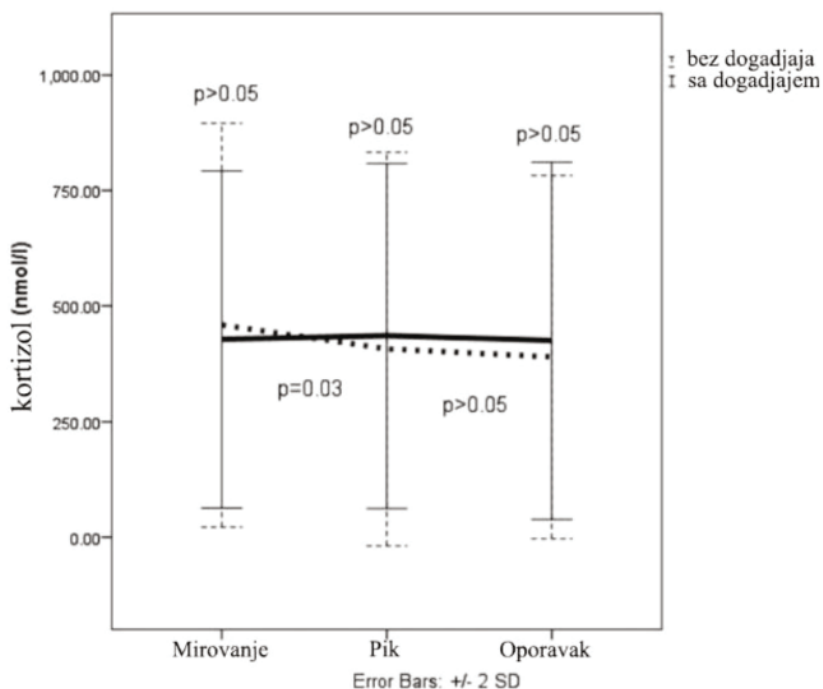
*CAD = koronarna arterijska bolest; CPET= kardiopulmonalni test opterećenja.*



### 5.8. Prediktivna vrednost hormonskih varijabli za kardiovaskularne događaje

Među CPET i svim merenim hormonskim parametrima (pik  $VO_2$ ,  $\Delta VCO_2$  oporavak/pik,  $\Delta HR$  oporavak/pik,  $\Delta VO_2/\Delta WR$ , nagib  $VE/VCO_2$ ; kortizol, ACTH, ACTH/kortizol, alfa-MSH i NT-pro-BNP u mirovanju, piku napora i oporavku, kao i njihove promene između faza), Cox analiza izdvaja kao najbolje prediktore pojave neželjenih kardiovaskularnih događaja kortizol u mirovanju, sa dostignutom statističkom značajnošću ( $B = 0.005$ ,  $SE=0.002$ ,  $Wald = 4.2$ ,  $Exp(B) = 1.005$ ,  $CI = 1.00 - 1.01$ ,  $p = 0.025$ ) i promenu alfa-MSH u oporavku ( $B = -0.5$ ,  $SE = 0.25$ ,  $Wald = 3.5$ ,  $Exp(B) = 0.6$ ,  $CI = 0.4 - 1.0$ ,  $p = 0.008$ ).

Ilustracije radi, nivoi kortizola i alfa-MSH u plazmi tokom CPET kod pacijenata koji su imali kardiovaskularni događaj ili su bili bez kardiovaskularnih događaja tokom perioda praćenja od  $32 \pm 10$  meseci nisu se značajno razlikovali u mirovanju, vrhuncu napora i tokom oporavka nakon CPET-a ( $p > 0.05$ ). Međutim,  $\Delta$ kortizol pik/mirovanje je bio značajno niži kod pacijenata koji su imali kardiovaskularni događaj ( $p = 0.03$ , veličina efekta 1.6), kao što je prikazano na Slici 19.



Slika 19.

- Nivoi kortizola u plazmi tokom CPET kod pacijenata sa kardiovaskularnim događajem i kod pacijenata bez kardiovaskularnih događaja tokom  $32 \pm 10$  meseci praćenja. Vrednosti su izražene kao srednja vrednost  $\pm$  SD.
- Nivoi alfa-MSH u plazmi tokom CPET kod pacijenata sa kardiovaskularnim događajem i kod pacijenata bez kardiovaskularnih događaja tokom  $32 \pm 10$  meseci praćenja. Vrednosti su izražene kao srednja vrednost  $\pm$  CI.

CAD = koronarna arterijska bolest; CPET= kardiopulmonalni test opterećenja

## 6. DISKUSIJA

Trenutna studija pokazala je da pacijenti sa težom/ozbiljnijom CAD pokazuju produženo smanjenje  $VO_2$  i  $VCO_2$  posle 3 min TM CPET, kao i HR nakon 3 min testiranja na RE. Pokazana je visoka prediktivna vrednost parametara  $\Delta VCO_2$  oporavak/ maksimum i  $\Delta VO_2$  oporavak/ maksimum za procenu težine CAD, kao i za količinu ishemijske tokom napora.

Štaviše, pokazana je vrednost parametra  $\Delta VO_2$  oporavak/ maksimum dobijena na TM u predikciji kompozitnih krajnjih tačaka kumulativnih srčanih događaja i smrtnih ishoda.

Dakle, superiornost analize gasnih parametara tokom oporavka i promena ST segmenta i HR, dokazali su dijagnostičku i prognostičku vrednost CAD.

Sadašnja otkrića pokazuju da pacijenti sa težim oblicima CAD pokazuju viši nivo kortizola u plazmi u mirovanju, vrhuncu napora prilikom vežbanja i u oporavku od vežbanja, kao i niže vrednosti ACTH u plazmi u mirovanju i vrhuncu napora prilikom vežbanja, sa sličnim obrascem promene. Pored toga, odnos kortizol/ACTH bio je veći u fazi odmora kod ispitanika sa 3-sudovnom CAD u poređenju sa onima sa 1- i 2-sudovnom CAD. Kortizol u mirovanju i oporavku nakon CPET je pokazao najbolju prediktivnu vrednost za procenu težine CAD-a, i to bolju nego NT-pro-BNP i CPET parametri.

### 6.1. Osnov upotrebe kardiopulmonalnog testa opterećenja u dijagnostikovanju CAD

Pokazano je dodatak gasnih analiza standardnom testu opterećenja poboljšava dijagnostičku vrednost testa za CAD, kao i da je razlog za bolju dijagnostičku vrednost CPET-a u poređenju sa standardnim testom opterećenja je sposobnost CPET-a da detaljnije detektuje opšte fiziološko odstupanje i metaboličke promene (*Belardinelli i sar., 2003*) Belardinelli i sar. pokazali su prednosti CPET-a u odnosu na standardne testove opterećenja u otkrivanju CAD-a kroz svoju studiju sprovedenu koristeći test opterećenja izveden na biciklu u uspravnom položaju (*Belardinelli i sar., 2003*). U međuvremenu, naša prethodna istraživanja pokazala su da kardiopulmonalni test opterećenja izveden na tredmilu (TM CPET) omogućava uočljiviju pojavu ishemijske miokarda indukujući veću metaboličku potražnju, čineći je, sve u svemu, potencijalno boljim pristupom za procenu težine CAD (*Popovic i sar., 2019*). Shodno tome, ventilatorna efikasnost, merena kroz nagib  $VE/VCO_2$  predložena je kao dijagnostički i prognostički marker ishemijske bolesti srca (*Popovic i sar., 2019*).

### 6.2. Patofiziološka osnova dijagnostičkih i prognostičkih performansi analize gasnih parametara tokom oporavka u CAD-u

Period oporavka nakon vežbanja karakteriše snižavanje vrednosti kardiopulmonalnih parametara kao što su HR,  $VO_2$  i  $VCO_2$ , što je verovatno manifestacija vaguesne reaktivacije (*Fletcher i sar., 2013; Hoshi i sar., 2016; American Thoracic Society, American College of Chest Physicians, ATS/ACCP statement on cardiopulmonary exercise testing, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 167 (2) (2003) 211–277*). Pronađeno je da je kinetika ovih varijabli u fazi oporavka takođe povezana sa oporavkom energetske zaliha u aktivnim mišićima (*Korzeniewski i Rossiter, 2015; Cohen-Solal i sar., 1995*).

Postoji direktna veza između koncentracije laktata u krvi dostignute tokom intenzivne vežbe i količine unetog kiseonika koji je potreban za njegovu oksidaciju, poznate kao kiseonični ( $O_2$ ) dug koji će biti otplaćen tokom perioda oporavka (*Wasserman i sar., 2005*). Tako, gasna razmena u oporavku reprezentuje ćelijsku respiraciju tokom vežbanja koja je u sprezi sa kardiovaskularnim i ventilatornim regulatornim mehanizmima (*Wasserman i sar., 2005*). Kao što su prethodne studije pokazale, parametar HR u oporavku opada sporije kod pacijenata sa CAD u poređenju sa zdravom populacijom i poseduje snažnu prognostičku moć (*Fletcher i sar., 2013; Bourque i Beller, 2015; Kiviniemi i sar.,*

2015; Cole i sar., 1999; Gayda i sar., 2012). S obzirom na ovu činjenicu mi smo pretpostavili da je otpлата kiseoničnog duga produžena u ovih pacijenata uporedo sa odloženim oporavkom energetske zaliha u perifernim mišićima i da je kinetika oporavka  $VO_2$  i  $VCO_2$  posle vežbanja specifičan pokazatelj cirkulatornog odgovora tokom vežbanja. Osim toga, HR u ranoj fazi nakon vežbanja, u prvom minutu oporavka, pokazuje robustnu prognostičku vrednost (Fletcher i sar., 2013; Bourque i Beller, 2015; Kiviniemi i sar., 2015; Cole i sar., 1999; Gayda i sar., 2012).

Znajući da je oporavak energetske rezervi i otpлата kiseoničnog deficita najintenzivnija tokom prvih 30 s nakon vežbanja i da potpuni oporavak energetske rezervi i acido-bazni status, kao i preuzimanje  $O_2$ , može trajati nekoliko minuta i nastavlja se čak 24 h posle vežbanja visokim intenzitetom, kako bi se postigli nivoi kakvi su bili pre vežbanja (Wasserman i sar., 2005; Hoshi i sar., 2016; Korzeniewski i Rossiter, 2015), mi smo proizvoljno izabrali period od 3 min oporavka za našu analizu. Zaista, pacijenti u ovoj studiji sa težom CAD su pokazali usporeno smanjenje  $VO_2$  i  $VCO_2$  u fazi oporavka.

Prethodne studije su pokazale produženu kinetiku  $VO_2$  ili  $VCO_2$  tokom oporavka od maksimalnog intenziteta vežbanja kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom, što je objašnjeno neadekvatnošću cirkulatornog odgovora na vežbanje i odloženim oporavkom udarnog volumena nakon vežbanja, kao i sporijom kinetikom oporavka energetske zaliha mišića (Tanabe i sar., 2000; Pavia i sar., 1999). Međutim, koliko znamo, samo jedna studija prikazala je ovaj fenomen u maloj CAD kohorti i nije uspela da dokaže značajne promene parametra  $VO_2$  i kinetike oporavka u poređenju sa očigledno zdravom kohortom (Pavia i sar., 1999).

Poznato je da ishemiju karakteriše pad koncentracije kiseonika u tkivima i brza konverzija iz aerobnog u anaerobni metabolizam, sistemska proizvodnja laktata i posledična acidoza (Crossman, 2004). Mlečna kiselina se, stoga, zadržava u mišićima razlažući bikarbonate i dovodeći do porasta  $CO_2$  koncentracije u krvi, što dovodi do višestruko ubrzane ventilacije pokrenute aktivacijom perifernih i centralnih hemoreceptora, kao i metaboreceptora skeletnih mišića (Schmidt i sar., 2005). Oksidativna energija dobijena iz prevođenja piruvata u laktat može se smatrati glavnim uzrokom ukupnog deficita  $O_2$  u ishemičnom stanju i mora se otplatiti tokom perioda oporavka od vežbanja kao kiseonični dug, koji deluje kao glavni faktor uticaja na ventilatorni odgovor nakon vežbanja (Wasserman i sar., 2005).

S obzirom da stepen ishemije diktira kako nivo laktata, tako i potrošnju glukoze (Crossman, 2004; Lopaschuk i Stanley, 1997), razumno je da pretpostavimo da je ozbiljnost CAD usko povezana sa ventilatornim odgovorom u periodu oporavka. Ovo može biti objašnjenje za niži stepen  $CO_2$  smanjenja u oporavku od vežbanja kod pacijenata sa 3-sudovnom CAD u poređenju sa 1-2-sudovnom CAD, kao što je pokazano ovom studijom, i visokom prediktivnom vrednošću  $\Delta VCO_2$  oporavak / pik za težinu CAD kao i za količinu ishemije tokom napora.

Dodatni mehanizam koji objašnjava ovaj zaključak može biti održavanje smanjenog udarnog volumena zbog smanjene kontraktibilnosti i, posledično, smanjenog minutnog volumena u toku perioda oporavka, u skladu sa težinom CAD (Koike i sar., 1990) izazivajući metaboličke promene povećanja nivoa  $CO_2$  u krvi (Crossman, 2004; Lopaschuk i Stanley, 1997). i smanjenje protoka krvi koje ograničava povratak  $CO_2$  prema plućima, što produžava eliminaciju  $CO_2$ . Pored toga, generalizovana vazokonstrikcija posredovana stimulacijom metaboreceptora skeletnih mišića, centralnih i perifernih hemoreceptora usled metaboličkih promena i baroreceptora usled smanjenog minutnog volumena, čemu sledi dalje smanjenje udarnog volumena (Crossman, 2004; Schmidt i sar., 2005) dovodi do abnormalnog ventilacionog odgovora. Osim toga, uticaj promenjenog oslobađanja endotelne vazodilatatora (na pr. NO, prostaciklini), zbog endotelne disfunkcije, i konstriktorni efekat kateholamina na sistemske i pulmonalne arterijske vaskulature tokom stresa i vežbanja kod pacijenata sa ishemijskim poremećajima, faktori su čiji se doprinos ne može zanemariti (Guazzi i sar., 2014).



Poznato je da na kinetiku oporavka HR utiče fizička kondicija, položaj tela, vrsta vežbanja, hipoksija, metabolički poremećaji, vaskularni volumen ili periferni otpor, ventrikularna disfunkcija, volumen krvi, funkcija sinusnog čvora i upotrebljavani lekovi (Fletcher i sar., 2013; Okutucu i sar., 2016). Kako je  $VO_2$ , prema Fickovoj jednačini, trenutni proizvod minutnog volumena, tj. HR pomnožen sa udarnim volumenom, i arteriovenskom razlikom kiseonika, nije iznenađujuće što na kinetiku oporavka  $VO_2$ , koja je, izgleda, u korelaciji sa kiseoničnim dugom nakon vežbanja te se stoga koristi kao indeks oksidativnog kapaciteta (Wasserman i sar., 2005; Nanas i sar., 2001), utiču isti faktori. Shodno tome, pokazano je da kinetika oporavka  $VO_2$  može biti izmemenjena treningom (Georgantas i sar., 2014) prisustvom hronične opstruktivne bolesti pluća (Baty i sar., 2016) i srčane insuficijencije (Pavia i sar., 1999). Štaviše, pokazano je da kod pacijenata sa blagom disfunkcijom leve komore postoji porast arteriovenske razlike kiseonika nakon vežbanja, opadajući ispod vrednosti u miru nakon trećeg minuta oporavka, zbog preraspodele krvotoka u regije koje nisu dominantno pod uticajem fizičkog vežbanja, a što je izazvano metaboličkom acidozom ili vazokonstrikcijom pod dejstvom simpatikusa (Sumimoto i sar., 1993). Ovaj nalaz ukazuje na to da je protok krvi tokom oporavka u ovih pacijenata neadekvatan za potrebe kiseonika u celom telu, što dovodi do produžene kinetike oporavka  $VO_2$ . Takođe, ovaj neadekvatan protok krvi dovodi do produženog vremena cirkulacije između perifernih mišića i usta, a takođe i neusaglašenosti venskog priliva i minutnog volumena, što značajno utiče na kinetiku  $VO_2$  nakon vežbanja (Tanabe i sar., 2000). S obzirom na ove nalaze, ne iznenađuje podatak da parametar  $VO_2$  u oporavku pokazuje prognostičku vrednost za kardiovaskularne događaje - smrt, transplantaciju srca i implantaciju mehaničke potpore srca kod teške srčane insuficijencije, čak i veću od parametra  $VO_2$  u piku vežbanja (Fortin i sar., 2015).

S obzirom da smanjenje udarnog volumena i generalizovana vazokonstrikcija karakterišu ishemijsko stanje, kinetika  $VO_2$  u oporavku može takođe imati prediktivnu moć za težinu i prognozu CAD, značajniju od HR u oporavku, s obzirom na to da predstavlja ne samo promene minutnog volumena tokom oporavka od vežbanja nego i kompleksne periferne metaboličke procese celog tela (Hoshi i sar., 2016; Korzeniewski i Rossiter, 2015; Wasserman i sar., 2005; Tanabe i sar., 2000). Ova studija pokazala je da pacijenti sa težom CAD pokazuju produženo smanjenje  $VO_2$ ,  $VCO_2$  posle trećeg minuta oporavka nakon TM CPET, kao i produženo smanjenje srčane frekvence nakon RE CPET. Pokazana je prediktivna vrednost  $\Delta VO_2$  oporavak/pik i  $\Delta VCO_2$  za težinu CAD, kao i za količinu ishemije tokom napora.

Štaviše, pokazana je vrednost parametra  $\Delta VO_2$  oporavak/maksimum dobijena na TM u predikciji kumulativnih srčanih događaja i smrtnog ishoda.

Kaplan-Meier analiza nije uspela da odredi statistički značajan prediktor kumulativnih srčanih događaja, međutim Cox regresiona analiza izdvaja  $\Delta VO_2$  oporavak/pik dobijen tokom TM CPET kao potencijalno koristan parametar. Dakle, superiornost analize gasnih parametara tokom oporavka i promena ST segmenta i HR, dokazali su dijagnostičku i prognostičku vrednost u CAD (Bourque i Beller, 2015; Kiviniemi i sar., 2015; Cole i sar., 1999.).

### **6.3. Odgovori na TM CPET I RE CPET tokom oporavka u pacijenata sa CAD**

Studija je pokazala da samo parametri dobijeni tokom TM CPET u fazi oporavka ukazuju na značajne razlike u 1- i 2- sudovnoj u odnosu na 3-sudovnu CAD, osim parametra HR, verovatno zbog veće mehaničke stabilnosti u detekciji HR tokom RE CPET. Sa druge strane, prema podacima iz prethodnih studija, gotovo isključivo se preporučuje izvođenje CPET na biciklu u dijagnostici CAD (Belardinelli i sar., 2003; Guazzi i sar., 2016). Sprovedene su brojne studije koje su poredile fiziološke odgovore tokom TM CPET i RE CPET, uključujući i gasne analize, gde su dobijeni različiti rezultati (Muscat i sar., 2015; Hsia i sar., 2009; Mathur i sar., 1995), međutim, kinetika  $VO_2$  i  $VCO_2$  tokom oporavka u različitim modalitetima testiranja je još uvek nedovoljno ispitana (Sousa i sar., 2015).



Postoji polemika da li oštećen oksidativni kapacitet ili smanjena isporuka kiseonika tkivima započinju proces proizvodnje mlečne kiseline, te je moguće da oba procesa, tip regrutovanih mišićnih vlakana i neravnoteža između snabdevanja kiseonikom i oksidativnog metabolizma, doprinose porastu mlečne kiseline sa povećanjem intenziteta vežbanja, za koji se čini da je moćan diskriminator statusa obolelih i ne-oboelih od CAD (*Barthélémy i sar., 1996*). Tokom TM testiranja, opsežna upotreba oksidativnih metaboličkih puteva iz različitih mišićnih grupa koje su angažovane dovodi do višeg nivoa desaturacije (*Mathur i sar., 1995; Bijker i sar., 2002*). Srce se izlaže hipoksiji, što je izgleda važna prednost u izazivanju ishemije miokarda tokom testiranja na TE. Sa druge strane, tokom protokola na biciklu postoji dominantna upotreba anaerobnih metaboličkih puteva (*Bijker i sar., 2002*), stoga visoke koncentracije laktata, ne predstavljaju nužno sistemsku ishemiju i nedostatak isporuke kiseonika koje bi pripisali oštećenju srčane funkcije. Izgleda da ispitivanje na TM u poređenju sa ispitivanjem na RE, rezultuje većim ukupnim metaboličkim opterećenjem, što uključuje potrebu da srce isporuči više kiseonika, omogućavajući uočljiviji nastanak ishemije. Dakle, CPET na tredmilu se čini pouzdanijim u proceni ozbiljnosti i prognozi CAD u poređenju sa RE.

Uzimajući u obzir činjenicu da angiografski kvantifikovana CAD i potonja revaskularizacija ne dovode nužno do poboljšanog ishoda (*Boden i sar., 2007*), nesporna je potreba za poboljšanjem neinvazivnih dijagnostičkih procedura u smislu preciznije karakterizacije funkcionalnih posledica ishemije miokarda. Potencijalna dijagnostička korisnost CPET-a kao objektivne, kvantitativne, sigurne i efikasne metode je obećavajuća. Analiza parametara razmene gasova u trećem minutu nakon završetka CPET-a na TM ( $\Delta V\text{O}_2$  oporavak/pik i  $\Delta V\text{CO}_2$  oporavak/pik), može promeniti perspektivu u pogledu prognoze i upravljanja koronarnom bolešću.

#### **6.4. Vežbanje kao akutni stress model i uloga hormona**

Endokrini sistem igra ključnu ulogu tokom uslova stresa kao i tokom fizičke aktivnosti, koja se može koristiti kao kontrolisani model akutnog laboratorijskog stresa (*Lightman, 2008*). Test opterećenja se dakle smatra modelom akutnog stresa, tokom koga se luče stres hormoni, a pretpostavka ovog rada je da se odgovor stres hormona na vežbanje može razlikovati u zavisnosti od težine CAD i, shodno tome, odgovori mogu biti povezani sa budućim srčanim događajima.

Takođe, stres hormoni igraju ulogu i u hroničnoj adaptaciji na stres (*Lightman, 2008*), i utiču na endokrini, metabolički, imunološki, neurološki i kardiovaskularni odgovor na stresnu situaciju (*Cain i Cidlowski, 2017; Herman i sar., 2016; Lightman, 2008; Lundberg i sar., 2016*). Ipak, ovi efekti još uvek nisu u potpunosti rasvetljeni. U protekloj deceniji se pokazalo da dugotrajno aktiviranje sistema stresa povećava rizik za gojaznost i srčane bolesti (*Bergh i sar., 2015; Boss i sar., 2015; Malan i sar., 2017; Pivonello i sar., 2016; van Ockenburg i sar., 2016; van Reedt Dortland i sar., 2013; i sar., 2016*). Štaviše, dugoročna aktivacija stres sistema može dovesti čak i do prevremenog mortaliteta (*Pompili i sar., 2010*).

Aktivacija stres sistema podrazumeva lučenje kortikotropin oslobađajućeg hormona iz hipotalamusa, koji predstavlja stimulans za sekreciju pro-opiomelanokortina (POMC) iz hipofize (*Herman i sar., 2016*). POMC je prekursorski peptid ACTH, koji delimično reguliše lučenje kortizola u nadbubrežnim žlezdama (*Herman i sar., 2016*). Tokom akutnog stresa, gubi se cirkadijalna periodičnost sekrecije ACTH, tako da je nivo plazma ACTH pouzdana mera akutnog stresa, za razliku od kortizola, koji više predstavlja meru hroničnog stresa i ima zaštitnu ulogu (*Bernard i sar., 2017; Boss i sar., 2015; Malan i sar., 2017; Lightman, 2008*). Veza između stresa, kortizola i CAD je široko istraživana (*Bhattacharyya i sar., 2008; Malan i sar., 2017; Neary i sar., 2013; Ronaldson i sar., 2015*), te je utvrđeno da su povišeni nivoi kortizola povezani sa a većim rizikom za CAD (*Boss i sar., 2015; Neary i sar., 2013*).

Za razliku od navedenog, neke studije su pokazale niže nivoe kortizola i gubitak dnevnog ritma oslobađanja kortizola kod pacijenata sa CAD (*Malan i sar., 2017; Ronaldson i sar., 2015; Waller i*

sar., 2016). Nivo hormona stresa u plazmi zavisi od vrste, trajanja i intenziteta stresa, što je dokumentovano brojnim izveštajima koji pokazuju odnos između fizičkog stresa i aktivacije stres osovine (Duclos i sar., 2003; Popovic i sar., 2013; Wittert i sar., 1996.), ali sa kontroverznim nalazima.

Neki od njih su dokumentovali porast plazma nivoa ACTH tokom akutnog stresa, praćen nepromenjenim nivoom plazma kortizola kod sportista (Duclos i sar., 2003; Wittert i sar., 1996), dok su drugi pokazali porast i ACTH i kortizola tokom fizičkog stresa, u zavisnosti od njegovog intenziteta i trajanja (Popovic i sar., 2013). Postoje izveštaji koji demonstriraju izmenjenu aktivnost stres osovine kod pacijenata sa CAD takođe i tokom akutnog stresa, ali uglavnom tokom mentalnog stresa ili stresa uzrokovanim buđenjem (Bhattacharyya i sar., 2008; Hamer i sar., 2012; Ronaldson i sar., 2015).

Takođe je pronađena zanimljiva povezanost između odgovora kortizola na mentalni stres i plazma koncentracije visokoosetljivog srčanog troponina T kod zdravih odraslih osoba (Lazzarino i sar., 2013). Međutim, iako postoje neki pokazatelji izmenjenog odgovora kortizola i ACTH tokom vežbanja kod pacijenata sa potvrđenom CAD (Letizia i sar., 1995), podaci vezani za odgovor stres osovine tokom akutnog fizičkog stresa u pacijenata sa suspektnom ili potvrđenom CAD su oskudni.

Ova studija nije pokazala značajne promene u plazma nivou ACTH i kortizola kod pacijenata kojima je dijagnostikovana CAD tokom akutnog fizičkog stresa, osim značajnog sniženja nivoa kortizola tokom oporavka, što sugerise da pacijenti sa CAD pokazuju izmenjenu reakciju hormona stresa u situacijama akutnog stresa. Takođe, nisu otkrivene razlike u odgovoru na ACTH i kortizola na akutni stres u pogledu ozbiljnosti CAD, iako su pronađene razlike u nivou kortizola u mirovanju, vrhuncu napora prilikom vežbanja i tokom oporavka od vežbanja i nivoa ACTH u odmoru i vrhuncu napora tokom vežbanja u zavisnosti od težine CAD. Ipak, odgovor kortizola tokom akutnog fizičkog stresa u odnosu na vrednosti tokom mirovanja pokazao se kao manji kod pacijenata koji nisu imali neželjene kardiovaskularne događaje tokom perioda praćenja, što je najmoćniji faktor u određivanju prognoze CAD, bolji od drugih hormonskih i CPET parametara analiziranih u ovoj studiji. Dobijeni nalaz, u skladu sa prethodnim studijama, demonstrira značajnu prognostičku vrednost hormona stresa za kardiovaskularne događaje (Guder i sar., 2015; Pivonello i sar., 2016; van Ockenburg i sar., 2016; Ronaldson i sar., 2015), podržavajući potencijalnu važnost stresa u reakciji i adaptaciji u razvoju CAD-a.

Sadašnja otkrića pokazuju da pacijenti sa težim oblicima CAD pokazuju viši nivo kortizola u plazmi u mirovanju, vrhuncu napora prilikom vežbanja i u oporavku od vežbanja, kao i niže vrednosti ACTH u plazmi u mirovanju i vrhuncu napora prilikom vežbanja, sa sličnim obrascem promene. Pored toga, odnos kortizol/ACTH bio je veći u fazi odmora kod ispitanika sa 3-sudovnom CAD u poređenju sa onima sa 1- i 2-sudovnom CAD. Kortizol u mirovanju i oporavku nakon CPET je pokazao najbolju prediktivnu vrednost za procenu težine CAD-a, i to bolju nego NT-pro-BNP i CPET parametri. Štaviše, promena odnosa kortizola pik/odmor pokazala je značajnu prognostičku vrednost za CAD. Ovo otkriće nije iznenađujuće s obzirom na visoke metaboličke zahteve tokom perioda oporavka od fizičkog stimulusa, vezan za oporavak energetske rezerve (Pavia i sar., 1999). Kod ishemičnih pacijenata ovaj proces može biti izmenjen, što nužno utiče na hormonski status (Pavia i sar., 1999).

### **6.5. Hronični stres model i uloga hormona**

Zbog ponovljene aktivacije stres osovine, hronični stres može promeniti nivoe hormona stresa u mirovanju (Gouarne i sar., 2005; Luger i sar., 1987; Malan i sar., 2017; Neary i sar., 2013; Popovic i sar., 2013). Neke studije su dokumentovale povećanje plazma nivoa hormona stresa kao što su adrenokortikotropni hormon i kortizol tokom akutnog stresa u zavisnosti od njegovog intenziteta i trajanja (Popovic i sar., 2017; Duclos i sar., 2003).



U pogledu hroničnog fizičkog stresa, na pr. pokazalo se da se statički i dinamički trening mogu povećati (Popovic i sar., 2013; Skoluda i sar., 2012) ili smanjiti nivo kortizola u mirovanju (Ammar i sar., 2017), sa povećanim ili nepromenjenim nivoima ACTH (Popovic i sar., 2013). Kod bolesnika sa CAD, prijavljeni su i povišeni i smanjeni nivoi kortizola (Boss i sar., 2015; Malan i sar., 2017; Neary i sar., 2013). Trenutna studija otkrila je povišene nivo plazma kortizola u mirovanju, kao i niže vrednosti ACTH, kod pacijenata sa težim oblicima CAD, što verovatno pokazuje veći nivo hroničnog stresa. Štaviše, pokazano je da nivo plazma kortizola u mirovanju ima prediktivnu vrednost za ozbiljnosti CAD, dodatno ističući to da hronični stres igra važnu ulogu u patogenezi CAD. Prediktivna vrednost plazma nivoa kortizola tokom faze oporavka nakon CPET-a u proceni ozbiljnosti CAD-a podržana je prethodno priznatom ulogom kortizola u regulaciji srčane frekvence i sistolnog krvnog pritiska (van Ockenburg i sar., 2016), a oba ova parametra su prethodno pokazala dijagnostičku i prognostičku vrednost za CAD (Piepoli i sar., 2016).

Hronični stres može izmeniti osetljivost stres osovine, što je pokazano kroz odnos plazma nivoa kortizol/ACTH (Duclos i sar., 2003; Luger i sar., 1987; Popovic i sar., 2014). Dostupni podaci ukazuju na to da izlaganje hroničnom fizičkom stresu smanjuje reaktivnost stress osovine zavisno od trajanja, vrste i intenziteta stresa (Duclos i sar., 2003; Luger i sar., 1987; Popovic i sar., 2014). Ovo je objašnjeno kao zaštitni mehanizam u uslovima ponavljane izloženosti stresu sa ciljem da se očuvaju energetske rezerve i telo zaštitilo od iscrpljenosti (Duclos i sar., 2003; Luger i sar., 1987; Popovic i sar., 2014.).

U ovoj studiji, odnos kortizol/ACTH bio veći u mirovanju kod pacijenata sa 3-sudovnom CAD u poređenju sa onima sa 1- i 2- sudovnom CAD. Ovo otkriće sugerise da može doći do povećane osetljivosti nadbubrežnih žlezda u bazalnim uslovima na stimulaciju ACTH kod pacijenata sa ozbiljnijom CAD, sa mogućim učešćem i drugih regulatornih mehanizama, poput autonomije nadbubrežne žlezde ili simpatičke regulacije (Lightman, 2008). Štaviše, uloga glukokortikoidnih receptora (van Moorsel i sar., 2015; Damjanovic i sar., 2013) i osetljivost ACTH receptora (Popovic i sar., 2014) ne može biti zanemarena, uzimajući u obzir genski polimorfizam i posledične metaboličke fenotipove bolesnika sa CAD. Pitanje je kompleksnije i zbog fiziološke varijabilnosti aktivacije sistema stresa (Popovic i sar., 2014).

Konačno, poznato je da se NT-pro-BNP povećava kod pacijenata sa ishemijskom bolešću srca tokom fizičkog stresa (Foote i sar., 2004). U ovoj studiji, NT-pro-BNP u mirovanju, tokom i nakon CPET-a nije pokazao potencijal u razlikovanju 1-, 2- i 3- sudovne CAD, niti u predviđanju pojave neželjenih kardiovaskularnih događaja, u statističkom modelu koji uključuje kortizol i ACTH. Čini se da aktivnost stres osovine preuzima vodeću ulogu u kvantifikaciji i prognozi CAD, i da dijagnostička i prognostička vrednost markera NT-pro-BNP u ovom slučaju može biti posledica složene interakcije hormonskih sistema, s obzirom da je poznato da je NT-pro-BNP umešan u regulaciju odgovora stres osovine na psihološke i fizičke stresore (Grimm i sar., 2016; Popovic i sar., 2013).

## 6.6. Uloga alfa MSH u stresu

Alfa-MSH je derivat POMC, hipofiznog peptida koji se izlučuje tokom aktivacije sistema stresa (Dutia i sar., 2012). Hormoni stresa igraju presudnu ulogu u adaptaciji na stres (Lightman, 2008), omogućavajući srčanoj funkciji da se prilagodi povećanim metaboličkim zahtevima koji karakterišu ovo stanje (Lightman, 2008). Stres je važan faktor u patogenezi CAD (Schnohr i sar., 2015). Pacijenti sa dijagnostikovanom CAD pokazuju izmenjenu aktivnost stress osovine; međutim, podaci su ograničeni u pogledu akutnog odgovora stres osovine kod pacijenata sa suspektom ili potvrđenom CAD različitog stepena ozbiljnosti bolesti i njihovog uticaja na prognozu daljeg toka bolesti kod ovih pacijenata (Nijm i sar., 2007; Popovic i sar., 2017). Poznato je da se stres sistem aktivira tokom vežbanja, što se može koristiti kao kontrolisani model akutnog stresa u laboratorijskim uslovima (Lightman, 2008).

Pokazalo se da alfa-MSH ima efekte na simpatičku aktivaciju u kardiovaskularnom sistemu te može uticati na sistolnu aktivnost, srčanu frekvencu, krvni pritisak i fiziološke odgovore koronarne vaskulature (*Vecsernyes i sar., 2017; Rinne, i sar., 2012; Kotsis i sar., 2015*), stoga verovatno ima ulogu u odgovoru na akutni stres. U tom kontekstu, naša studija otkrila je značajnu korelaciju između vršnih vrednosti HR i vrednosti alfa-MSH u mirovanju.

Studije na životinjama pokazale su porast alfa-MSH nakon vežbanja (*Thompson i sar., 2019; Hiramoto i sar., 2013*). Slično tome, i ova studija otkrila je povećane nivoe alfa-MSH kod pacijenata sa CAD tokom akutnog stresa, što ukazuje na potencijalnu regulatornu ulogu ovog hormona. Rezultati naše studije pokazuju da se alfa-MSH povećava tokom vežbanja, sa sličnim obrascem promene od mirovanja do vrhunca vežbanja tokom TM i RE CPET. Tokom perioda oporavka, odgovor je bio različit u skladu sa modalitetom testa vežbanja. Značajne razlike u vrednostima alfa-MSH tokom ispitivanja kod pacijenata sa različitim stepenom težine CAD nisu pronađene. Alfa-MSH u mirovanju korelirao je sa HR u vrhuncu napora tokom vežbanja, a alfa-MSH u oporavku nakon CPET korelirao je sa  $VO_2$  u oporavku i nagibom  $VE/VCO_2$  na TM CPET. Promena alfa-MSH oporavak/pik tokom RE CPET pokazala se kao najbolji prediktor pojave srčanih događaja među CPET i hormonskim parametrima.

U ovoj studiji, odgovor alfa-MSH bio je sličan u miru i na vrhuncu napora na RE i TM CPET, međutim, tokom oporavka od TM CPET, alfa-MSH je bio povišen. Period oporavka nakon vežbanja dovodi do povećanih ventilacionih i metaboličkih potreba u odnosu na mirovanje, koje karakterišu oporavak zalih energije i nadoknađivanje deficita  $O_2$  (*Korzeniewski i Rossiter, 2015*). Poslednja dva procesa su najintenzivnija tokom prvih 30s nakon vežbanja, dok potpuni oporavak može trajati i 24 sata nakon vežbanja visokog intenziteta do postizanja vrednosti od pre započinjana vežbanja (*Hoshi i sar., 2016*), stoga smo proizvoljno izabrali treći minut oporavka nakon testiranja za naše istraživanje.

Značajna korelacija plazma nivoa alfa-MSH u oporavku sa  $VO_2$  u oporavku i nagibom  $VE/VCO_2$  tokom TM CPET je u skladu sa već poznatom ulogom alfa-MSH u energetske homeostazi, a moguće i u skladu sa zahtevima u ishemiji (*Dutia i sar., 2012; Vecsernyes i sar., 2017; Kravchychyn i sar., 2019*). Čini se da produžena otplata kionsičnog deficita u uslovima veće količine ishemije kod pacijenata sa CAD dodatno stimuliše sekreciju alfa-MSH.

Bez obzira na to, uloga koju alfa-MSH igra u CAD može se pripisati njegovoj neuroimunomodulatornoj ulozi, jer inflamacija predstavlja važan faktor u patogenezi CAD (*Schnohr i sar., 2015*). Dobro je poznato da je ovaj hormon u stanju da zaštiti od ishemijske i reperfuzione povrede kardiovaskularnog tkiva (*Vecsernyes i sar., 2003*). Zaštita miokarda povezana je sa smanjenim markerima sistemske i lokalne inflamacije, uključujući sadržaj citokina i aktivnost mijeloperoksidaze (*Catania i Lipton, 1994; Vecsernyes i sar., 2003; Getting i sar., 2004; Airaghi i sar., 1995*).

U pogledu prognoze CAD, periodu oporavka od vežbanja posvećuje se sve veća pažnja poslednjih godina (*Fletcher i sar., 2013*). Parametri koji konzistentno pokazuju jaku prognostičku vrednost kod pacijenata sa poznatom CAD jesu brzina promene ST segmenta fazi oporavka, sistolni arterijski krvni pritisak i srčana frekvencija (*Fletcher i sar., 2013*). Pokazalo se da je  $VO_2$  tokom oporavka jači prognostički marker od  $VO_2$  u vrhuncu napora tokom vežbanja (*Kravchychyn i sar., 2019*).

Naša studija je ilustrovala prediktivnu vrednost parametra alfa-MSH oporavak/pik, koji je nadmašio prediktivnu vrednost već dobro utvrđenih prognostičkih parametara. Ovo otkriće potkrepljeno je njegovom poznatom ulogom u regulaciji hormona, srčane frekvence i sistolnog krvnog pritiska, koji su prethodno pokazali dijagnostičku i prognostičku vrednost za CAD (*Fletcher i sar., 2013*), ali i njegovom ulogom u energetske homeostazi i inflamaciji (*Dutia i sar., 2012; Vecsernyes i sar., 2017; Catania i Lipton, 1994; Vecsernyes i sar., 2003; Getting i sar., 2004; Airaghi i sar., 1995; Kravchychyn i sar., 2019*).



Sve u svemu, veruje se da je alfa-MSH važan faktor u patogenezi i upravljanju koronarnom bolešću. Međutim, tretiranje CAD koristeći snagu hormona stresa nije našlo dijagnostički i terapijsko mesto kakvo zaslužuje, verovatno zbog trenutne nemogućnosti tačne kvantifikacije hormona stresa, kao i nedostatka standardnih pristupa lečenju.

## 7. OGRANIČENJA

CPET parametri  $VO_2$  i  $VCO_2$  se lako mogu dobiti i interpretirati, međutim kinetika oporavka zavisi od statusa utreniranosti (*Georgantas i sar., 2014*), a može biti izmenjena u određenim patološkim stanjima, uključujući srčanu insuficijenciju i bolesti respiratornih organa (*Georgantas i sar., 2014; Baty i sar., 2016; Pavia i sar., 1999*).

Iz navedenih razloga specifičnost za izmerene vrednosti  $VO_2$  i  $VCO_2$  u kvantifikaciji i prognozi CAD može biti manja u prisustvu drugih bolesti. Stoga su neophodna dodatna istraživanja sprovedena u većoj populaciji pacijenata sa CAD da bi dobili preciznije informacije o dijagnostičkom i prognostičkom potencijalu CPET parametara u oporavku. Štaviše, analiza kinetike CPET parametara u oporavku u pacijenata sa ishemijskim bolestima bi najverovatnije bila informativnija ako bi se koristio standardni metod za procenu parametara kinetike oporavka, kao što su protokoli sa kontinuiranim opterećenjem (*Wasserman i sar., 2005*).

Zbog kratkog perioda praćenja u našoj studiji, ishodi su isključivo podrazumevali broj hospitalizacija, učestalost infarkta miokarda i revaskularizacija, koje su u vezi sa težinom CAD i prognozom bolesti. Dodatno, s obzirom da je jedan od uključujućih kriterijuma ove studije prisutna značajna lezija koronarne arterije ( $\geq 50\%$ ) utvrđeno nalazom koronarne angiografije, većina pacijenata koji su učestvovali u našoj studiji je morala da se podvrgne koronarnoj revaskularizaciji. Klinička ispitivanja većeg obima i sa dužim periodom praćenja su neophodna da bi se implementirala rutinska primena hormona stresa za kvantifikaciju CAD i za utvrđivanje težine i prognoze CAD. Štaviše, analiza kinetike CPET parametara u oporavku u pacijenata sa ishemijskim bolestima bi najverovatnije bila informativnija ako bi se koristio standardni metod za procenu parametara kinetike oporavka, kao što su protokoli sa kontinuiranim opterećenjem (*Wasserman i sar., 2005*).

Takođe, komplikovano je utemeljiti analizu hormona stresa u predviđanju ozbiljnosti i prognoze CAD s obzirom na njihovu zavisnost od fiziološke varijabilnosti aktivacije sistema stresa, od starosti, pola, rase, genetskih faktora, ishrane, psiholoških faktora i fizičke aktivnosti (*Bergh i sar., 2015; Bernard i sar., 2017; Boss i sar., 2015; Garrido, 2011; Lightman, 2008; Popovic i sar., 2013, Popovic i sar., 2014; Wittert i sar., 1996*).

Štaviše, protokol studije je definisan uzimajući u obzir i cirkadijalnu varijabilnost kortizola, međutim tačno vreme buđenja nije bilo moguće utvrditi. Dalje, oslobađanje hormona stresa može biti izmenjeno u prisustvu drugih bolesti, poput dijabetesa (*Zahn i sar., 2015*). Plazma nivoi kortizola su povišeni u prisustvu insulinske rezistencije i sam nivo kortizola utiče na osetljivost na insulin (*Joseph i Golden 2016*). U akutnom stresu, kortizol dovodi do oslobađanja glukoze, aminokiselina i slobodnih masnih kiselina obezbeđujući njihovu dostupnost za mitohondrijsku oksidaciju. Glukokortikoidi smanjuju iskorišćavanje glukoze, istovremeno povećavajući procese glukoneogeneze u jetri, razgradnje proteina u mišićima i lipolize masnog tkiva putem tkivno specifičnog smanjenja osetljivosti na insulin, očigledno putem uticaja autonomnog nervnog sistema (*Verbene i sar., 2014; Yi i sar., 2012*). U ovoj studiji dijabetes je bio prisutan kod 40% pacijenata, međutim, niko od pacijenata nije imao manifestovane neuropatske promene koje bi mogle direktno uticati na sekreciju kortizola (*Verbene i sar., 2014*). Sve zajedno, odnos između lučenja kortizola i osetljivosti na insulin je veoma složen, te odvojene analize odgovora kortizola kod dijabetičara i nedijabetičara ne bi bile prikladne.

Iako u ovoj studiji dominantno nije bilo aktivnih pušača te se akutni uticaj pušenja na status stres hormona ne smatra značajnim, odloženi uticaj prethodnog konzumiranja cigareta na aktivaciju stres osovine ne može biti decidno određen (*Herbison i sar., 2016*).

## 8. ZAKLJUČAK

Promena u nivou kortizola i ACTH tokom CPET nije pokazala statističku značajnost, ipak kortizol je pokazao značajan pad plazma nivoa tokom faze oporavka od testa. Ispitanici sa 1- i 2- sudovnom CAD su pokazali statistički značajno niži nivo kortizola u plazmi u mirovanju, na vrhuncu napora, i oporavku od CPET, ali promene između faza nisu bile značajnije različite u poređenju sa ispitanicima sa 3-sudovnom CAD.

Nije bilo statistički značajnih razlika u odgovoru kortizola kod ispitanika prema Syntax skor  $\leq 23$ . Nije bilo statistički značajnih razlika u odgovoru ACTH kod pacijentima sa 1- i 2- sudovnom CAD u odnosu na pacijente sa 3-sudovnom CAD, ali ispitanici sa Syntax skorom  $< 23$  pokazuju značajno veće vrednosti ACTH u mirovanju i maksimumu CPET, dok nije bilo razlika pri oporavku i u promenama između faza CPET-a.

Odnos kortizola i ACTH u plazmi bio je značajno niži u mirovanju kod ispitanika sa 1- i 2- sudovnom CAD u odnosu na pacijente sa 3-sudovnom CAD. Alpha-MSH pokazuje povećanje tokom CPET sa sličnim obrascem promene od mira do vrhunca vežbanja na oba modaliteta testa- tredmilu i biciklu, ali sa različitim obrascem tokom perioda oporavka nakon testiranja; gde se tokom oporavka alfa-MSH vrednosti snižavaju. Nije bilo značajnih razlika ni u jednom od merenja alfa-MSH među pacijentima sa 1, 2-SCA i 3-SCA, niti među pacijentima sa Syntax skorom  $< 23$  i  $\geq 23$ . NT-pro-BNP odgovor tokom CPET-a nije se značajno razlikovao kod ispitanika sa različitim brojem SCA ili vrednošću Syntax skora.

Među značajnim CPET i hormonskim parametrima, najbolju prediktivnu vrednost za težinu CAD, u smislu broja stenotičnih koronarnih arterija, ima kortizol u mirovanju i oporavku od napora. Optimalna pragovna vrednost kortizola u mirovanju za identifikaciju pacijenata sa 3-sudovnom CAD je  $\leq 495$  nmol/l, uz Sn i Sp od 71, odnosno 76%, a optimalna pragovna vrednost kortizola u fazi oporavka za identifikaciju pacijenata sa 3-sudovnom CAD je  $\leq 521$  nmol/l, uz Sn i Sp od 67%, odnosno 80%. Nijedna od hormonskih varijabli nije pokazala statistički značajnu prediktivnu vrednost za Syntax skor.

Najbolju prognostičku vrednost u smislu pojave neželjenih kardiovaskularnih događaja imaju plazma nivo kortizola u mirovanju i promena alfa-MSH oporavak/pik. Dok alfa-MSH nije uspeo da ukaže na razliku između pacijenata sa različitom težinom CAD, pokazuje snažnu prediktivnu vrednost za pojavu neželjenih srčanih događaja, bolju nego svu ostali hormonski parametri, ali i parametri CPET.

Parametri CPET u oporavku imaju prediktivnu vrednost za procenu težine i prognoze CAD, najverovatnije zahvaljujući njihovoj sposobnosti da detektuju kako hemodinamske, tako i metaboličke promene.

$\Delta VCO_2$  oporavak/pik i  $\Delta VO_2$  oporavak/pik dobijeni nakon trećeg minuta od završetka CPET na tredmilu, kao objektivni parametri, pokazali su prediktivnu vrednost u razlikovanju 1- i 2- sudovne u odnosu na 3-sudovnu CAD, što je važno za planiranje invazivne terapijske strategije. Za  $\Delta VCO_2$  oporavak/pik dobijen tokom TM CPET optimalna vrednost praga za identifikovanje pacijenata sa 3-sudovnom je CAD  $\geq -0,76$  l/min (Sn 87.5%, Sp 70.4%), a za  $\Delta VO_2$  oporavak/pik  $\geq -12,5$  ml•kg<sup>-1</sup>•min<sup>-1</sup> (Sn 75.0%, Sp 77.8%).

Dok rezerva HR i pojava ST depresije tokom CPET na tredmilu i biciklu, u ovoj studiji nisu pokazali značajnu prognostičku vrednost za pojavu neželjenih kardiovaskularnih događaja,  $\Delta VO_2$  oporavak/pik dobijen nakon trećeg minuta od završetka testiranja na tredmilu pokazao se kao dobar prognostički parametar. Vrednost praga  $\geq -12.7$  ml / kg-1/min-1, imala je Sn i Sp od 91.3%, odnosno 80.0% za identifikovanje bolesnika koji će razviti neželjeni kardiovaskularni događaj u odnosu na one koji neće.

Nalazi dobijeni u ovoj studiji ukazuju na veliki značaj evaluacije faze oporavka od stresa u proceni težine i stratifikaciji rizika bolesnika sa CAD, još jednom demonstrirajući superiornost gasnih analiza u odnosi na parametre standardnog testa opterećenja.

Dodatno, u poređenju sa testom sprovedenim na ležećem ergobiciklu, izgledno je da testiranje na tredmilu ima veće ukupne metaboličke zahteve, što omogućava lakšu uočljivost pojave miokardne ishemije, čineći test na tredmilu uz praćenje gasnih analiza u oporavku boljim pristupom za kvantifikaciju i prognozu CAD.

Hormonske analize pomažu da preciznije kvantifikujemo stres i njegovu ulogu u dijagnostikovanju i stratifikaciji rizika CAD, što može voditi razvoju novih hormonskih terapijskih pristupa u prevenciji ili umanjenu progresije koronarne bolesti putem redukcije stresa.



## 9. LITERATURA

1. Acheson A, Conover JC, Fandl JP, DeChiara TM, Russell M, Thadani A, Squinto SP, Yancopoulos GD, Lindsay RM. A BDNF autocrine loop in adult sensory neurons prevents cell death. *Nature*. 1995 Mar 30;374(6521):450-3. doi: 10.1038/374450a0. PMID: 7700353.
2. Aguilera G, Harwood JP, Wilson JX, Morell J, Brown JH, Catt KJ. Mechanisms of action of corticotropin-releasing factor and other regulators of corticotropin release in rat pituitary cells. *J Biol Chem*. 1983 Jul 10;258(13):8039-45. PMID: 6305967.
3. Airaghi L, Lettino M, Manfredi MG, Lipton JM, Catania A. Endogenous cytokine antagonists during myocardial ischemia and thrombolytic therapy. *Am Heart J*. 1995 Aug;130(2):204-11. doi: 10.1016/0002-8703(95)90430-1. PMID: 7631597.
4. American Thoracic Society, American College of Chest Physicians, ATS/ACCP statement on cardiopulmonary exercise testing, *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 167 (2) (2003) 211–277.
5. Ammar A, Chtourou H, Turki M, Hammouda O, Chaari A, Boudaya M, Driss T, Ayedi F, Souissi N. Acute and delayed responses of steroidal hormones, blood lactate and biomarkers of muscle damage after a resistance training session: time-of-day effects. *J Sports Med Phys Fitness*. 2018 Jul-Aug;58(7-8):980-989. doi: 10.23736/S0022-4707.17.07048-7. Epub 2017 Feb 21. PMID: 28222580.
6. Anderson EJ, Çakir I, Carrington SJ, Cone RD, Ghamari-Langroudi M, Gillyard T, Gimenez LE, Litt MJ. 60 YEARS OF POMC: Regulation of feeding and energy homeostasis by  $\alpha$ -MSH. *J Mol Endocrinol*. 2016 May;56(4):T157-74. doi: 10.1530/JME-16-0014. Epub 2016 Mar 3. PMID: 26939593; PMCID: PMC5027135.
7. Angelousi A, Margioris AN, Tsatsanis C. ACTH Action on the Adrenals. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, Corpas E, de Herder WW, Dhatriya K, Dungan K, Hofland J, Kalra S, Kaltsas G, Kapoor N, Koch C, Kopp P, Korbonits M, Kovacs CS, Kuohung W, Laferrère B, Levy M, McGee EA, McLachlan R, New M, Purnell J, Sahay R, Shah AS, Singer F, Sperling MA, Stratakis CA, Trencé DL, Wilson DP, editors. *Endotext* [Internet]. MDText.com, Inc.; South Dartmouth (MA): Jun 13, 2020.
8. Armstrong WF, Ryan T, Feigenbaum H, Feigenbaum's echocardiography. *Can J Cardiol*. 2007 Feb;23(2):100–4. PMCID: PMC2650641.
9. Bagheri B, Meshkini F, Dinarvand K, Alikhani Z, Haysom M, Rasouli M. Life Psychosocial Stresses and Coronary Artery Disease. *Int J Prev Med*. 2016 Sep 14;7:106. doi: 10.4103/2008-7802.190598. PMID: 27833720; PMCID: PMC5036281.
10. Balady GJ, Arena R, Sietsema K, Myers J, Coke L, Fletcher GF, Forman D, Franklin B, Guazzi M, Gulati M, Keteyian SJ, Lavie CJ, Macko R, Mancini D, Milani RV; American Heart Association Exercise, Cardiac Rehabilitation, and Prevention Committee of the Council on Clinical Cardiology; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Peripheral Vascular Disease; Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes Research. Clinician's Guide to cardiopulmonary exercise testing in adults: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2010 Jul 13;122(2):191-225. doi: 10.1161/CIR.0b013e3181e52e69. Epub 2010 Jun 28. PMID: 20585013.
11. Banfi G, D'Eril GM, Barassi A, Lippi G. N-terminal proB-type natriuretic peptide (NT-proBNP) concentrations in elite rugby players at rest and after active and passive recovery following strenuous training sessions. *Clin Chem Lab Med*. 2008;46(2):247-9. doi: 10.1515/CCLM.2008.024. PMID: 18076361.

12. Barthélémy JC, Roche F, Gaspoz JM, Geysant A, Minini P, Antoniadis A, Page E, Wolf JE, Wilner C, Isaaz K, Cavallaro C, Lacour JR. Maximal blood lactate level acts as a major discriminant variable in exercise testing for coronary artery disease detection in men. *Circulation*. 1996 Jan 15;93(2):246-52. doi: 10.1161/01.cir.93.2.246. PMID: 8548895. Baty F, van Gestel AJ, Kern L, Brutsche MH. Oxygen Uptake Recovery Kinetics after the 6-Minute Walk Test in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Respiration*. 2016;92(6):371-379. doi: 10.1159/000452307. Epub 2016 Nov 9. PMID: 27825150.
13. Belardinelli R, Lacalaprice F, Carle F, Minnucci A, Cianci G, Perna G, D'Eusanio G. Exercise-induced myocardial ischaemia detected by cardiopulmonary exercise testing. *Eur Heart J*. 2003 Jul;24(14):1304-13. doi: 10.1016/s0195-668x(03)00210-0. PMID: 12871687.
14. Bergh C, Udumyan R, Fall K, Almroth H, Montgomery S. Stress resilience and physical fitness in adolescence and risk of coronary heart disease in middle age. *Heart*. 2015 Apr;101(8):623-9. doi: 10.1136/heartjnl-2014-306703. Epub 2015 Mar 4. PMID: 25740818; PMCID: PMC4396533.
15. Bernard K, Frost A, Bennett CB, Lindhiem O. Maltreatment and diurnal cortisol regulation: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2017 Apr;78:57-67. doi: 10.1016/j.psyneuen.2017.01.005. Epub 2017 Jan 10. PMID: 28167370.
16. Bertrand ME, Simoons ML, Fox KA, Wallentin LC, Hamm CW, McFadden E, De Feyter PJ, Specchia G, Ruzyllo W; Task Force on the Management of Acute Coronary Syndromes of the European Society of Cardiology. Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J*. 2002 Dec;23(23):1809-40. doi: 10.1053/euhj.2002.3385. Erratum in: *Eur Heart J*. 2003 Jun;24(12):1174-5. Erratum in: *Eur Heart J*. 2003 Mar;24(5):485. PMID: 12503543.
17. Bhattacharyya MR, Molloy GJ, Steptoe A. Depression is associated with flatter cortisol rhythms in patients with coronary artery disease. *J Psychosom Res*. 2008 Aug;65(2):107-13. doi: 10.1016/j.jpsychores.2008.03.012. PMID: 18655854.
18. Bijker KE, de Groot G, Hollander AP. Differences in leg muscle activity during running and cycling in humans. *Eur J Appl Physiol*. 2002 Oct;87(6):556-61. doi: 10.1007/s00421-002-0663-8. Epub 2002 Jul 13. PMID: 12355196.
19. Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors*. 2004 Sep;22(3):123-31. doi: 10.1080/08977190410001723308. PMID: 15518235; PMCID: PMC2504526.
20. Boden WE, O'Rourke RA, Teo KK, Hartigan PM, Maron DJ, Kostuk WJ, Knudtson M, Dada M, Casperson P, Harris CL, Chaitman BR, Shaw L, Gosselin G, Nawaz S, Title LM, Gau G, Blaustein AS, Booth DC, Bates ER, Spertus JA, Berman DS, Mancini GB, Weintraub WS; COURAGE Trial Research Group. Optimal medical therapy with or without PCI for stable coronary disease. *N Engl J Med*. 2007 Apr 12;356(15):1503-16. doi: 10.1056/NEJMoa070829. Epub 2007 Mar 26. PMID: 17387127.
21. Bonagura JD, Blissitt KJ. Echocardiography. *Equine Vet J Suppl*. 1995 Sep;(19):5-17. PMID: 8933064.
22. Boss e S, Masciotra V, Solomon C, Stalder T, D'antono B, Childhood trauma, perceived stress, and hair cortisol in adults with and without coronary artery disease. *Psychoneuroendocrinology*, 2015. 61, 36. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2015.07.488.
23. Bourque JM, Beller GA. Value of Exercise ECG for Risk Stratification in Suspected or Known CAD in the Era of Advanced Imaging Technologies. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2015 Nov;8(11):1309-21. doi: 10.1016/j.jcmg.2015.09.006. PMID: 26563861; PMCID: PMC4646721.



24. Blaschko H, Sayers G, Smith AD, Blood supply of the adrenal gland.1975, Handbook of physiology. Washington, DC: American Physiological Society 283–294
25. Cain DW, Cidlowski JA. Immune regulation by glucocorticoids. *Nat Rev Immunol.* 2017 Apr;17(4):233-247. doi: 10.1038/nri.2017.1. Epub 2017 Feb 13. PMID: 28192415; PMCID: PMC9761406.
26. Calasans FR, Santos BF, Silveira DC, Araújo AC, Melo LD, Barreto-Filho JA, Sousa AC, Oliveira JL. Stress echocardiography and major cardiac events in patients with normal exercise test. *Arq Bras Cardiol.* 2013 Jul;101(1):35-42. doi: 10.5935/abc.20130124. Epub 2013 Jun 14. PMID: 23765384; PMCID: PMC3998167.
27. Catania A, Airaghi L, Garofalo L, Cutuli M, Lipton JM. The neuropeptide alpha-MSH in HIV infection and other disorders in humans. *Ann N Y Acad Sci.* 1998 May 1;840:848-56. doi: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb09622.x. PMID: 9629310.
28. Catania A, Lipton JM. The neuropeptide alpha-melanocyte-stimulating hormone: a key component of neuroimmunomodulation. *Neuroimmunomodulation.* 1994 Mar-Apr;1(2):93-9. doi: 10.1159/000097096. PMID: 7489326.
29. Catania A, Lonati C, Sordi A, Leonardi P, Carlin A, Gatti S. The peptide NDP-MSH induces phenotype changes in the heart that resemble ischemic preconditioning. *Peptides.* 2010 Jan;31(1):116-22. doi: 10.1016/j.peptides.2009.09.030. Epub 2009 Sep 30. PMID: 19799952.
30. Catania A. The melanocortin system in leukocyte biology. *J Leukoc Biol.* 2007 Feb;81(2):383-92. doi: 10.1189/jlb.0706426. Epub 2006 Oct 17. PMID: 17041004.
31. Chaudhry S, Arena R, Wasserman K, Hansen JE, Lewis GD, Myers J, Chronos N, Boden WE. Exercise-induced myocardial ischemia detected by cardiopulmonary exercise testing. *Am J Cardiol.* 2009 Mar 1;103(5):615-9. doi: 10.1016/j.amjcard.2008.10.034. Epub 2009 Jan 17. PMID: 19231322; PMCID: PMC3035935.
32. Chen R, Lewis KA, Perrin MH, Vale WW. Expression cloning of a human corticotropin-releasing-factor receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993 Oct 1;90(19):8967-71. doi: 10.1073/pnas.90.19.8967. PMID: 7692441; PMCID: PMC47482.
33. Chida D, Nakagawa S, Nagai S, Sagara H, Katsumata H, Imaki T, Suzuki H, Mitani F, Ogishima T, Shimizu C, Kotaki H, Kakuta S, Sudo K, Koike T, Kubo M, Iwakura Y. Melanocortin 2 receptor is required for adrenal gland development, steroidogenesis, and neonatal gluconeogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Nov 13;104(46):18205-10. doi: 10.1073/pnas.0706953104. Epub 2007 Nov 7. PMID: 17989225; PMCID: PMC2084321.
34. Clark AJ, McLoughlin L, Grossman A. Familial glucocorticoid deficiency associated with point mutation in the adrenocorticotropin receptor. *Lancet.* 1993 Feb 20;341(8843):461-2. doi: 10.1016/0140-6736(93)90208-x. PMID: 8094489.
35. Cohen S, Janicki-Deverts D, Miller GE. Psychological stress and disease. *JAMA.* 2007 Oct 10;298(14):1685-7. doi: 10.1001/jama.298.14.1685. PMID: 17925521.
36. Cohen-Solal A, Laperche T, Morvan D, Geneves M, Caviezel B, Gourgon R. Prolonged kinetics of recovery of oxygen consumption after maximal graded exercise in patients with chronic heart failure. Analysis with gas exchange measurements and NMR spectroscopy. *Circulation.* 1995 Jun 15;91(12):2924-32. doi: 10.1161/01.cir.91.12.2924. PMID: 7796502.
37. Cole CR, Blackstone EH, Pashkow FJ, Snader CE, Lauer MS. Heart-rate recovery immediately after exercise as a predictor of mortality. *N Engl J Med.* 1999 Oct 28;341(18):1351-7. doi: 10.1056/NEJM199910283411804. PMID: 10536127.
38. Colombo G, Gatti S, Turcatti F, Sordi A, Fassati LR, Bonino F, Lipton JM, Catania A. Gene expression profiling reveals multiple protective influences of the peptide alpha-melanocyte-stimulating hormone in experimental heart transplantation. *J Immunol.* 2005 Sep 1;175(5):3391-401. doi: 10.4049/jimmunol.175.5.3391. PMID: 16116233.

39. Cornish J, Callon KE, Mountjoy KG, Bava U, Lin JM, Myers DE, Naot D, Reid IR. alpha -melanocyte-stimulating hormone is a novel regulator of bone. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003 Jun;284(6):E1181-90. doi: 10.1152/ajpendo.00412.2002. Epub 2003 Mar 4. PMID: 12618359.
40. Costache AD, Leon-Constantin MM, Roca M, Maștaleru A, Anghel RC, Zota IM, Drugescu A, Costache II, Chetran A, Moisă ȘM, Huzum B, Mitu O, Cumpăt C, Honceriu C, Mitu F. Cardiac Biomarkers in Sports Cardiology. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2022 Dec 11;9(12):453. doi: 10.3390/jcdd9120453. PMID: 36547450; PMCID: PMC9781597.
41. Crossman DC. The pathophysiology of myocardial ischaemia. *Heart.* 2004 May;90(5):576-80. doi: 10.1136/hrt.2003.029017. PMID: 15084567; PMCID: PMC1768241.
42. Damjanovic SS, Antic JA, Ilic BB, Cokic BB, Ivovic M, Ognjanovic SI, Isailovic TV, Popovic BM, Bozic IB, Tatic S, Matic G, Todorovic VN, Paunovic I. Glucocorticoid receptor and molecular chaperones in the pathogenesis of adrenal incidentalomas: potential role of reduced sensitivity to glucocorticoids. *Mol Med.* 2013 Jan 22;18(1):1456-65. doi: 10.2119/molmed.2012.00261. PMID: 23196783; PMCID: PMC3563706..
43. Daniel PM. Anatomy of the hypothalamus and pituitary gland. *J Clin Pathol Suppl (Assoc Clin Pathol).* 1976;7:1-7. doi: 10.1136/jcp.s1-7.1.1. PMID: 1073162; PMCID: PMC1436118.
44. Vesely DL, Natriuretic hormones, Academic press, 2008. Chapter 34, Pages 947-977,ISBN 9780120884889,https://doi.org/10.1016/B978-012088488-9.50037-1.
45. De Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci.* 2005 Jun;6(6):463-75. doi: 10.1038/nrn1683. PMID: 15891777.
46. DeMorrow S. Role of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Health and Disease. *Int J Mol Sci.* 2018 Mar 26;19(4):986. doi: 10.3390/ijms19040986. PMID: 29587417; PMCID: PMC5979578.
47. DeRijk RH, Schaaf M, de Kloet ER. Glucocorticoid receptor variants: clinical implications. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2002 Jun;81(2):103-22. doi: 10.1016/s0960-0760(02)00062-6. PMID: 12137800.
48. Detrano R, Gianrossi R, Froelicher V. The diagnostic accuracy of the exercise electrocardiogram: a meta-analysis of 22 years of research. *Prog Cardiovasc Dis.* 1989 Nov-Dec;32(3):173-206. doi: 10.1016/0033-0620(89)90025-x. PMID: 2530605.
49. Dickmeis T. Glucocorticoids and the circadian clock. *J Endocrinol.* 2009 Jan;200(1):3-22. doi: 10.1677/JOE-08-0415. Epub 2008 Oct 29. PMID: 18971218.
50. Doherty JU, Kort S, Mehran R, Schoenhagen P, Soman P; Rating Panel Members; Appropriate Use Criteria Task Force. ACC/AATS/AHA/ASE/ASNC/HRS/SCAI/SCCT/SCMR/STS 2019 Appropriate Use Criteria for Multimodality Imaging in the Assessment of Cardiac Structure and Function in Nonvalvular Heart Disease : A Report of the American College of Cardiology Appropriate Use Criteria Task Force, American Association for Thoracic Surgery, American Heart Association, American Society of Echocardiography, American Society of Nuclear Cardiology, Heart Rhythm Society, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Cardiovascular Computed Tomography, Society for Cardiovascular Magnetic Resonance, and the Society of Thoracic Surgeons. *J Nucl Cardiol.* 2019 Aug;26(4):1392-1413. doi: 10.1007/s12350-019-01751-7. PMID: 31250324.
51. Duclos M, Gouarne C, Bonnemaïson D. Acute and chronic effects of exercise on tissue sensitivity to glucocorticoids. *J Appl Physiol (1985).* 2003 Mar;94(3):869-75. doi: 10.1152/jappphysiol.00108.2002. Epub 2002 Oct 25. PMID: 12433870..
52. Dutia R, Meece K, Dighe S, Kim AJ, Wardlaw SL.  $\beta$ -Endorphin antagonizes the effects of  $\alpha$ -MSH on food intake and body weight. *Endocrinology.* 2012 Sep;153(9):4246-55. doi: 10.1210/en.2012-1166. Epub 2012 Jul 9. PMID: 22778225; PMCID: PMC3423622.



53. Edmondson D, Kronish IM, Shaffer JA, Falzon L, Burg MM. Posttraumatic stress disorder and risk for coronary heart disease: a meta-analytic review. *Am Heart J.* 2013 Nov;166(5):806-14. doi: 10.1016/j.ahj.2013.07.031. Epub 2013 Sep 24. PMID: 24176435; PMCID: PMC3815706.
54. Edwards AV, Jones CT 1993 Autonomic control of adrenal function. *J Anat* 183(Pt 2):291–307
55. Evans VR, Manning AB, Bernard LH, Chronwall BM, Millington WR. Alpha-melanocyte-stimulating hormone and N-acetyl-beta-endorphin immunoreactivities are localized in the human pituitary but are not restricted to the zona intermedia. *Endocrinology.* 1994 Jan;134(1):97-106. doi: 10.1210/endo.134.1.8275975. PMID: 8275975.
56. Ehrhart-Bornstein M, Hinson JP, Bornstein SR, Scherbaum WA, Vinson GP 1998 Intraadrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis. *Endocr Rev* 19:101–143
57. Feigenbaum H. Role of M-mode technique in today's echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2010 Mar;23(3):240-57; 335-7. doi: 10.1016/j.echo.2010.01.015. PMID: 20206828.
58. Fletcher GF, Ades PA, Kligfield P, Arena R, Balady GJ, Bittner VA, Coke LA, Fleg JL, Forman DE, Gerber TC, Gulati M, Madan K, Rhodes J, Thompson PD, Williams MA; American Heart Association Exercise, Cardiac Rehabilitation, and Prevention Committee of the Council on Clinical Cardiology, Council on Nutrition, Physical Activity and Metabolism, Council on Cardiovascular and Stroke Nursing, and Council on Epidemiology and Prevention. Exercise standards for testing and training: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2013 Aug 20;128(8):873-934. doi: 10.1161/CIR.0b013e31829b5b44. Epub 2013 Jul 22. PMID: 23877260.
59. Foote RS, Pearlman JD, Siegel AH, Yeo KT. Detection of exercise-induced ischemia by changes in B-type natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol.* 2004 Nov 16;44(10):1980-7. doi: 10.1016/j.jacc.2004.08.045. PMID: 15542280.
60. Fortin M, Turgeon PY, Nadreau É, Grégoire P, Maltais LG, Sénéchal M, Provencher S, Maltais F. Prognostic Value of Oxygen Kinetics During Recovery From Cardiopulmonary Exercise Testing in Patients With Chronic Heart Failure. *Can J Cardiol.* 2015 Oct;31(10):1259-65. doi: 10.1016/j.cjca.2015.02.015. Epub 2015 Feb 19. PMID: 26115872.
61. Gayda M, Bourassa MG, Tardif JC, Fortier A, Juneau M, Nigam A. Heart rate recovery after exercise and long-term prognosis in patients with coronary artery disease. *Can J Cardiol.* 2012 Mar-Apr;28(2):201-7. doi: 10.1016/j.cjca.2011.12.004. Epub 2012 Feb 14. PMID: 22336522.
62. Gaziano TA., Prabhakaran D, Gaziano J M , 2015. Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine.
63. Garrido P. Aging and stress: past hypotheses, present approaches and perspectives. *Aging Dis.* 2011 Feb;2(1):80-99. Epub 2011 Jan 28. PMID: 22396868; PMCID: PMC3295041
64. Georgantas A, Dimopoulos S, Tasoulis A, Karatzanos E, Pantsios C, Agapitou V, Ntalianis A, Roditis P, Terrovitis J, Nanas S. Beneficial effects of combined exercise training on early recovery cardiopulmonary exercise testing indices in patients with chronic heart failure. *J Cardiopulm Rehabil Prev.* 2014 Nov-Dec;34(6):378-85. doi: 10.1097/HCR.000000000000068. PMID: 24983706.
65. Getting SJ, Di Filippo C, Christian HC, Lam CW, Rossi F, D'Amico M, Perretti M. MC-3 receptor and the inflammatory mechanisms activated in acute myocardial infarct. *J Leukoc Biol.* 2004 Oct;76(4):845-53. doi: 10.1189/jlb.0306175. Epub 2004 Jul 26. PMID: 15277567.
66. Gitt AK, Wasserman K, Kilkowski C, Kleemann T, Kilkowski A, Bangert M, Schneider S, Schwarz A, Senges J. Exercise anaerobic threshold and ventilatory efficiency identify heart failure patients for high risk of early death. *Circulation.* 2002 Dec 10;106(24):3079-84. doi: 10.1161/01.cir.0000041428.99427.06. PMID: 12473555.

67. Golden E, Emiliano A, Maudsley S, Windham BG, Carlson OD, Egan JM, Driscoll I, Ferrucci L, Martin B, Mattson MP. Circulating brain-derived neurotrophic factor and indices of metabolic and cardiovascular health: data from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *PLoS One*. 2010 Apr 9;5(4):e10099. doi: 10.1371/journal.pone.0010099. PMID: 20404913; PMCID: PMC2852401.
68. Goldfarb AH. Exercise Response of  $\beta$ -Endorphin and Cortisol: Implications on Immune Function. 10.1002/9780470757826.ch24. In: Kraemer WJ, Rogol AD, The endocrine system in sports and exercise. Oxford, UK: Blackwell Publishing; 2006. p. 339.
69. Gouarné C, Groussard C, Gratas-Delamarche A, Delamarche P, Duclos M. Overnight urinary cortisol and cortisone add new insights into adaptation to training. *Med Sci Sports Exerc*. 2005 Jul;37(7):1157-67. doi: 10.1249/01.mss.0000170099.10038.3b. PMID: 16015133.
70. Grande G, Romppel M, Barth J. Association between type D personality and prognosis in patients with cardiovascular diseases: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Behavioral Medicine* 2012 Jun;43(3):299-310. doi: 10.1007/s12160-011-9339-0. PMID: 22237826.
71. Grimm G, Resl M, Heinisch BB, Hülsmann M, Luger A, Clodi M, Vila G. B-type natriuretic peptide increases cortisol and catecholamine concentrations in healthy subjects. *J Appl Physiol* (1985). 2017 May 1;122(5):1249-1254. doi: 10.1152/jappphysiol.00360.2016. Epub 2016 Dec 22. PMID: 28008098.
72. Guazzi M, Adams V, Conraads V, Halle M, Mezzani A, Vanhees L, Arena R, Fletcher GF, Forman DE, Kitzman DW, Lavie CJ, Myers J; European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation; American Heart Association. EACPR/AHA Scientific Statement. Clinical recommendations for cardiopulmonary exercise testing data assessment in specific patient populations. *Circulation*. 2012 Oct 30;126(18):2261-74. doi: 10.1161/CIR.0b013e31826fb946. Epub 2012 Sep 5. PMID: 22952317; PMCID: PMC4777325.
73. Guazzi M, Naeije R, Arena R, Corrà U, Ghio S, Forfia P, Rossi A, Cahalin LP, Bandera F, Temporelli P. Echocardiography of Right Ventriculoarterial Coupling Combined With Cardiopulmonary Exercise Testing to Predict Outcome in Heart Failure. *Chest*. 2015 Jul;148(1):226-234. doi: 10.1378/chest.14-2065. PMID: 25633590.
74. Guazzi M, Arena R, Halle M, Piepoli MF, Myers J, Lavie CJ. 2016 Focused Update: Clinical Recommendations for Cardiopulmonary Exercise Testing Data Assessment in Specific Patient Populations. *Circulation*. 2016 Jun 14;133(24): e694-711. doi: 10.1161/CIR.0000000000000406. Epub 2016 May 2. PMID: 27143685
75. Guazzi M, Phillips SA, Arena R, Lavie CJ. Endothelial dysfunction and lung capillary injury in cardiovascular diseases. *Prog Cardiovasc Dis*. 2015 Mar-Apr;57(5):454-62. doi: 10.1016/j.pcad.2014.11.003. Epub 2014 Nov 12. PMID: 25446556.
76. Güder G, Hammer F, Deutschbein T, Brenner S, Berliner D, Deubner N, Bidlingmaier M, Ertl G, Allolio B, Angermann CE, Fassnacht M, Störk S. Prognostic value of aldosterone and cortisol in patients hospitalized for acutely decompensated chronic heart failure with and without mineralocorticoid receptor antagonism. *J Card Fail*. 2015 Mar;21(3):208-16. doi: 10.1016/j.cardfail.2014.12.011. Epub 2015 Jan 5. PMID: 25573831.
77. Hall C. Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP. *Eur J Heart Fail*. 2004 Mar 15;6(3):257-60. doi: 10.1016/j.ejheart.2003.12.015. PMID: 14987573.
78. Hamer M, Endrighi R, Venuraju SM, Lahiri A, Steptoe A. Cortisol responses to mental stress and the progression of coronary artery calcification in healthy men and women. *PLoS One*. 2012;7(2):e31356. doi: 10.1371/journal.pone.0031356. Epub 2012 Feb 6. PMID: 22328931; PMCID: PMC3273460.



79. Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci.* 2001;24:677-736. doi: 10.1146/annurev.neuro.24.1.677. PMID: 11520916; PMCID: PMC2758233.
80. Gaggin HK, Januzzi JL, Jr, The past, the present, and the future of natriuretic peptides in the diagnosis of heart failure, *European Heart Journal Supplements*, Volume 20, Issue suppl\_G, August 2018, Pages G11–G20, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/suy024>
81. Hansson GK. Inflammation, protection, and the problems of translation. *Nat Rev Cardiol.* 2018 Dec;15(12):729-730. doi: 10.1038/s41569-018-0085-x. PMID: 30224831.
82. Hempelmann G, Adams HA. Stress und Anästhesie [Stress and anesthesia]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.* 1991 Oct;26(6):293. German. doi: 10.1055/s-2007-1000587. PMID: 1751649.
83. Herbison CE, Henley D, Marsh J, Atkinson H, Newnham JP, Matthews SG, Lye SJ, Pennell CE. Characterization and novel analyses of acute stress response patterns in a population-based cohort of young adults: influence of gender, smoking, and BMI. *Stress.* 2016;19(2):139-50. doi: 10.3109/10253890.2016.1146672. Epub 2016 Mar 3. PMID: 26809721.
84. Herman JP, McKlveen JM, Ghosal S, Kopp B, Wulsin A, Makinson R, Scheimann J, Myers B. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response. *Compr Physiol.* 2016 Mar 15;6(2):603-21. doi: 10.1002/cphy.c150015. PMID: 27065163; PMCID: PMC4867107.
85. Herman JP, McKlveen JM, Ghosal S, Kopp B, Wulsin A, Makinson R, Scheimann J, Myers B. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response. *Comprehensive Physiology.* 2016 Mar 15;6(2):603-21. doi: 10.1002/cphy.c150015. PMID: 27065163; PMCID: PMC4867107.
86. Hiramoto K, Kobayashi H, Sekiyama A, F Sato E, Tsuruta D, Ishii M. Mild exercise suppresses exacerbation of dermatitis by increasing cleavage of the  $\beta$ -endorphin from proopiomelanocortin in NC/Nga mice. *J Clin Biochem Nutr.* 2013 Jan;52(1):58-63. doi: 10.3164/jcbrn.12-51. Epub 2012 Nov 20. PMID: 23341699; PMCID: PMC3541420.
87. Hollenberg M, Tager IB. Oxygen uptake efficiency slope: an index of exercise performance and cardiopulmonary reserve requiring only submaximal exercise. *J Am Coll Cardiol.* 2000 Jul;36(1):194-201. doi: 10.1016/s0735-1097(00)00691-4. PMID: 10898434.
88. Hoshi RA, Vanderlei LCM, de Godoy MF, Bastos FDN, Netto J Jr, Pastre CM. Temporal sequence of recovery-related events following maximal exercise assessed by heart rate variability and blood lactate concentration. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2017 Sep;37(5):536-543. doi: 10.1111/cpf.12339. Epub 2016 Jan 13. PMID: 26762787.
89. Hsia D, Casaburi R, Pradhan A, Torres E, Porszasz J. Physiological responses to linear treadmill and cycle ergometer exercise in COPD. *Eur Respir J.* 2009 Sep;34(3):605-15. doi: 10.1183/09031936.00069408. Epub 2009 Mar 12. PMID: 19282347.
90. Insull W Jr. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. *Am J Med.* 2009 Jan;122(1 Suppl):S3-S14. doi: 10.1016/j.amjmed.2008.10.013. PMID: 19110086.
91. Iso H, Naito Y, Sato S, Kitamura A, Okamura T, Sankai T, Shimamoto T, Iida M, Komachi Y. Serum triglycerides and risk of coronary heart disease among Japanese men and women. *Am J Epidemiol.* 2001 Mar 1;153(5):490-9. doi: 10.1093/aje/153.5.490. PMID: 11226981.
92. Iso H, Date C, Yamamoto A, Toyoshima H, Tanabe N, Kikuchi S, Kondo T, Watanabe Y, Wada Y, Ishibashi T, Suzuki H, Koizumi A, Inaba Y, Tamakoshi A, Ohno Y. Perceived mental stress and mortality from cardiovascular disease among Japanese men and women: the Japan Collaborative Cohort Study for Evaluation of Cancer Risk Sponsored by Monbusho (JACC



- Study). *Circulation*. 2002 Sep 3;106(10):1229-36. doi: 10.1161/01.cir.0000028145.58654.41. PMID: 12208798.
93. Ivy JR, Carter RN, Zhao JF, Buckley C, Urquijo H, Rog-Zielinska EA, Panting E, Hrabalkova L, Nicholson C, Agnew EJ, Kemp MW, Morton NM, Stock SJ, Wyrwoll C, Ganley IG, Chapman KE. Glucocorticoids regulate mitochondrial fatty acid oxidation in fetal cardiomyocytes. *J Physiol*. 2021 Nov;599(21):4901-4924. doi: 10.1113/JP281860. Epub 2021 Sep 30. PMID: 34505639.
  94. Jacob G, Allan DS, *Comprehensive Hypertension, Natriuretic peptides*, 2007, Pages 349-362, ISBN 9780323039611, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-03961-1.50034-9>.
  95. Jameson JL. Endocrinology and metabolism. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper MA; Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 15th edition. New York: McGrawHill; 2004. p. 2019-91.
  96. Johnson RL Jr. Gas exchange efficiency in congestive heart failure. *Circulation*. 2000 Jun 20;101(24):2774-6. doi: 10.1161/01.cir.101.24.2774. PMID: 10859280.
  97. Joseph JJ, Golden SH. Cortisol dysregulation: the bidirectional link between stress, depression, and type 2 diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci*. 2017 Mar;1391(1):20-34. doi: 10.1111/nyas.13217. Epub 2016 Oct 17. PMID: 27750377; PMCID: PMC5334212.
  98. Kaplan JR, Manuck SB, Gatsonis C. Heart rate and social status among male cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) housed in disrupted social groupings. *Am J Primatol*. 1990;21(3):175-187. doi: 10.1002/ajp.1350210302. PMID: 31963972.
  99. Kaplan JR, Chen H, Manuck SB. The relationship between social status and atherosclerosis in male and female monkeys as revealed by meta-analysis. *Am J Primatol*. 2009 Sep;71(9):732-41. doi: 10.1002/ajp.20707. PMID: 19452517; PMCID: PMC3366586.
  100. Kivimäki M, Jokela M, Nyberg ST, Singh-Manoux A, Fransson EI, Alfredsson L, Bjorner JB, Borritz M, Burr H, Casini A, Clays E, De Bacquer D, Dragano N, Erbel R, Geuskens GA, Hamer M, Hooftman WE, Houtman IL, Jöckel KH, Kittel F, Knutsson A, Koskenvuo M, Lunau T, Madsen IE, Nielsen ML, Nordin M, Oksanen T, Pejtersen JH, Pentti J, Rugulies R, Salo P, Shipley MJ, Siegrist J, Steptoe A, Suominen SB, Theorell T, Vahtera J, Westerholm PJ, Westerlund H, O'Reilly D, Kumari M, Batty GD, Ferrie JE, Virtanen M; IPD-Work Consortium. Long working hours and risk of coronary heart disease and stroke: a systematic review and meta-analysis of published and unpublished data for 603,838 individuals. *Lancet*. 2015 Oct 31;386(10005):1739-46. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60295-1. Epub 2015 Aug 19. PMID: 26298822.
  101. Kiviniemi AM, Lepojärvi S, Kenttä TV, Junttila MJ, Perkiömäki JS, Piira OP, Ukkola O, Hautala AJ, Tulppo MP, Huikuri HV. Exercise capacity and heart rate responses to exercise as predictors of short-term outcome among patients with stable coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2015 Nov 15;116(10):1495-501. doi: 10.1016/j.amjcard.2015.08.014. Epub 2015 Aug 31. PMID: 26381535.
  102. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, Prescott E, Storey RF, Deaton C, Cuisset T, Agewall S, Dickstein K, Edvardsen T, Escaned J, Gersh BJ, Svitil P, Gilard M, Hasdai D, Hatala R, Mahfoud F, Masip J, Muneretto C, Valgimigli M, Achenbach S, Bax JJ; ESC Scientific Document Group. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *Eur Heart J*. 2020 Jan 14;41(3):407-477. doi: 10.1093/eurheartj/ehz425. Erratum in: *Eur Heart J*. 2020 Nov 21;41(44):4242. PMID: 31504439.
  103. Klabunde RE, *Cardiovascular Physiology Concepts*, New Third Edition, Published by Wolters Kluwer, 2021, ISBN-13: 9781975150075

104. Koelsch S, Boehlig A, Hohenadel M, Nitsche I, Bauer K, Sack U. The impact of acute stress on hormones and cytokines, and how their recovery is affected by music-evoked positive mood. *Sci Rep.* 2016 Mar 29;6:23008. doi: 10.1038/srep23008. PMID: 27020850; PMCID: PMC4810374.
105. Koike A, Itoh H, Doi M, Taniguchi K, Marumo F, Umehara I, Hiroe M. Beat-to-beat evaluation of cardiac function during recovery from upright bicycle exercise in patients with coronary artery disease. *Am Heart J.* 1990 Aug;120(2):316-23. doi: 10.1016/0002-8703(90)90075-9. PMID: 2382609.
106. Korzeniewski B, Rossiter HB. Each-step activation of oxidative phosphorylation is necessary to explain muscle metabolic kinetic responses to exercise and recovery in humans. *J Physiol.* 2015 Dec 15;593(24):5255-68. doi: 10.1113/JP271299. PMID: 26503399; PMCID: PMC4704516.
107. Kossaiy A, Bassil E, Kossaiy M. Stress Echocardiography: Concept and Criteria, Structure and Steps, Obstacles and Outcomes, Focused Update and Review. *Cardiol Res.* 2020 Apr;11(2):89-96. doi: 10.14740/cr851. Epub 2020 Mar 10. PMID: 32256915; PMCID: PMC7092766.
108. Kotsis V, Nilsson P, Grassi G, Mancia G, Redon J, Luft F, Schmieder R, Engeli S, Stabouli S, Antza C, Pall D, Schlaich M, Jordan J; WG on Obesity, Diabetes, the High Risk Patient, European Society of Hypertension. New developments in the pathogenesis of obesity-induced hypertension. *J Hypertens.* 2015 Aug;33(8):1499-508. doi: 10.1097/HJH.0000000000000645. PMID: 26103132.
109. Kravchychyn ACP, Campos RMDS, Corgosinho FC, Masquio DCL, Vicente SECF, Ferreira YAM, Silva PL, Ganen AP, Oyama LM, Tock L, de Mello MT, Tufik S, Dâmaso AR. The Long-Term Impact of High Levels of Alpha-Melanocyte-Stimulating Hormone in Energy Balance Among Obese Adolescents. *Ann Nutr Metab.* 2018;72(4):279-286. doi: 10.1159/000488005. Epub 2018 Apr 12. PMID: 29649791.
110. Laatikainen T, Critchley J, Vartiainen E, Salomaa V, Ketonen M, Capewell S. Explaining the decline in coronary heart disease mortality in Finland between 1982 and 1997. *Am J Epidemiol.* 2005 Oct 15;162(8):764-73. doi: 10.1093/aje/kwi274. Epub 2005 Sep 8. PMID: 16150890.
111. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, Flachskampf FA, Foster E, Goldstein SA, Kuznetsova T, Lancellotti P, Muraru D, Picard MH, Rietzschel ER, Rudski L, Spencer KT, Tsang W, Voigt JU. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2015 Jan;28(1):1-39.e14. doi: 10.1016/j.echo.2014.10.003. PMID: 25559473.
112. Lazzarino AI, Hamer M, Gaze D, Collinson P, Steptoe A. The association between cortisol response to mental stress and high-sensitivity cardiac troponin T plasma concentration in healthy adults. *J Am Coll Cardiol.* 2013 Oct 29;62(18):1694-1701. doi: 10.1016/j.jacc.2013.05.070. Epub 2013 Jun 27. PMID: 23810896; PMCID: PMC3807660.
113. Lee DY, Kim E, Choi MH. Technical and clinical aspects of cortisol as a biochemical marker of chronic stress. *BMB Rep.* 2015 Apr;48(4):209-16. doi: 10.5483/bmbrep.2015.48.4.275. PMID: 25560699; PMCID: PMC4436856.
114. Leischik R, Foshag P, Strauß M, Garg P, Dworrak B, Littwitz H, Lazic JS, Horlitz M. Physical activity, cardiorespiratory fitness and carotid intima thickness: sedentary occupation as risk factor for atherosclerosis and obesity. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2015 Sep;19(17):3157-68. PMID: 26400517.



115. Letizia C, Barillà F, Cerci S, De Ciocchis A, Scuro L, Mastroianni MA, Campa PP, Scavo D. beta-Endorphin and propiomelanocortin-correlates peptides response in suspected and confirmed ischemic heart disease during exercise. *Acta Cardiol.* 1996;51(1):27-36. PMID: 8659246.
116. Lobstein FJ, *Traité d'anatomie pathologique*, Paris 1833.
117. Luger A, Deuster PA, Kyle SB, Gallucci WT, Montgomery LC, Gold PW, Loriaux DL, Chrousos GP. Acute hypothalamic-pituitary-adrenal responses to the stress of treadmill exercise. Physiologic adaptations to physical training. *N Engl J Med.* 1987 May 21;316(21):1309-15. doi: 10.1056/NEJM198705213162105. PMID: 3033504.
118. Lewis GD, Shah RV, Pappagianopolas PP, Systrom DM, Semigran MJ. Determinants of ventilatory efficiency in heart failure: the role of right ventricular performance and pulmonary vascular tone. *Circ Heart Fail.* 2008 Nov;1(4):227-33. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.108.785501. PMID: 19808296; PMCID: PMC2806812.
119. Li X, Min X. The role of M-mode echocardiography in patients with heart failure and preserved ejection fraction: A prospective cohort study. *Exp Ther Med.* 2020 Mar;19(3):1969-1976. doi: 10.3892/etm.2020.8428. Epub 2020 Jan 7. PMID: 32104256; PMCID: PMC7027013.
120. Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation.* 2005 Jun 28;111(25):3481-8. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.537878. PMID: 15983262.
121. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature.* 2002 Dec 19-26;420(6917):868-74. doi: 10.1038/nature01323. PMID: 12490960.
122. Lightman SL. The neuroendocrinology of stress: a never ending story. *J Neuroendocrinol.* 2008 Jun;20(6):880-4. doi: 10.1111/j.1365-2826.2008.01711.x. PMID: 18601712.
123. Lim JG, McAveney TJ, Fleg JL, Shapiro EP, Turner KL, Bacher AC, Ouyang P, Stewart KJ. Oxygen pulse during exercise is related to resting systolic and diastolic left ventricular function in older persons with mild hypertension. *Am Heart J.* 2005 Nov;150(5):941-6. doi: 10.1016/j.ahj.2004.12.021. PMID: 16290969.
124. Lopaschuk GD, Stanley WC. Glucose metabolism in the ischemic heart. *Circulation.* 1997 Jan 21;95(2):313-5. doi: 10.1161/01.cir.95.2.313. PMID: 9008441.
125. Lundberg AK, Jönsson S, Stenmark J, Kristenson M, Jonasson L. Stress-induced release of matrix metalloproteinase-9 in patients with coronary artery disease: The possible influence of cortisol. *Psychoneuroendocrinology.* 2016 Nov;73:117-124. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.07.219. Epub 2016 Jul 27. PMID: 27494070.
126. Mackay J, Mensah G, World Health Organization. (2004). *The atlas of heart disease and stroke; with Shanthi Mendis and Kurt Greenland.* World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43007>
127. Malakar AK, Choudhury D, Halder B, Paul P, Uddin A, Chakraborty S. A review on coronary artery disease, its risk factors, and therapeutics. *J Cell Physiol.* 2019 Aug;234(10):16812-16823. doi: 10.1002/jcp.28350. Epub 2019 Feb 20. PMID: 30790284.
128. Malan L, Schutte CE, Alkerwi A, Stranges S, Malan NT. Hypothalamic-pituitary-adrenal-axis dysregulation and double product increases potentiate ischemic heart disease risk in a Black male cohort: the SABPA study. *Hypertens Res.* 2017 Jun;40(6):590-597. doi: 10.1038/hr.2017.5. Epub 2017 Feb 9. PMID: 28179626.
129. Malhotra R, Bakken K, D'Elia E, Lewis GD. Cardiopulmonary Exercise Testing in Heart Failure. *JACC Heart Fail.* 2016 Aug;4(8):607-16. doi: 10.1016/j.jchf.2016.03.022. Epub 2016 Jun 8. PMID: 27289406.
130. Mancini DM, Eisen H, Kussmaul W, Mull R, Edmunds LH Jr, Wilson JR. Value of peak exercise oxygen consumption for optimal timing of cardiac transplantation in ambulatory patients with



- heart failure. *Circulation*. 1991 Mar;83(3):778-86. doi: 10.1161/01.cir.83.3.778. PMID: 1999029.
131. Marić J. Psihopatološke reakcije na stresne situacije. In: Marić J, editor. *Klinička psihijatrija*. Beograd: Barex; 1998. p. 304-313.
  132. Mathur RS, Revill SM, Vara DD, Walton R, Morgan MD. Comparison of peak oxygen consumption during cycle and treadmill exercise in severe chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 1995 Aug;50(8):829-33. doi: 10.1136/thx.50.8.829. PMID: 7570432; PMCID: PMC474893.
  133. Maisonpierre PC, Le Beau MM, Espinosa R 3rd, Ip NY, Belluscio L, de la Monte SM, Squinto S, Furth ME, Yancopoulos GD. Human and rat brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3: gene structures, distributions, and chromosomal localizations. *Genomics*. 1991 Jul;10(3):558-68. doi: 10.1016/0888-7543(91)90436-i. PMID: 1889806.
  134. Mazaheri R, Shakerian F, Vasheghani-Farahani A, Halabchi F, Mirshahi M, Mansournia MA. The usefulness of cardiopulmonary exercise testing in assessment of patients with suspected coronary artery disease. *Postgrad Med J*. 2016 Jun;92(1088):328-32. doi: 10.1136/postgradmedj-2015-133576. Epub 2016 Feb 3. PMID: 26842971.
  135. McEwen BS, Gianaros PJ. Central role of the brain in stress and adaptation: links to socioeconomic status, health, and disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Feb;1186:190-222. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05331.x. PMID: 20201874; PMCID: PMC2864527.
  136. McEwen BS, Gianaros PJ. Central role of the brain in stress and adaptation: links to socioeconomic status, health, and disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Feb;1186:190-222. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05331.x. PMID: 20201874; PMCID: PMC2864527.
  137. McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev*. 2007 Jul;87(3):873-904. doi: 10.1152/physrev.00041.2006. PMID: 17615391.
  138. McLoughlin L, Medback S, Grossman AB. Circulating opioids in man. In: Hertz A, Akil H, Simon EJ, editors. *Handbook of Experimental Pharmacology*. Berlin: Springer; 1993. p 673-696.
  139. Mededović S, Jakovljević V, Vujanović S, Pavlović M, Randelović D, Komadina-Vuković M. Značaj NT-pro-BNP-a u proceni funkcije leve komore u bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*. 2009;10(1):9-13.
  140. Megha R, Wehrle CJ, Kashyap S, Leslie SW. Anatomy, Abdomen and Pelvis: Adrenal Glands (Suprarenal Glands). 2022 Oct 17. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 29489211.
  141. Methvin AB, Owens AT, Emmi AG, Allen M, Wieggers SE, Dries DL, Margulies KB, Forfia PR. Ventilatory inefficiency reflects right ventricular dysfunction in systolic heart failure. *Chest*. 2011 Mar;139(3):617-625. doi: 10.1378/chest.10-0318. Epub 2010 Aug 5. PMID: 20688926.
  142. Mostofsky E, Penner EA, Mittleman MA. Outbursts of anger as a trigger of acute cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J*. 2014 Jun 1;35(21):1404-10. doi: 10.1093/eurheartj/ehu033. Epub 2014 Mar 3. PMID: 24591550; PMCID: PMC4043318.
  143. Munck A, Guyre PM, Holbrook NJ. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr Rev*. 1984 Winter;5(1):25-44. doi: 10.1210/edrv-5-1-25. PMID: 6368214.
  144. Muscat KM, Kotrach HG, Wilkinson-Maitland CA, Schaeffer MR, Mendonca CT, Jensen D. Physiological and perceptual responses to incremental exercise testing in healthy men: effect of exercise test modality. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2015 Nov;40(11):1199-209. doi: 10.1139/apnm-2015-0179. Epub 2015 Aug 4. PMID: 26501683.
  145. Myhre PL, Vaduganathan M, Claggett B, Packer M, Desai AS, Rouleau JL, Zile MR, Swedberg K, Lefkowitz M, Shi V, McMurray JJV, Solomon SD. B-Type Natriuretic Peptide During Treatment With Sacubitril/Valsartan: The PARADIGM-HF Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2019 Mar

- 26;73(11):1264-1272. doi: 10.1016/j.jacc.2019.01.018. Epub 2019 Mar 4. PMID: 30846338; PMCID: PMC7955687.
146. Nanas S, Nanas J, Kassiotis C, Nikolaou C, Tsagalou E, Sakellariou D, Terovitis I, Papazachou O, Drakos S, Papamichalopoulos A, Roussos C. Early recovery of oxygen kinetics after submaximal exercise test predicts functional capacity in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2001 Dec;3(6):685-92. doi: 10.1016/s1388-9842(01)00187-8. PMID: 11738220.
  147. Naville D, Jaillard C, Barjhoux L, Durand P, Bégeot M. Genomic structure and promoter characterization of the human ACTH receptor gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997 Jan 3;230(1):7-12. doi: 10.1006/bbrc.1996.5911. PMID: 9020063.
  148. Neary NM, Booker OJ, Abel BS, Matta JR, Muldoon N, Sinaii N, Pettigrew RI, Nieman LK, Gharib AM. Hypercortisolism is associated with increased coronary arterial atherosclerosis: analysis of noninvasive coronary angiography using multidetector computerized tomography. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 May;98(5):2045-52. doi: 10.1210/jc.2012-3754. Epub 2013 Apr 4. PMID: 23559084; PMCID: PMC3644598.
  149. Netter, FH (1989) *Atlas of Human Anatomy*, 2nd Ed. Novartis Summit New Jersey, Icon Learning Systems, LLC
  150. Nijm J, Kristenson M, Olsson AG, Jonasson L. Impaired cortisol response to acute stressors in patients with coronary disease. Implications for inflammatory activity. *J Intern Med.* 2007 Sep;262(3):375-84. doi: 10.1111/j.1365-2796.2007.01817.x. PMID: 17697159.
  151. Oakley RH, Cidlowski JA. The biology of the glucocorticoid receptor: new signaling mechanisms in health and disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Nov;132(5):1033-44. doi: 10.1016/j.jaci.2013.09.007. Epub 2013 Sep 29. PMID: 24084075; PMCID: PMC4084612.
  152. Okutucu S, Aparci M, Sabanoglu C, Karakulak UN, Aksoy H, Ozturk C, Karaduman M, Isilak Z, Adar A, Oto A. Assessment of cardiac autonomic functions by heart rate recovery indices in patients with myocardial bridge. *Cardiol J.* 2016;23(5):524-531. doi: 10.5603/CJ.a2016.0046. Epub 2016 Jul 7. PMID: 27387063.
  153. Omerovic S, Jain A. Echocardiogram. 2023 Jan 29. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 32644366.
  154. Ottani A, Giuliani D, Neri L, Calevro A, Canalini F, Vandini E, Cainazzo MM, Ruberto IA, Barbieri A, Rossi R, Guarini S. NDP- $\alpha$ -MSH attenuates heart and liver responses to myocardial reperfusion via the vagus nerve and JAK/ERK/STAT signaling. *Eur J Pharmacol.* 2015 Dec 15;769:22-32. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.10.022. Epub 2015 Oct 22. PMID: 26477637.
  155. Scanlon PJ, Faxon DP, Audet AM, Carabello B, Dehmer GJ, Eagle KA, Legako RD, Leon DF, Murray JA, Nissen SE, Pepine CJ, Watson RM, Ritchie JL, Gibbons RJ, Chaitlin MD, Gardner TJ, Garson A Jr, Russell RO Jr, Ryan TJ, Smith SC Jr. ACC/AHA guidelines for coronary angiography. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines (Committee on Coronary Angiography). Developed in collaboration with the Society for Cardiac Angiography and Interventions. *J Am Coll Cardiol.* 1999 May;33(6):1756-824. doi: 10.1016/s0735-1097(99)00126-6. PMID: 10334456.
  156. Pänkäläinen MT, Kerola TV, Hintikka JJ. Pessimism and the risk for coronary heart disease among middle-aged and older Finnish men and women: a ten-year follow-up study. *BMC Cardiovasc Disord.* 2015 Oct 2;15:113. doi: 10.1186/s12872-015-0097-y. PMID: 26432506; PMCID: PMC4592564.
  157. Pavia L, Myers J, Cesare R. Recovery kinetics of oxygen uptake and heart rate in patients with coronary artery disease and heart failure. *Chest.* 1999 Sep;116(3):808-13. doi: 10.1378/chest.116.3.808. PMID: 10492291.
  158. Picano E, Pellikka PA. *Stress echocardiography textbook*. Springer; 2020.



159. Authors/Task Force Members; Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, Cooney MT, Corrà U, Cosyns B, Deaton C, Graham I, Hall MS, Hobbs FD, Løchen ML, Löllgen H, Marques-Vidal P, Perk J, Prescott E, Redon J, Richter DJ, Sattar N, Smulders Y, Tiberi M, van der Worp HB, van Dis I, Verschuren WM; Additional Contributor: Simone Binno (Italy); Document Reviewers:; De Backer G, Roffi M, Aboyans V, Bachl N, Bueno H, Carerj S, Cho L, Cox J, De Sutter J, Egidi G, Fisher M, Fitzsimons D, Franco OH, Guenoun M, Jennings C, Jug B, Kirchhof P, Kotseva K, Lip GY, Mach F, Mancia G, Bermudo FM, Mezzani A, Niessner A, Ponikowski P, Rauch B, Rydén L, Stauder A, Turc G, Wiklund O, Windecker S, Zamorano JL. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts): Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur J Prev Cardiol*. 2016 Jul;23(11):NP1-NP96. doi: 10.1177/2047487316653709. Epub 2016 Jun 27. PMID: 27353126.
160. Pivonello R, De Martino MC, Iacuniello D, Simeoli C, Muscogiuri G, Carlomagno F, De Leo M, Cozzolino A, Colao A. Metabolic Alterations and Cardiovascular Outcomes of Cortisol Excess. *Front Horm Res*. 2016;46:54-65. doi: 10.1159/000443864. Epub 2016 May 17. PMID: 27212264.
161. Pompili M, Serafini G, Innamorati M, Möller-Leimkühler AM, Giupponi G, Girardi P, Tatarelli R, Lester D. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and serotonin abnormalities: a selective overview for the implications of suicide prevention. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2010 Dec;260(8):583-600. doi: 10.1007/s00406-010-0108-z. Epub 2010 Feb 20. PMID: 20174927.
162. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JG, Coats AJ, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GM, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P; Authors/Task Force Members; Document Reviewers. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail*. 2016 Aug;18(8):891-975. doi: 10.1002/ejhf.592. Epub 2016 May 20. PMID: 27207191.
163. Popovic D, Damjanovic S, Djordjevic T, Martic D, Ignjatovic S, Milinkovic N, Banovic M, Lasica R, Petrovic M, Guazzi M, Arena R. Stress hormones at rest and following exercise testing predict coronary artery disease severity and outcome. *Stress*. 2017 Sep;20(5):523-531. doi: 10.1080/10253890.2017.1368488. Epub 2017 Aug 28. PMID: 28845719.
164. Popovic D, Guazzi M, Jakovljevic DG, Lasica R, Banovic M, Ostojic M, Arena R. Quantification of coronary artery disease using different modalities of cardiopulmonary exercise testing. *Int J Cardiol*. 2019 Jun 15;285:11-13. doi: 10.1016/j.ijcard.2019.03.012. Epub 2019 Mar 9. PMID: 30879940.
165. Popovic D, Plecas-Solarovic B, Pesic V, Petrovic M, Vujisic-Tesic B, Popovic B, Ignjatovic S, Ristic A, Damjanovic SS. How does stress possibly affect cardiac remodeling? *Peptides*. 2014 Jul;57:20-30. doi: 10.1016/j.peptides.2014.04.006. Epub 2014 Apr 18. PMID: 24751938.
166. Popovic D, Popovic B, Plecas-Solarovic B, Pešić V, Markovic V, Stojiljkovic S, Vukcevic V, Petrovic I, Banovic M, Petrovic M, Vujisic-Tesic B, Ostojic MC, Ristic A, Damjanovic SS. The interface of hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis and circulating brain natriuretic peptide in prediction of cardiopulmonary performance during physical stress. *Peptides*. 2013 Sep;47:85-93. doi: 10.1016/j.peptides.2013.07.009. Epub 2013 Jul 20. PMID: 23876603.



167. Porter JC, Klaiber MS 1965 Corticosterone secretion in rats as a function of ACTH input and adrenal blood flow. *Am J Physiol* 209:811–814
168. Potter LR, Yoder AR, Flora DR, Antos LK, Dickey DM. Natriuretic peptides: their structures, receptors, physiologic functions and therapeutic applications. *Handb Exp Pharmacol*. 2009;(191):341-66. doi: 10.1007/978-3-540-68964-5\_15. PMID: 19089336; PMCID: PMC4855512.
169. Belardinelli R, Lacalaprice F, Carle F, Minnucci A, Cianci G, Perna G, D'Eusanio G. Exercise-induced myocardial ischaemia detected by cardiopulmonary exercise testing. *Eur Heart J*. 2003 Jul;24(14):1304-13. doi: 10.1016/s0195-668x(03)00210-0. PMID: 12871687.
170. Ratman D, Vanden Berghe W, Dejager L, Libert C, Tavernier J, Beck IM, De Bosscher K. How glucocorticoid receptors modulate the activity of other transcription factors: a scope beyond tethering. *Mol Cell Endocrinol*. 2013 Nov 5;380(1-2):41-54. doi: 10.1016/j.mce.2012.12.014. Epub 2012 Dec 23. PMID: 23267834.
171. Raastad T, Glomsheller T, Bjøro T, Hallén J. Changes in human skeletal muscle contractility and hormone status during 2 weeks of heavy strength training. *Eur J Appl Physiol*. 2001 Jan-Feb;84(1-2):54-63. doi: 10.1007/s004210000328. PMID: 11394254.
172. Reef VB. Advances in echocardiography. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 1991 Aug;7(2):435-50. doi: 10.1016/s0749-0739(17)30508-4. PMID: 1933572.
173. Reul JM, de Kloet ER. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology*. 1985 Dec;117(6):2505-11. doi: 10.1210/endo-117-6-2505. PMID: 2998738.
174. Richardson RV, Batchen EJ, Thomson AJ, Darroch R, Pan X, Rog-Zielinska EA, Wyrzykowska W, Scullion K, Al-Dujaili EA, Diaz ME, Moran CM, Kenyon CJ, Gray GA, Chapman KE. Glucocorticoid receptor alters isovolumetric contraction and restrains cardiac fibrosis. *J Endocrinol*. 2017 Mar;232(3):437-450. doi: 10.1530/JOE-16-0458. Epub 2017 Jan 5. PMID: 28057868; PMCID: PMC5292999.
175. Rinne P, Tikka S, Mäkelä S, Streng T, Savontaus E. Hemodynamic actions and mechanisms of systemically administered  $\alpha$ -MSH analogs in mice. *Peptides*. 2012 Nov;38(1):150-8. doi: 10.1016/j.peptides.2012.09.004. Epub 2012 Sep 11. PMID: 22982611.
176. Rivier C, Vale W. Effects of corticotropin-releasing factor, neurohypophyseal peptides, and catecholamines on pituitary function. *Fed Proc*. 1985 Jan;44(1 Pt 2):189-95. PMID: 2981740.
177. Rog-Zielinska EA, Thomson A, Kenyon CJ, Brownstein DG, Moran CM, Szumska D, Michailidou Z, Richardson J, Owen E, Watt A, Morrison H, Forrester LM, Bhattacharya S, Holmes MC, Chapman KE. Glucocorticoid receptor is required for foetal heart maturation. *Hum Mol Genet*. 2013 Aug 15;22(16):3269-82. doi: 10.1093/hmg/ddt182. Epub 2013 Apr 16. PMID: 23595884.
178. Ronaldson A, Kidd T, Poole L, Leigh E, Jahangiri M, Steptoe A. Diurnal Cortisol Rhythm Is Associated With Adverse Cardiac Events and Mortality in Coronary Artery Bypass Patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Oct;100(10):3676-82. doi: 10.1210/jc.2015-2617. Epub 2015 Aug 25. PMID: 26305622; PMCID: PMC4889728.
179. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999 Jan 14;340(2):115-26. doi: 10.1056/NEJM199901143400207. PMID: 9887164.
180. Rutledge T, Kenkre TS, Thompson DV, Bittner VA, Whittaker K, Eastwood JA, Eteiba W, Cornell CE, Krantz DS, Pepine CJ, Johnson BD, Handberg EM, Bairey Merz CN. Psychosocial predictors of long-term mortality among women with suspected myocardial ischemia: the NHLBI-sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation. *J Behav Med*. 2016 Aug;39(4):687-93. doi: 10.1007/s10865-016-9737-7. Epub 2016 Mar 26. PMID: 27017335; PMCID: PMC5889138.

181. Rylski B, Branchetti E, Bavaria JE, Vallabhajosyula P, Szeto WY, Milewski RK, Desai ND. Modeling of predissection aortic size in acute type A dissection: More than 90% fail to meet the guidelines for elective ascending replacement. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014 Sep;148(3):944-8.e1. doi: 10.1016/j.jtcvs.2014.05.050. Epub 2014 May 22. PMID: 24998700.
182. Sainsbury A, Cooney GJ, Herzog H. Hypothalamic regulation of energy homeostasis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2002 Dec;16(4):623-37. doi: 10.1053/beem.2002.0230. PMID: 12468411.
183. Sapirstein LA, Goldman H 1959 Adrenal blood flow in the albino rat. *Am J Physiol* 196:159–162
184. Sanchis-Gomar F, Perez-Quilis C, Leischik R, Lucia A. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome. *Ann Transl Med.* 2016 Jul;4(13):256. doi: 10.21037/atm.2016.06.33. PMID: 27500157; PMCID: PMC4958723.
185. Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev.* 2000 Feb;21(1):55-89. doi: 10.1210/edrv.21.1.0389. PMID: 10696570.
186. Schaaf MJ, Cidlowski JA. Molecular determinants of glucocorticoid receptor mobility in living cells: the importance of ligand affinity. *Mol Cell Biol.* 2003 Mar;23(6):1922-34. doi: 10.1128/MCB.23.6.1922-1934.2003. PMID: 12612067; PMCID: PMC149474.
187. Schmidt H, Francis DP, Rauchhaus M, Werdan K, Piepoli MF. Chemo- and ergoreflexes in health, disease and ageing. *Int J Cardiol.* 2005 Feb 28;98(3):369-78. doi: 10.1016/j.ijcard.2004.01.002. PMID: 15708167.
188. Schnohr P, Marott JL, Kristensen TS, Gynzelberg F, Grønbaek M, Lange P, Jensen MT, Jensen GB, Prescott E. Ranking of psychosocial and traditional risk factors by importance for coronary heart disease: the Copenhagen City Heart Study. *Eur Heart J.* 2015 Jun 7;36(22):1385-93. doi: 10.1093/eurheartj/ehv027. Epub 2015 Feb 13. PMID: 25681607.
189. Serruys PW, Morice MC, Kappetein AP, Colombo A, Holmes DR, Mack MJ, Stähle E, Feldman TE, van den Brand M, Bass EJ, Van Dyck N, Leadley K, Dawkins KD, Mohr FW; SYNTAX Investigators. Percutaneous coronary intervention versus coronary-artery bypass grafting for severe coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2009 Mar 5;360(10):961-72. doi: 10.1056/NEJMoa0804626. Epub 2009 Feb 18. Erratum in: *N Engl J Med.* 2013 Feb 7;368(6):584. PMID: 19228612.
190. Sianos G, Morel MA, Kappetein AP, Morice MC, Colombo A, Dawkins K, van den Brand M, Van Dyck N, Russell ME, Mohr FW, Serruys PW. The SYNTAX Score: an angiographic tool grading the complexity of coronary artery disease. *EuroIntervention.* 2005 Aug;1(2):219-27. PMID: 19758907.
191. Sicari R, Cortigiani L. The clinical use of stress echocardiography in ischemic heart disease. *Cardiovasc Ultrasound.* 2017 Mar 21;15(1):7. doi: 10.1186/s12947-017-0099-2. PMID: 28327159; PMCID: PMC5361820.
192. Singh S, Goyal A. The origin of echocardiography: a tribute to Inge Edler. *Tex Heart Inst J.* 2007;34(4):431-8. PMID: 18172524; PMCID: PMC2170493.
193. Skoluda N, Dettenborn L, Stalder T, Kirschbaum C. Elevated hair cortisol concentrations in endurance athletes. *Psychoneuroendocrinology.* 2012 May;37(5):611-7. doi: 10.1016/j.psyneuen.2011.09.001. Epub 2011 Sep 25. PMID: 21944954.
194. Slawik M, Reisch N, Zwermann O, Maser-Gluth C, Stahl M, Klink A, Reincke M, Beuschlein F. Characterization of an adrenocorticotropin (ACTH) receptor promoter polymorphism leading to decreased adrenal responsiveness to ACTH. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Jul;89(7):3131-7. doi: 10.1210/jc.2003-032010. PMID: 15240582.



195. Smith SM, Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin Neurosci.* 2006;8(4):383-95. doi: 10.31887/DCNS.2006.8.4/ssmith. PMID: 17290797; PMCID: PMC3181830.
196. Smyth N, Thorn L, Hucklebridge F, Clow A, Evans P. Assessment of the cortisol awakening response: Real-time analysis and curvilinear effects of sample timing inaccuracy. *Psychoneuroendocrinology.* 2016 Dec;74:380-386. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.09.026. Epub 2016 Sep 30. PMID: 27750142.
197. Song R, Hu XQ, Zhang L. Glucocorticoids and programming of the microenvironment in heart. *J Endocrinol.* 2019 Jul 1;242(1):T121-T133. doi: 10.1530/JOE-18-0672. PMID: 31018174; PMCID: PMC6602534.
198. Sousa A, Rodriguez FA, Machado L, Vilas-Boas JP, Fernandes RJ. Exercise modality effect on oxygen uptake off-transient kinetics at maximal oxygen uptake intensity. *Exp Physiol.* 2015 Jun;100(6):719-29. doi: 10.1113/EP085014. Epub 2015 May 20. Erratum in: *Exp Physiol.* 2016 Jan 1;101(1):207. PMID: 25865136.
199. Spencer RL, Deak T. A users guide to HPA axis research. *Physiol Behav.* 2017 Sep 1;178:43-65. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.11.014. Epub 2016 Nov 18. PMID: 27871862; PMCID: PMC5451309.
200. Stark E, Varga B, Acs Z, Papp M 1965 Adrenal blood flow response to adrenocorticotrophic hormone and other stimuli in the dog. *Pflugers Arch Gesamte Physiol Menschen Tiere* 285:296–301
201. Steptoe A, Kivimäki M. Stress and cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol.* 2012 Apr 3;9(6):360-70. doi: 10.1038/nrcardio.2012.45. PMID: 22473079.
202. Sumimoto T, Sugiura T, Takeuchi M, Yuasa F, Iwasaka T, Inada M. Overshoot in mixed venous oxygen saturation during recovery from supine bicycle exercise in patients with recent myocardial infarction. *Chest.* 1993 Feb;103(2):514-20. doi: 10.1378/chest.103.2.514. PMID: 8432146.
203. Syed AA, Weaver JU. Glucocorticoid sensitivity: the hypothalamic-pituitary-adrenal-tissue axis. *Obes Res.* 2005 Jul;13(7):1131-3. doi: 10.1038/oby.2005.132. PMID: 16076979.
204. Tanabe Y, Nakagawa I, Ito E, Suzuki K. Hemodynamic basis of the reduced oxygen uptake relative to work rate during incremental exercise in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol.* 2002 Apr;83(1):57-62. doi: 10.1016/s0167-5273(02)00013-x. PMID: 11959385.
205. Tanabe Y, Takahashi M, Hosaka Y, Ito M, Ito E, Suzuki K. Prolonged recovery of cardiac output after maximal exercise in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2000 Apr;35(5):1228-36. doi: 10.1016/s0735-1097(00)00517-9. PMID: 10758965.
206. Thau L, Gandhi J, Sharma S. *Physiology, Cortisol.* StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538239/>
207. The Global Burden of Disease study 2019 (GBD 2019), Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME), University of Washington. Accessed Jul 2023. <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool>
208. Thompson DL Jr, Valencia NA, Walker NL, Oberhaus EL. Melanocyte-Stimulating Hormone Response to Exercise, Twitching, Epinephrine Injection, Substance P Injection, and Prostaglandin-F2 $\alpha$  Administration in Mares. *J Equine Vet Sci.* 2019 Jun;77:114-120. doi: 10.1016/j.jevs.2019.03.002. Epub 2019 Mar 21. PMID: 31133303.
209. Townsend N, Nichols M, Scarborough P, Rayner M. Cardiovascular disease in Europe--epidemiological update 2015. *Eur Heart J.* 2015 Oct 21;36(40):2696-705. doi: 10.1093/eurheartj/ehv428. Epub 2015 Aug 25. PMID: 26306399.



210. Ukkonen H, Burwash IG, Dafoe W, de Kemp RA, Haddad H, Yoshinaga K, Davies RA, Gannon EK, Dasilva JN, Beanlands RS. Is ventilatory efficiency (VE/VCO<sub>2</sub> slope) associated with right ventricular oxidative metabolism in patients with congestive heart failure? *Eur J Heart Fail.* 2008 Nov;10(11):1117-22. doi: 10.1016/j.ejheart.2008.08.010. Epub 2008 Sep 24. PMID: 18818123.
211. Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci.* 2009 Jun;10(6):397-409. doi: 10.1038/nrn2647. PMID: 19469025; PMCID: PMC4240627.
212. Utiger, RD. "adrenal gland". *Encyclopedia Britannica*, 2023, June <https://www.britannica.com/science/adrenal-gland>
213. van den Akker EL, Russcher H, van Rossum EF, Brinkmann AO, de Jong FH, Hokken A, Pols HA, Koper JW, Lamberts SW. Glucocorticoid receptor polymorphism affects transrepression but not transactivation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Jul;91(7):2800-3. doi: 10.1210/jc.2005-2119. Epub 2006 May 9. PMID: 16684836.
214. van Moorsel D, van Greevenbroek MM, Schaper NC, Henry RM, Geelen CC, van Rossum EF, Nijpels G, 't Hart LM, Schalkwijk CG, van der Kallen CJ, Sauerwein HP, Dekker JM, Stehouwer CD, Havekes B. Bell glucocorticoid receptor polymorphism in relation to cardiovascular variables: the Hoorn and CODAM studies. *Eur J Endocrinol.* 2015 Oct;173(4):455-64. doi: 10.1530/EJE-15-0381. Epub 2015 Jul 2. PMID: 26139210.
215. van Ockenburg SL, Rosmalen JG, Bakker SJ, de Jonge P, Gans RO. Effects of urinary cortisol levels and resting heart rate on the risk for fatal and nonfatal cardiovascular events. *Atherosclerosis.* 2016 May;248:44-50. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.02.030. Epub 2016 Feb 27. PMID: 26987065.
216. van Reedt Dortland AK, Vreeburg SA, Giltay EJ, Licht CM, Vogelzangs N, van Veen T, de Geus EJ, Penninx BW, Zitman FG. The impact of stress systems and lifestyle on dyslipidemia and obesity in anxiety and depression. *Psychoneuroendocrinology.* 2013 Feb;38(2):209-18. doi: 10.1016/j.psyneuen.2012.05.017. Epub 2012 Jun 18. PMID: 22717171.
217. Vecsernyes M, Juhasz B, Der P, Kocsan R, Feher P, Bacskay I, Kovacs P, Tosaki A. The administration of alpha-melanocyte-stimulating hormone protects the ischemic/reperfused myocardium. *Eur J Pharmacol.* 2003 Jun 6;470(3):177-83. doi: 10.1016/s0014-2999(03)01780-1. PMID: 12798956.
218. Vecsernyes M, Szokol M, Bombicz M, Priksz D, Gesztelyi R, Fulop GA, Varga B, Juhasz B, Haines D, Tosaki A. Alpha-Melanocyte-stimulating Hormone Induces Vasodilation and Exerts Cardioprotection Through the Heme-Oxygenase Pathway in Rat Hearts. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2017 May;69(5):286-297. doi: 10.1097/FJC.0000000000000472. PMID: 28195947; PMCID: PMC5426697.
219. Vedder H, *Physiology of the Hypothalamic–Pituitary–Adrenocortical Axis*, *NeuroImmune Biology*, 2007, Vol7,17-31, ISSN 1567-7443, ISBN 9780444530400, [https://doi.org/10.1016/S1567-7443\(07\)00202-5](https://doi.org/10.1016/S1567-7443(07)00202-5).
220. Verberne AJ, Sabetghadam A, Korim WS. Neural pathways that control the glucose counterregulatory response. *Front Neurosci.* 2014 Feb 26;8:38. doi: 10.3389/fnins.2014.00038. PMID: 24616659; PMCID: PMC3935387.
221. Waller C, Bauersachs J, Hoppmann U, Höch J, Krause S, Szabo F, Engler H, Rottler E, Herrmann-Lingen C, Gündel H. Blunted Cortisol Stress Response and Depression-Induced Hypocortisolism Is Related to Inflammation in Patients With CAD. *J Am Coll Cardiol.* 2016 Mar 8;67(9):1124-1126. doi: 10.1016/j.jacc.2015.12.031. PMID: 26940935.

222. Wasserman K, Hansen JE, Sue DY, Stringer W, Whipp BJ, Principles of Exercise Testing and Interpretation, fourth ed Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2005 10–65. *Can J Cardiol.* 2007 Mar 15; 23(4): 274. PMID: PMC2647882.
223. Whiteside TL, Boyiadzis M, Herberman RB, Natural Killer (NK) Cells\*, *Encyclopedia of Stress (Second Edition)*, Academic Press, 2007, 815-821, ISBN 9780123739476, <https://doi.org/10.1016/B978-012373947-6.00269-5>.
224. Wittert GA, Livesey JH, Espiner EA, Donald RA. Adaptation of the hypothalamopituitary adrenal axis to chronic exercise stress in humans. *Med Sci Sports Exerc.* 1996 Aug;28(8):1015-9. doi: 10.1097/00005768-199608000-00011. PMID: 8871911
225. Wulsin AC, Herman JP, Solomon MB. Mifepristone decreases depression-like behavior and modulates neuroendocrine and central hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis responsiveness to stress. *Psychoneuroendocrinology.* 2010 Aug;35(7):1100-12. doi: 10.1016/j.psyneuen.2010.01.011. Epub 2010 Feb 10. PMID: 20149549; PMID: PMC3934351.
226. Yang Y, Hruby VJ, Chen M, Crasto C, Cai M, Harmon CM. Novel binding motif of ACTH analogues at the melanocortin receptors. *Biochemistry.* 2009 Oct 20;48(41):9775-84. doi: 10.1021/bi900634e. PMID: 19743876; PMID: PMC2775456.
227. Yi CX, Foppen E, Abplanalp W, Gao Y, Alkemade A, la Fleur SE, Serlie MJ, Fliers E, Buijs RM, Tschöp MH, Kalsbeek A. Glucocorticoid signaling in the arcuate nucleus modulates hepatic insulin sensitivity. *Diabetes.* 2012 Feb;61(2):339-45. doi: 10.2337/db11-1239. Epub 2011 Dec 30. PMID: 22210324; PMID: PMC3266416.
228. Zigova T, Pencea V, Wiegand SJ, Luskin MB. Intraventricular administration of BDNF increases the number of newly generated neurons in the adult olfactory bulb. *Mol Cell Neurosci.* 1998 Jul;11(4):234-45. doi: 10.1006/mcne.1998.0684. PMID: 9675054.
229. Zuccarella-Hackl C, von Känel R, Thomas L, Kuebler P, Schmid JP, Mattle HP, Mono ML, Rieben R, Wiest R, Wirtz PH. Higher macrophage superoxide anion production in coronary artery disease (CAD) patients with Type D personality. *Psychoneuroendocrinology.* 2016 Jun;68:186-93. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.02.031. Epub 2016 Mar 2. PMID: 26994482.
230. Task Force Members, Montalescot G, Sechtem U, et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology [published correction appears in *Eur Heart J.* 2014 Sep 1;35(33):2260-1]. *Eur Heart J.* 2013;34(38):2949-3003. doi:10.1093/eurheartj/eh296

## 10. SPISAK SKRAĆENICA

Δ	promena
ABP	arterijski krvni pritisak
ACE	Angiotenzin konvertujući enzim
ACTH	adrenokortikotropni hormon
alfa-MSH	alfa-melanocit-stimulišući hormon
Ang-II	angiotenzin II
ANP	atrijalni natriuretski peptid
AVP	arginin-vazopresin
BMI	Indeks telesne težine
BSA	Telesna površina (m <sup>2</sup> )
CABG	bajpas graft koronarne arterije
CAD	Bolesti koronarnih arterija
CaO <sub>2</sub>	koncentracija kapilarnog arterijskog kiseonika
CavO <sub>2</sub> = (CaO <sub>2</sub> - CvO <sub>2</sub> )	neto ekstrakcija kiseonika iz perifernih tkiva
CK	kreatin kinaza
CK-MB	kreatin kinaza MB izoforma specifična za miocite
CPET	kardiopulmonalni test opterećenja
CRH	Kortikotropin oslobađajući hormon
CRP	C reaktivni protein
CT	komputerizovana tomografija
CvO <sub>2</sub>	koncentracija kapilarnog venskog kiseonika
DBP	dijastolni krvni pritisak
ECG	ehokardiogram
EF	ejekciona frakcija
ERK	ekstracelularnim signalom regulisan signalni put
ET-1	endotelin I receptor
GR	glukokortikoidni receptor
HDL	lipoproteini visoke gustine
HFrEF	srčana insuficijencija sa očuvanom ejskcionom frakcijom
HPA osovina	osovina Hipotalamus-hipofiza-adrenalna žezda
HR	srčana frekvenca
IL	Interleukini
IVS	interventrikularni septum
IVSd	debljina interventrikularnog septuma u dijastoli
LA	leva pretkomora
LDL	lipoproteini niske gustine
LV	leva komora
LVDd	end-dijastolni dijametar zida leve komore
LVEF	ejekciona frakcija leve komore
LVM	masa leve komore srca
MAPK	signalni put mitogen-aktivirane protein kinaze
MAPSE	mitralni anularni sistolni pokret
MI	Infarkt miokarda
MIF	faktor inhibicije migracije makrofaga
MR	mineralokortikoidni receptor
NF-κB	nuklearni faktor kappaB



NK ćelije	natural killer ćelije
NP	natriuretski peptidi
NR A-C	natriuretski receptor A, B i C
NT-pro-BNP	NT-pro- $\alpha$ -natriuretski peptid
O <sub>2</sub> puls	kiseonični puls
PaCO <sub>2</sub>	parcijalni pritisak kiseonika
PCI	Perkutana intervencija perkutana koronarna intervencija
PET CO <sub>2</sub>	parcijalni pritisak end-tidalnog CO <sub>2</sub>
POMC	pro-opiomelanokortin
PVN	Paraventrikularni nukleus hipotalamusa
PWTd	dijametar zadnjeg zida leve komore u dijastoli
RAAS	renin-angiotenzin-aldosteron-sistem
RE	ležeći ergometar
RER	respiratorni količnik
RV	desna komora
RVDd	dijametar zida desne komore u dijastoli
SBP	sistolni krvni pritisak
SCA	stenotična koronarna arterija
SD	standardna devijacija
SE	Stres ehokardiografija
SHN	suprahijazmatski nukleus
Sn	osetljivost
Sp	Specifičnost
SS	sintaks skor
ST	segment
TAPSE	trikupsidni anularni sistolni pokret
TIA	tranzitorni ishemijski atak
TM	Tredmil
TNF- $\alpha$	alfa faktor nekroze tumora
TTE	Transtorakalna ehokardiografija
VCO <sub>2</sub>	Minutna prizvodnja ugljen-dioksida
VCO <sub>2</sub>	proizvodnja ugljen-dioksida
VCO <sub>2</sub> max	maksimalna proizvodnja ugljen-dioksida
Vd	mrtvi prostor
VE	Minutna ventilacija
VE	minutna ventilacija
VE/VCO <sub>2</sub>	ugljen-dioksidni ekvivalent
VE/VO <sub>2</sub>	kiseonični ekvivalent
VO <sub>2</sub>	Potrošnja kiseonika
VO <sub>2</sub> max	maksimalna potrošnja kiseonika
VO <sub>2</sub> /HR	kiseonični puls
Vt	plimni volumen
VT	ventilatorni prag
WHO	World Health Organization
WMSI	indeks pokretljivosti zida levog ventrikuluma
WR	Radna efikasnost
WR	radno opterećenje srca

## 11. PRILOZI

### 11.1 Biografija

Dejana Vidojević rođena je 24.8.1989. godine u Sarajevu. U Beogradu je završila osnovnu školu i Šestu beogradsku gimnaziju (smer prirodno-matematički). Nosilac je diplome „Vuk Stefanović Karadžić“. Integrisane akademske studije na Farmaceutskom fakultetu, Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2008/09. godine (smer diplomirani farmaceut). Diplomirala je 2014. godine i stekla zvanje magistra farmacije odbranom završnog rada na Katedri za fiziologiju pod nazivom „Značaj relativnog odnosa nivoa testosterona i kortizola i njegove promene pod uticajem magnezijuma kod ragbista“. Završni rad je odbranila na Katedri za fiziologiju sa ocenom 10.

Po završetku studija, obavila je pripravnički stručni staž u apoteci javnog tipa i bolničkoj apoteci Kliničkog centra Srbije i Urgentnog centra. Državni ispit položila je 2015. godine. Na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu bila je zaposlena od oktobra 2014. godine do juna 2017. godine kao Saradnik u nastavi na katedri za Fiziologiju gde je bila uključena u izvođenje praktične nastave iz predmeta Funkcionalna morfologija čoveka, kao i izbornog predmeta Odabrana poglavlja fiziologije.

Doktorske akademske studije, modul Farmakologija, upisala je školske 2014/15. godine na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu. U međuvremenu je završila Akademiju za klinička ispitivanja (Clinical Research Academy) u Beogradu 2015. godine.

Do sada je objavila 4 naučna rada u časopisima međunarodnog značaja kategorija M21 i M22

2017. godine zaposlila se u kompaniji „AXIOM International d.o.o“ kao saradnik u kliničkim ispitivanjima lekova i medicinskih sredstava, a potom kao menadžer poslova kliničkih ispitivanja.

2019. godine osnovala je firmu za menadžment kliničkih ispitivanja, a od 2023.godine je i koosnivač i direktor firme za razvoj računarskih softvera i idejnih rešenja za potrebe kliničkih ispitivanja.

## 11.2 Obrazac 5. - Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora Dejana Vidojević  
Broj indeksa 2014/038

### IZJAVLJUJEM

da je doktorska disertacija pod naslovom:

“ZNAČAJ HORMONA HIPOTALAMO-HIPOFIZNO-ADRENALNE OSOVINE I GASNIH  
ANALIZA TOKOM STRESA I OPORAVKA OD STRESA U PROCENI TEŽINE KORONARNE  
BOLESTI I STRATIFIKACIJI RIZIKA”

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica

U Beogradu 31. jul 2023.

Dejana Vidojević  
Potpis autora



**11.3 Obrazac 6. -Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada**

Ime i prezime autora Dejana Vidojević

Broj indeksa 2014/038

Studijski program Farmakologija

Naslov rada “Značaj hormona hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine i gasnih analiza tokom stresa i oporavka od stresa u proceni težine koronarne bolesti i stratifikaciji rizika”

Mentor Prof. Dr Dejana Popović

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predala radi pohranjivanja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu 31. jul 2023.

Dejana Vidojević  
Potpis autora

### 11.4 Obrazac 7. - Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

“Značaj hormona hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine i gasnih analiza tokom stresa i oporavka od stresa u proceni težine koronarne bolesti i stratifikaciji rizika”

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo (CC BY)

**2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)**

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)

5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci. Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

U Beogradu 31. jul 2023.

  
Potpis(autora)

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.