

Otvaranje i učinak intrapulmonalnih arteriovenskih anastomoza i interatrijskog ovalnog otvora na arterijsku oksigenaciju i sistemsku mikroembolizaciju

Lozo, Mislav

Doctoral thesis / Disertacija

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:483920>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-17**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET

Mislav Lozo, dr. med.

**OTVARANJE I UČINAK INTRAPULMONALNIH
ARTERIOVENSKIH ANASTOMOZA I INTERATRIJSKOG
OVALNOG OTVORA NA ARTERIJSKU OKSIGENACIJU
I SISTEMSKU MIKROEMBOLIZACIJU**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:

prof. dr. sc. Željko Dujić, dr. med.

Split, 2016.

**Zavod za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta u Splitu
i Klinika za bolesti srca i krvnih žila KBC Split
Mislav Lozo, dr. med.**

ZAHVALA

Ova disertacija predstavlja završni dio putovanja koje sam započeo sa svojim mentorom prof. dr. sc. Željkom Dujićem prije četiri godine. Njegovo vodstvo, usmjeravanje, mentorstvo i prijateljstvo bili su od presudne važnosti te su mi ponudili kako sigurnost tako i uzbuđenje tijekom cijelog puta. Zauvijek ću biti zahvalan za sve što je uradio za mene, ponosan i počašćen što sam ovo iskustvo dijelio s njim.

Dodatno se želim zahvaliti prof. dr. sc. Andrewu T. Loveringu, mentoru u mojem znanstvenom razvoju, koji je bio od neprocjenjive pomoći u ostvarenju ove disertacije. Siguran sam da će obojica biti moji mentori i prijatelji i u godinama koje dolaze.

Posebna zahvala mom ocu Petru, koji je sudjelovao u obje studije predložene u ovoj disertaciji, na podršci, pomoći i potpori. Zahvaljujem se doc. dr. sc. Ottu Baraku, koji je unosio mir i strpljenje, te bio važan član našeg tima. Također, doc. dr. sc. Mihajlu Lojpuru i dr. Krešimiru Čaljkusiću na bezrezervnoj i entuzijastičnoj podršci i pomoći. Dr. sc. Dennisu Maddenu, Ivani Banić i Jamesu T. Davisu hvala na pomoći i prijateljstvu tijekom posljednje četiri godine.

Hvala svim volonterima koji su sudjelovali kao ispitanici u obje predložene studije.

Zahvaljujem se i svojoj majci Anki, bratu Zdeslavu i sestri Emiliji za njihovu bezuvjetnu ljubav i podršku za sve moje izbore i odluke.

Na kraju, posebno se želim zahvaliti svojoj supruzi Mirni koja mi je pružila ogromnu količinu ljubavi, pomoći i podrške na cijelom ovom putu, uključujući i pisanje disertacije, što je bilo neprocjenjivo i ključno za uspjeh.

Hvala vam iz dubine mog srca.

SADRŽAJ

1.	UVOD.....	7
1.1.	Povijesni pregled.....	10
1.2.	Desno-lijevi šant u plućnoj cirkulaciji.....	12
1.3.	Tjelovježba.....	13
1.4.	Hipoksija.....	13
1.5.	Hiperoksija.....	14
1.6.	Anatomski dokazi IPAVA.....	15
1.7.	Kontrastna ehokardiografija.....	16
2.	CILJ RADA I HIPOTEZE.....	17
2.1.	Ciljevi rada.....	18
2.2.	Hipoteze.....	18
3.	ISPITANICI I POSTUPCI.....	19
3.1.	Ispitanici	20
3.2.	Postupci	21
3.2.1.	Informirani pristanak.....	21
3.2.2.	PFO testiranje.....	21
3.2.3.	Određivanje sistoličkog tlaka u plućnoj arteriji.....	23
3.2.4.	Plućna hipertenzija.....	24
3.2.5.	Spirometrija.....	24
3.2.6.	Difuzijski kapacitet pluća za ugljični monoksid.....	25
3.2.7.	Acidobazni status.....	25
3.2.8.	Transkranijjski dopler.....	26
3.2.9.	Hemodinamska mjerenja.....	26
3.2.10.	Posebne okolnosti za bolesnike s fibrilacijom atrijske.....	27
3.2.11.	Priprema ispitanika i istraživački protokol.....	27
3.2.12.	Statistička raščlamba	28
4.	REZULTATI	31
4.1.	Studija I.....	32
4.1.1.	Antropometrijski podatci i plućna funkcija.....	32
4.1.2.	Hemodinamski parametri.....	32
4.1.3.	Stupanj mjehurića.....	33
4.2.	Studija II.....	36

5.	RASPRAVA	42
5.1.	Studija I.....	43
5.1.1.	Nitroglicerina.....	43
5.1.2.	Noradrenalin.....	44
5.1.3.	Aminofilin.....	44
5.1.4.	Ograničenja.....	45
5.2.	Studija II.....	46
5.2.1.	PFO i arterijska hipoksemija.....	46
5.2.2.	Protok krvi kroz IPAVA-e u CHF bolesnika.....	47
5.2.3.	Transkranijski dopler i detekcija protoka kroz PFO i IPAVA-e.....	48
5.2.4.	Ograničenja.....	48
6.	ZAKLJUČAK	50
7.	LITERATURA	52
8.	SAŽETAK	63
9.	SUMMARY	66
10.	ŽIVOTOPIS	69

POPIS OZNAKA I KRATICA

AaDO₂ – alveolarno-arterijska razlika kisika

AMP – aminofilin

BE – višak baza

BF – postotak masnog tkiva

BMI – indeks tjelesne mase

BSA – površina tijela

CHF – kronično srčano zatajivanje

CHF PH+ – kronično srčano zatajivanje i visoka vjerojatnost plućne hipertenzije

CHF PH- – kronično srčano zatajivanje i niska vjerojatnost plućne hipertenzije

CI – srčani indeks

CO – srčani minutni volumen

DBP – dijastolički arterijski tlak

DL_{co} – difuzijski kapacitet pluća za ugljični monoksid

DL_{co}/V_A – difuzijski kapacitet ugljičnog monoksida prilagođen alveolarnom volumenu

EDLVV – volumen lijevog ventrikula na kraju dijastole

ERS – Europsko respiracijsko društvo

ERV – ekspiracijski rezervni volumen

ESC – Europsko kardiološko društvo

ESLVV – volumen lijevog ventrikula na kraju sistole

EVC – ekspiracijski vitalni kapacitet

FEF₂₅₋₇₅ – forsirani ekspiracijski protok od 25 do 75% vitalnog kapaciteta

FEV₁ – forsirani ekspiracijski volumen u prvoj sekundi

FVC – forsirani vitalni kapacitet

Glu – glukoza

Hgb – hemoglobin

HR – srčana frekvencija

iCa²⁺ – ionizirani kalcij

IPAVA – intrapulmonalne arteriovenske anastomoze

IVC – inspiracijski vitalni kapacitet

LAd – promjer lijevog atrija na kraju dijastole

LVEF – ejekcijska frakcija lijevog ventrikula

LVIDd – promjer lijevog ventrikula na kraju dijastole

MAP – srednji arterijski tlak
MCA – srednja moždana arterija
mPAP – srednji tlak u plućnoj arteriji
MR – mitralna regurgitacija
MVV – maksimalna voljna ventilacija
NE – noradrenalin
NTG – nitroglicerina
NYHA – razina srčanog zatajivanja prema New York Heart Association klasifikaciji (I-IV)
PASP – sistolički tlak u plućnoj arteriji
PCA – stražnja moždana arterija
P_{CO₂} – parcijalni tlak ugljičnog dioksida
P_{O₂} – parcijalni tlak kisika
PEF – vršni ekspiracijski protok
PFO – otvoren interatrijski ovalni otvor
PH – plućna hipertenzija
pRA – tlak u desnom atriju
RAd – promjer desnog atrija na kraju dijastole
RVd – promjer desnog ventrikula na kraju sistole
SaO₂ – periferna zasićenost arterijske krvi kisikom (iz arterijske krvi)
SD – standardna devijacija
SpO₂ – periferna zasićenost arterijske krvi kisikom (određena pulsni oksimetrom)
SBP – sistolički arterijski tlak
SV – udarni volumen
tCO₂ – ukupni sadržaj ugljičnog dioksida
TCD – transkranijalni dopler
TPR – ukupni periferni otpor
TRV – vršna brzina protoka preko trikuspidnog zalistka

1. UVOD

Plućna mikrocirkulacija ima dobro znanu primarnu ulogu u respiracijskom ciklusu i izmjeni plinova. Uz navedenu, ima i ulogu filtera zaustavljajući ugruške, agregate trombocita, plin te različite druge emboluse prije nego li ti, moguće infarcirajući čimbenici, dospiju u arterijsku cirkulaciju (7). Plućne kapilare su visoko učinkovito sito/filter jer je njihov prosječni promjer oko 6.5 μm , dok se u uvjetima povećanog srčanog minutnog volumena (tjelovježba) isti može proširiti najviše do 13 μm (30). Intrapulmonalne arteriovenske anastomoze (IPAVA) su krvne žile prisutne u plućnom parenhimu ljudi i drugih vrsta (10, 60, 82) i koegzistiraju s plućnom kapilarnom vaskulaturom koja služi za izmjenu respiracijskih plinova. IPAVA predstavljaju anatomske krvne žile većeg promjera u odnosu na kapilarne krvne žile. Obzirom da su IPAVA krvne žile promjera 15-500 μm (čak i do 1000 μm) njihovo otvaranje predstavlja mogući put za sistemsku mikroembolizaciju (82, 84). Međutim, ovaj mogući put za embolizaciju vitalnih organa (mozak, srce, bubreg itd.) je u mirovanju, kod ljudi, slabo prokrvljen ili zatvoren (23). Mehanizam ili mehanizmi koji uzrokuju otvaranje i novačenje IPAVA još uvijek nisu u potpunosti poznati. Nedavno su se porast sistoličkog tlaka u plućnoj arteriji i/ili istodobno uvećanje srčanog minutnog volumena pokazali kao promotori njihova otvaranja i novačenja koristeći tehniku kontrastne ehokardiografije: tijekom vježbanja (19, 41, 48, 49, 51, 78), u mirovanju tijekom disanja hipoksične smjese (44) te tijekom intravenske primjene inotropa (4, 43). Zatvaranje ovih krvnih žila disanjem čistog (100-postotnog) kisika čini se da je regulirano drugim mehanizmom s obzirom da su u ispitanika koji su vježbali i ispitanika koji su intravenski primali inotrope tlakovi i protoci kroz pluća bili podjednako visoki, no, unatoč tome, IPAVA-e su ostale zatvorene (51, 43).

Koristeći tehniku kontrastne ehokardiografije ispitanici se testiraju na prisutnost defekata u srčanim pregradama injiciranjem mješavine 1 mL zraka, 3 mL fiziološke otopine i 1 mL krvi. Miješanjem prije navedenih sastavnica stvori se velika količina malenih mjehurića. Bolus mjehurića injicira se u kubitalnu venu, što je i inače standardna metoda za dijagnosticiranje defekata pregradnih zidova srca (16). Injiciranje bolusa mjehurića u kubitalnu venu stvara „eho oblak“ u desnim srčanim komorama po pristizanju mjehurića iz kubitalne vene (obično manje od 1 do 2 sekunde po injiciranju bolusa u kubitalnu venu). Ukoliko postoji defekt u srčanoj pregradi ili velika A-V fistula unutar, najviše, 3 srčana ciklusa, pojavit će se mjehurići u lijevim srčanim komorama, koji se mogu detektirati ehosonografski, te se ta osoba smarta PFO (eng. *patent foramen ovale*) pozitivnom, tj. da ima otvoren/protočan ovalni otvor u interatrijskom septumu. Protok krvi kroz PFO rangira se semikvantitativno, stupnjevima 0-5, koristeći prethodno objavljeni sustav bodovanja mjehurića u lijevom srcu (51).

Mjehurići, ukoliko su manji od 20 μm , dokazano je, izrazito su nestabilni i raspadaju se unutar 200 ms. Kako je krvnoj struji vrijeme potrebno od njene pojave u desnom srcu do dolaska u

lijevo srce oko 750 ms (prolazak kroz plućnu arteriju, plućnu mikrocirkulaciju te potom kroz plućne vene), smatra se da samo mjehurići promjera većeg od 20 μm u desnim srčanim komorama mogu „preživjeti“ dovoljno dugo da budu opaženi u lijevom srcu (19, 51). S druge strane, svi mjehurići promjera većeg od promjera plućne kapilare (6.5-13 μm) bivaju uhvaćeni i eliminirani u plućnoj kapilarnoj cirkulaciji. Smatra se da su samo mjehurići promjera većeg od 60 do 90 μm u plućnoj mikrocirkulaciji dovoljno stabilni i veliki da se mogu ehosonografski detektirati u lijevim srčanim šupljinama. Slijedom takvog razmišljanja, kod osobe, koja je PFO testirana te je dokazano da nema defekata u srčanim pregradnim zidovima ili plućnu A-V fistulu (direktni spoj arterije i vene), jedina mogućnost za prijelaz mjehurića iz venske u sistemska cirkulaciju ostaje putem otvorenih IPAVA.

Transkranijalni dopler (TCD; od eng. *transcranial Doppler*) također je neinvazivna ehosonografska metoda kojom se može detektirati i kvantificirati količina mjehurića koji dopijuju u krvne žile mozga (najčešće se koriste srednja i stražnja cerebralna arterija), a koristili smo ga u Studiji II (16).

U Studiji I istražili smo učinke intravenske primjene nitroglicerina (NTG), noradrenalina (NE) i aminofilina (AMP) na otvaranje i novačenje IPAVA. Zanimalo nas je može li NTG, kao dobro znano dozna ovisan, venski i arterijski vazodilatator (39), imati direktan vazodilatirajući učinak na IPAVA-e. NA povećava sistemski i tlak u plućnoj arteriji (12), međutim, ne djeluje na srčani minutni volumen. Dok je istodoban učinak povećanog tlaka u plućnoj arteriji i povećanog srčanog minutnog volumena dokazan da promovira otvaranje IPAVA, učinak povećanog tlaka u plućnoj arteriji tijekom nepromijenjenog srčanog minutnog volumena do sada nije istražen. Plućni vazodilatator APM je prethodno dokazan da otvara IPAVA kod pasa (7), ali ne i kod svinja (90), dok njegov utjecaj na IPAVA kod ljudi nije poznat.

Cilj nam je bio istražiti promovira li intravenska primjena NTG, NA i AMP otvaranje i novačenje IPAVA – dinamičnih krvnih žila plućnog parenhima velikog promjera u zdravih ispitanika te na taj način stvara mogućnost sistemske embolizacije vitalnih organa.

U Studiji II istražili smo utjecaj IPAVA i PFO-a na perifernu arterijsku oksigenaciju kod bolesnika s kroničnim srčanim zatajivanjem i plućnom hipertenzijom, kod bolesnika s kroničnim srčanim zatajivanjem bez plućne hipertenzije te kod zdravih ispitanika. Plućna hipertenzija se definira kao patološko stanje kod kojeg je vrijednost srednjeg tlaka u plućnoj arteriji (mPAP) ≥ 25 mmHg u mirovanju određeno desnostranom kateterizacijom srca (27). Dobro su znane posljedice kroničnog srčanog zatajivanja i pridružene plućne hipertenzije na izmjenu plinova u plućima te njihov učinak na arterijsku hipoksemiju (69). Bolesnici s kroničnim srčanim zatajivanjem uobičajeno imaju normalnu arterijsku oksigenaciju u mirovanju, pa čak i tijekom vježbanja. Ipak, kada je prisutna, pogoršana izmjena plinova u plućima uz pridruženu arterijsku hipoksemiju kod

bolesnika s kroničnim srčanim zatajivanjem najčešće se pripisuje ograničenju difuzije u plućnoj mikrocirkulaciji zbog plućne kongestije, edema i/ili plućne fibroze (69). Međutim, postoje i drugi potencijalni uzroci za individualnu varijabilnost u arterijskoj oksigenaciji kod bolesnika s kroničnim srčanim zatajivanjem, a kao jedan od predloženih za arterijsku hipoksemiju u mirovanju je i desno-lijevi šant. Protok krvi kroz intrakardijalni i intrapulmonalni desno-lijevi šant kod bolesnika s kroničnim srčanim zatajivanjem i plućnom hipertenzijom može biti uvećan, zbog povišenog tlaka u desnoj pretkljetci i kljetci te visokog tlaka u plućnoj arteriji, što može sniziti perifernu arterijsku saturaciju (SaO_2), međutim, to do sada nije istraživano u ovoj subpopulaciji bolesnika. Kod bolesnika s kroničnim srčanim zatajivanjem i plućnom hipertenzijom očekuje se veći protok kroz IPAVA što bi moglo doprinijeti dodatnom pogoršanju izmjene plinova u plućima i dovesti do arterijske hipoksemije. Protok krvi kroz PFO je prisutan u ~ 30% opće populacije (23) te smanjuje učinkovitost izmjene plinova u plućima. Kod bolesnika s kroničnim srčanim zatajivanjem povećani su tlakovi u desnim srčanim komorama te bi protok krvi kroz PFO mogao biti značajno veći nego li u onih s normalnim tlakovima u desnom srcu. Moguće je da u toj subpopulaciji bolesnika, u takvim okolnostima, protok kroz PFO ima veći potencijal pogoršati plućnu izmjenu plinova. Također, istražili smo, koristeći transkranijalni dopler, mogu li se ispitanicima, kojima su otvorene IPAVA-e i/ili PFO, detektirati mikroembolusi (prethodno aplicirani plinski mjehurići u venski sustav) u krvnim žilama mozga. Uz to, istražili smo i utjecaj veličine PFO-a (mali ili veliki) na mikroembolizaciju krvnih žila mozga.

1.1. Povijesni pregled

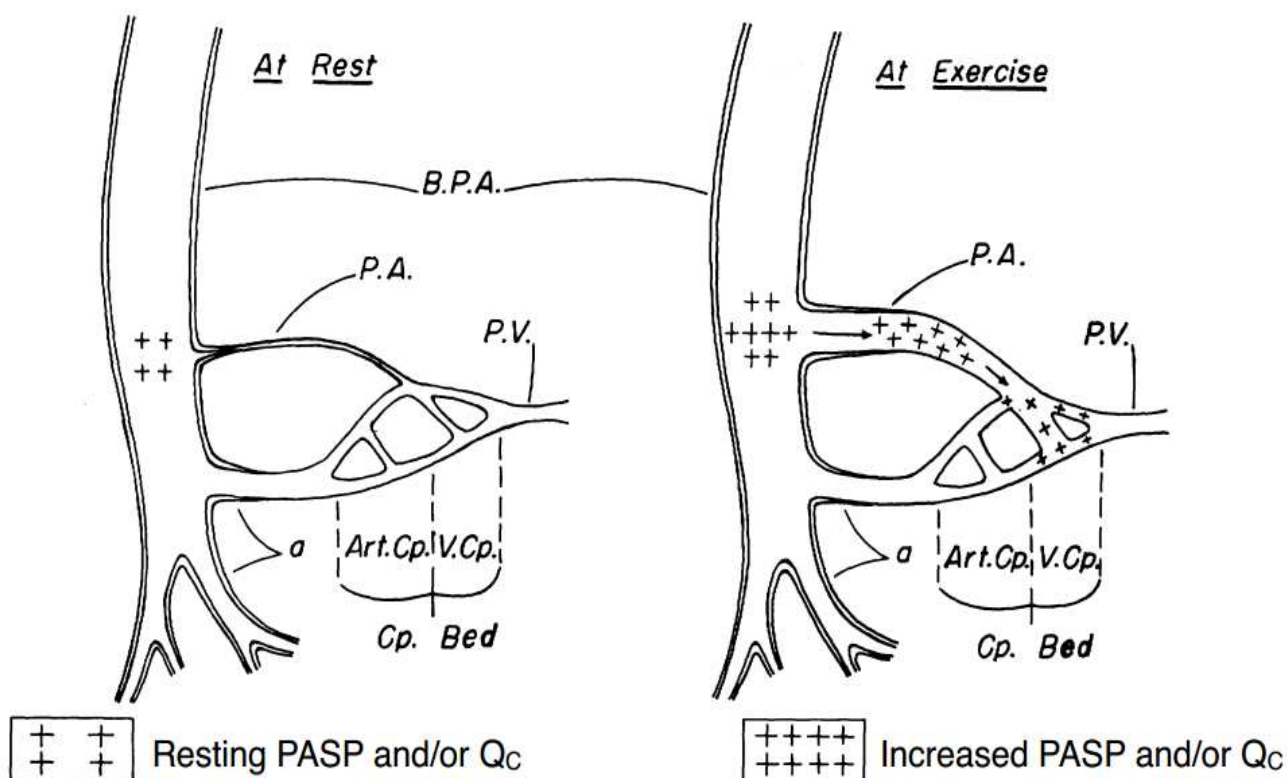
Iz sistemske cirkulacije krv se vraća iz vena u desne srčane komore odakle se pumpa u plućnu cirkulaciju prije nego li se vrati u lijeve srčane komore iz kojih ponovno ulazi u sistemska cirkulaciju. Ovakva organizacija stavlja pluća u serijski spoj sa sistemskom cirkulacijom čime plućna cirkulacija prima ukupni srčani minutni volumen. Pri tome su kontrola plućnog vaskularnog otpora i regulacija protoka krvi kroz pluća važni za održavanje učinkovite povezanosti alveolarne ventilacije i perfuzije, dok se tlak održava na razini ~ 1/5 sistemskog.

Plućno krvožilno stablo razvija se u koordinaciji s grananjem dišnih puteva s ciljem da usko poveže plućne dišne puteve s plućnom vaskulaturom i tako osigura maksimalnu površinu za izmjenu plinova (76). Plućna arterija se grana u sve uže krvne žile te, naposljetku, čini finu kapilarnu mrežu koja okružuje alveole poput štita, a kroz koju doslovce prolaze pojedinačni eritrociti, jedan po jedan. Čak i na mjestima najvišeg transpulmonalnog tlaka, prosječni promjer kapilare iznosi 6.5 μm , a nikada ne prelazi 13 μm (30). Ova fina mreža plućnih kapilara na kraju čini iznimno veliku površinu (kod ljudi ~ 70 m^2) za difuziju plinova između zraka u alveolama i

kapilarne krvi, dok se isodobno ponaša kao fizička barijera, tj. sito/filter, čime prevenira prelazak različitih tromba iz venske u sistemsku cirkulaciju što je ujedno druga, presudno važna uloga plućne mikrocirkulacije.

Grananje plućne arterije u manje ogranke opisuje se s dvije vrste krvnih žila: a) dobro znane konvencionalne arterije koje se paralelno granaju i idu uzduž dišnih puteva do razine terminalnih arteriola kojima se puni kapilarna mreža i b) IPAVA-e koje su prethodno nazivane „preterminalne arteriole“ ili tzv. „prekobrojne (eng. *supernumerary*) arterije“ s obzirom da nemaju pridruženih dišnih puteva. To su krvne žile većeg promjera koje se granaju od konvencionalnih arteriola pod kutom od 90° te imaju kraći i direktniji put pripajanja u kapilarnu mrežu (Slika 1).

Slika 1. Shematski prikaz tzv. „preterminalne arteriole“



Modificirana shema „preterminalne arteriole“ koja se grana pod pravim kutom (90°) od plućne arterije, a koja je zatvorena tijekom mirovanja, dok se tijekom tjelovježbe u prisutnosti povećanog tlaka u plućnoj arteriji i/ili srčanog minutnog volumena otvara te time doprema dio krvi u distalni dio plućnog kapilarnog spleta čime čini arteriovensku anastomozu (desno-lijevi šant).

At Rest, u mirovanju; *At Exercise*, tijekom tjelovježbe; *Resting PASP and/or Qc*, sistolički tlak u plućnoj arteriji i/ili srčani minutni volumen u mirovanju; *Increased PASP and/or Qc*, povišen sistolički tlak u plućnoj arteriji i/ili srčani minutni volumen tijekom tjelovježbe; a, plućna arteriola; B.P.A., srednje velika grana plućne arterije; P.A., preterminalna arteriola; P.V., plućna vena; Art.Cp., arterijska kapilara; V.Cp., venska kapilara; Cp.Bed, kapilarni splet. (Reproducirano uz zahvalu Recavarrenu. *Circulation*. 33(2):177-180, 1966.)

Dok je svrha postupnog grananja dišnih puteva i konvencionalnih arterija osigurati maksimalnu površinu za difuzijsku razmjenu plinova, još uvijek nije u potpunosti poznato koja je fiziološka uloga IPAVA. IPAVA-e mogu činiti i do 40% plućnih arterija, u mirovanju su slabo prokrvljene te

sadrže sfinkter (24) ili zaštitni ventil (73) kojima se može kontrolirati protok krvi te tako mogu aktivno utjecati na regulaciju protoka krvi te razine tlaka u plućima. Ostijalni promjer IPAVA je mjeren čak i do 800 do 1000 μm , dok se na distalnom pripoju sužavaju na 50-200 μm . Jasno je da ove krvne žile imaju mogućnost u velikoj mjeri utjecati na ukupni plućni vaskularni otpor ukoliko krv, protječući kroz njih, zaobilazi finu kapilarnu mrežu te se pripaja u vensku plućnu cirkulaciju. Nažalost, nakon što su po prvi puta opisane 1966. godine, do unatrag posljednjih nekoliko godina, urađeno je samo pet studija koje su se bavile istraživanjem mehanizama odgovornih za regulaciju protoka kroz ove krvne žile (5, 72, 73, 86, 87). U nekoliko studija istraživana je uloga koju bi ove krvne žile mogle imati u etiologiji i razvoju arterijskih oštećenja u plućnoj hipertenziji (13, 42, 201), dok se tek jedna bavila istraživanjem arteriovenskog modela plućnog vaskularnog stabla s ciljem da se istraži njihova funkcionalna značajnost (6). Osim ovih nekoliko studija, za sada je prikupljeno malo saznanja o IPAVA-ma te njihovo proučavanje predstavlja opsežno područje budućeg istraživanja u kontroli plućne cirkulacije. Unatoč tome što su poznate više od 50 godina, njihov fiziološki i klinički značaj još nije do kraja definiran. Uzevši u obzir da su IPAVA-e krvne žile dovoljno velikog promjera da omoguće prijelazak embolusa iz venske u arterijsku (sistemska) cirkulaciju, što može biti od posebnog interesa osobama s povećanom protrombotskom aktivnosti, iste mogu biti u povećanom riziku za sistemska embolizaciju (npr. moždani udar). Štoviše, IPAVA-e su nedavno povezane s kriptogenim moždanim udarom i tranzitornom ishemičnom atakom u čemu je sudjelovala i naša istraživačka grupa (63). Protok krvi kroz ove krvne žile čini i desno-lijevi šant što omogućuje direktno miješanje venske krvi s onom koja je prethodno oksigenirana, čime se smanjuje učinak plućne izmjene plinova, tj. smanjuje se parcijalni tlak kisika (P_{O_2}) u takvoj krvi. Lokalno regrutiranje IPAVA, inače sporednih puteva plućne mikrocirkulacije, može djelovati i kao paralelna vaskularna mreža koja se u određenim uvjetima otvara za preusmjerenje potencijalno štetne hidrodinamske energije od krhkih plućnih kapilara. Bez ovih sporednih puteva u nekim dijelovima pluća protok i tlakovi bi mogli značajno porasti s posljedičnom ozljedom krvožilnog sustava i kapilara, što može dovesti do razvoja plućnog edema.

1.2. Desno-lijevi šant u plućnoj cirkulaciji

Bilo koji desno-lijevi šant omogućuje neoksigeniranoj venskoj krvi da se direktno miješa s krvi koja je prethodno sudjelovala u razmjeni plinova na alveolokapilarnoj membrani čime snižava P_{O_2} u novonastaloj miješanoj krvi. Anatomske desno-lijevi šant u plućima mogu uzrokovati otvoren PFO, protok krvi kroz IPAVA-e, A-V fistula ili drenaža iz Thebesianovih vena i bronhalne cirkulacije. Najopsežnija obdukcijaska studija utvrdila je da incidencija otvorenog PFO-a u općoj populaciji iznosi 27.3% (32), dok studije s kontrastnom ehokardiografijom ukazuju na sličnu

incidenciju od 25 do 40% (75, 98). Dakle, približno 1/3 opće populacije ima anatomski desno-lijevi šant između desne i lijeve pretkljetke koji može negativno utjecati na učinkovitost izmjene plinova u plućima. U mirovanju, kod osoba koje imaju PFO, prisutna je malena, ali signifikantna razlika u alveolarno-arterijskoj razlici kisika ($AaDO_2$), međutim, tijekom vježbanja ista nije prisutna, moguće zbog porasta tlaka u lijevom atriju koji priječi protok iz desne u lijevu pretkljetku (51). Sve osobe, međutim, imaju anatomski desno-lijevi šant zbog venske drenaže iz Thebesianovih vena i bronhalne cirkulacije, čime se dio neoksigenirane venske krvi koji se procjenjuje na 0.18-2.2% srčanog minutnog volumena, ulijeva direktno u lijevu pretkljetku (1, 33, 83, 85, 93). Konačno, recentno je prikupljena velika količina anatomskog znanja o IPAVA-ma, dinamičnim krvnim žilama velikog promjera (20, 44, 52, 58, 61, 65, 67, 77, 78, 84) te, ukoliko krv koja protječe ovim krvnim žilama ne sudjeluje u izmjeni plinova na alveolokapilarnoj membrani, ona će uzrokovati desno-lijevi šant i smanjenje učinkovitosti plućne izmjene plinova.

1.3. Tjelovježba

S povećanjem razine vježbanja srčani minutni volumen i tlakovi u plućnoj mikrocirkulaciji značajno rastu. Srčani minutni volumen, u odnosu na mirovanje, može porasti i do šest puta ($s \sim 5$ L/min na ~ 30 L/min) te je, zbog preveniranja pretjeranog porasta tlaka u plućnoj arteriji, od presudne važnosti da se otpor protoku krvi kroz plućnu mikrocirkulaciju snizi. Uvriježeno je mišljenje da se ovo postiže na račun povećanog tlaka u lijevom atriju koji pomaže novačiti i širiti plućnu vaskulaturu, čime se povećava difuzijska površina na razini plućnih kapilara dok se održava niski tlak na razini osjetljive alveolo-kapilarne barijere (68, 92). IPAVA se također novače i otvaraju tijekom vježbanja, što je prvotno dokazano kod ispitanika koristeći tehniku kontrastne ehokardiografije (19), a potom i koristeći radionuklidne makroagregate albumina velikog promjera (48). S povećanjem razine vježbanja zabilježen je i veći broj mjehurića zraka u arterijskoj cirkulaciji (sistemska embolizacija) koristeći tehniku kontrastne ehokardiografije, što govori u prilog postepenom novačenju i otvaranju IPAVA kako rastu tlakovi i protok kroz plućnu cirkulaciju. Međutim, nije poznato je li porast tlaka u lijevom atriju također direktna posljedica novačenja i otvaranja IPAVA, te postoji li možda i neki drugi mehanizam kojim se regulira protok kroz ove posebne žile.

1.4. Hipoksija

1946. godine von Euler i Liljestrand su po prvi puta dokazali da je u mačaka, koje su ventilirane smjesom s niskom koncentracijom kisika, porastao tlak u plućnoj arteriji što je govorilo u prilog da udio kisika u smjesi koju se udiše može imati direktan učinak na glatke mišiće plućnih

krvnih žila uzrokujući vazokonstrikciju (91). Sljedeće godine Motley i sur. (59) dokazali su vazokonstrikciju plućne vaskulature i kod ljudi koji su disali hipoksičnu smjesu s 10-postotnim udjelom kisika te su od tada urađene mnogobrojne studije s ciljem da se otkriju mehanizmi koji su u podlozi hipoksijom uzrokovane vazokonstrikcije plućne vaskulature. Ovo predstavlja u potpunosti suprotan učinak kisika na plućnu vaskulaturu u odnosu na sistemska cirkulaciju, gdje se sistemske arteriole dilatiraju kao odgovor na sniženu koncentraciju kisika u smjesi koju se udiše s ciljem da se poveća dotok krvi i očuva dostava kisika. Naravno, valja istaknuti kako najizraženiji vazokonstriktorski odgovor imaju glatke mišićne stanice u manjim plućnim arterijama, dok se u miocitima većih plućnih arterija ne bilježi toliko izražen učinak (54, 55). Nedavno je publiciran opsežan pregledni članak na temu hipoksijom uzrokovane plućne vaskularne vazokonstrikcije s reperkusijom na staničnu i molekularnu razinu koji integrira znanja prikupljena u proteklih nekoliko desetljeća (80), međutim, točan mehanizam djelovanja još uvijek nije u potpunosti razjašnjen. Dok je vazokonstriktorni odgovor na hipoksiju, čini se, jedinstven za plućnu vaskulaturu, IPAVA-e se ponašaju slično kao i sistemske žile te se otvaraju (dilatiraju) kao odgovor na hipoksiju (44, 61). Moguće objašnjenje za ovo je da hipoksijom uzrokovana vazokonstrikcija od razine malih plućnih arterija što se nalaze distalno od IPAVA služi kao stimulus kojim se preferencijalno usmjerava protok krvi kroz IPAVA-e. Prethodno se raspravljalo mogu li IPAVA-e biti rudimentarne fetalne žile, slične *duktusu arteriosusu*, koji je otvoren tijekom fetalnog razvoja, kada je P_{O_2} znatno niži nego li nakon rođenja (74) te se kontrahira prilikom povećanja razine kisika (26, 88). Međutim, prisutna je velika razlika između *duktusa arteriosusa* i IPAVA jer nakon zatvaranja *duktus arteriosus* postaje ligament zbog čega gubi sposobnost ponovne dilatacije u hipoksičnim uvjetima. Još je interesantna činjenica vezana za novačenje i otvaranje IPAVA tijekom hipoksije. Naime, dok se vjeruje da povećanje tlaka u lijevoj pretkljetci novači i distendira plućne kapilare tijekom vježbanja, tlak u lijevoj pretkljetci se ne povećava za vrijeme disanja hipoksične smjese, a IPAVA-e se otvaraju (31).

1.5. Hiperoksija

Kako disanje smjese sa sniženom razinom kisika, tako i disanje one s povišenom razinom kisika također uzrokuje redistribuciju protoka krvi kroz pluća. Disanje hiperoksične smjese prethodno je dokazano da zatvara IPAVA-e u osoba koje vježbaju ili primaju infuziju kateholamina, iako su iste imale značajno povećan srčani minutni volumen i tlak u plućnoj arteriji, stimuluse čija kombinacija je prethodno uzrokovala otvaranje IPAVA (43). Ovi podatci sugeriraju da učinak disanja 100-postotnog kisika na zatvaranje IPAVA nije vezan za smanjenje srčanog minutnog volumena, tlaka u plućnoj arteriji ili sniženja koncentracije kateholamina u plazmi, već da postoji

najvjerojatnije zaseban mehanizam kojim se aktivno zatvaraju IPAVA-e i/ili prevenira njihovo otvaranje. Aktivno zatvaranje IPAVA disanjem hiperoksične smjese je atraktivna hipoteza jer kisik uzrokuje vazokonstrikciju prvenstveno na sistemskim krvnim žilama. Naime, prethodno je dokazano da primjena kisika uzrokuje povećanje ukupnog perifernog otpora (34), vazokonstrikciju koronarnih arterija (25) te hiperoksijom induciranu retinalnu vazokonstrikciju (14, 35, 81, 100). U fetalnoj cirkulaciji, *duktus arteriosus* se zatvara kao odgovor na povećanje koncentracije kisika nakon rođenja (26), što je najvjerojatnije posredovano kalijevim kanalima osjetljivim na kisik (88). Međutim, mehanizam ili mehanizmi koji reguliraju hiperoksijom inducirano zatvaranje IPAVA još uvijek nisu poznati. Inače, ovo je potpuno suprotan učinak od učinka povećane koncentracije kisika na razini plućnih arteriola koje se na povećanu koncentraciju kisika dilatiraju te time preusmjeravaju krv u bolje ventilirane dijelove pluća.

1.6. Anatomski dokazi IPAVA

Još 1939. godine Clara (11) je u pregledu anatomske literature navela brojne sistemske vaskularne sustave koji sadrže arteriovenske anastomoze uključujući, kožu, nos, uho, jajnik, bubreg, želudac, tanko crijevo i mozak. Prinzmetal i sur. su prvi demonstrirali prisutnost arteriovenskih anastomoza velikog promjera u srcu kada su u koronarnom sinusu detektirali staklene sfere promjera 70-170 μm , prethodno aplicirane u lijevu koronarnu arteriju (66). Ova ista grupa znanstvenika je naknadno dokazala i postojanje arteriovenskih anastomoza u plućima zeca, psa i mačke koristeći sličnu tehniku (65). Koristeći staklene mikrosfere, naknadno je prisutnost IPAVA dokazana i kod pasa (61) te u ljudskim plućima *post mortem* (82, 84). Anatomski opisi, koji se temelje na posebnom plasičnom odljevu plućne mikrovaskulature, govore u prilog prisutnosti arteriovenskih anastomoza u plućnim apeksima, izgleda petlje, s nedostatkom mišićnog ili elastičnog tkiva u njihovoj stijenci, a veličine dovoljne za prolaz mikrosfera promjera 200 μm (82). Još 1953. godine bilo je opće prihvaćeno postojanje arterio-venskih anastomoza u ljudskim plućima. Nažalost, dok je njihovo postojanje bilo prihvaćeno, njihov fiziološki i klinički značaj ostao je nepoznat. Najvjerojatnije zbog potrebe objašnjenja učinkovitosti izmjene plinova u plućima u mirovanju i vježbanju, koristeći modele kojima se nije uspjelo dokazati prisutnost značajnog intrapulmonalnog desno-lijevog šanta, postojanje ovih sveprisutnih krvnih žila je ignorirano, podcjenjivano i „zaboravljeno“ sljedećih nekoliko desetljeća. Tek nedavno, nakon ponovnog dokaza njihovog postojanja kod pasa, majmuna (babun) i ljudi, ove krvne žile su u središtu rasprave o plućnoj vaskulaturi (2, 52, 78). Slikovnim metodama iz područja nuklearne medicine, koristeći $^{99\text{m}}\text{Tc}$ označene makroagregate albumina, kod zdravih ljudi je dokazan porast protoka kroz IPAVA-

e tijekom vježbanja (48, 95). Unatoč tome, još uvijek su prisutne kontroverze oko postojanja i uloge ovih krvnih žila (38, 46).

1.7. Kontrastna ehokardiografija

Uz ranije spomenute, od nedavno se za detekciju IPAVA kod ljudi koristi i tehnika transtorakalne kontrastne ehokardiografije (19, 21, 44, 49, 51, 77). Transtorakalna kontrastna ehokardiografija koristi ultrazvučne valove za vizualizaciju srca i srčanih šupljina, dok se bolus mikromjehurića primjenjuje u površinsku venu na podlaktici (najčešće kubitalnu venu). Ovi mjehurići nakon aplikacije u venu putuju do desnih srčanih šupljina gdje se pojavljuju kao „eho oblak“. Potom ovi mjehurići krvnom strujom putuju kroz plućnu cirkulaciju te stižu do plućnih kapilara malog promjera ($\sim 6.5 \mu\text{m}$) koje se ponašaju kao sito ili filter, a koje zaustavljaju mikromjehuriće u daljnjem napredovanju prema lijevom srcu. Međutim, kada su, promjerom značajno veće (i do $1000 \mu\text{m}$), krvne žile IPAVA-e otvorene, one omogućuju alternativni put mjehurićima kojima se zaobilaze plućne kapilare te mjehurići mogu napredovati do lijevog srca što se može ehosonografski detektirati. Dakle, ovom tehnikom moguće je indirektno i neinvazivno detektirati otvorenost IPAVA.

Koristeći ovu tehniku, naša i ostale istraživačke grupe, dokazale su da su IPAVA zatvorene u mirovanju, a da se pasivno otvaraju u uvjetima povišenog tlaka i protoka u plućnoj mikrocirkulaciji kod ljudi koji vježbaju (19, 53, 79) ili kod ljudi koji miruju, a dišu hipoksičnu smjesu (44). Međutim, ukoliko su ispitanici disali 100-postotni kisik tijekom vježbanja ili disanja hipoksične smjese, mjehurići nisu detektirani u lijevom srcu unatoč povišenom tlaku i protoku u plućnoj mikrocirkulaciji, što sugerira da je zatvaranje ovih dinamičnih krvnih žila regulirano drugim mehanizmom tijekom hiperoksije.

2. CILJ RADA I HIPOTEZE

2.1. Ciljevi rada

Studija I

Cilj ovog istraživanja bio je otkriti jesu li lijekovi nitroglicerina, noradrenalin i aminofilin promotori otvaranja IPAVA, te je li primjena istih ispitanike izlaže riziku sistemske mikroembolizacije.

Studija II

Cilj ovog istraživanja bio je otkriti jesu li bolesnici sa stabilnim kroničnim srčanim zatajivanjem pod povećanim rizikom otvaranja IPAVA u mirovanju te time izloženi riziku sistemske mikroembolizacije vitalnih organa. Također, cilj nam je bio odrediti mogući utjecaj IPAVA i PFO-a na perifernu arterijsku oksigenaciju kod bolesnika sa stabilnim kroničnim srčanim zatajivanjem ovisno o prisutnosti plućne hipertenzije. Uz to, kvantificirali smo imaju li ispitanici s kroničnim srčanim zatajivanjem i plućnom hipertenzijom u mirovanju u odnosu na bolesnike s kroničnim srčanim zatajivanjem bez plućne hipertenzije i zdrave ispitanike veći rizik od mikroembolizacije mozga te kakav je utjecaj veličine PFO-a na mikroembolizaciju krvnih žila mozga.

2.2. Hipoteze

Studija I

Primjena nitroglicerina, noradrenalina i aminofilina dovest će do otvaranja IPAVA što će rezultirati pojavnom sistemske mikroembolizacije.

Studija II

Bolesnici sa stabilnim kroničnim srčanim zatajivanjem i povišenim tlakom u plućnoj arteriji imat će otvorene IPAVA-e u mirovanju.

PFO pozitivni bolesnici s kroničnim srčanim zatajivanjem i povišenim tlakom u plućnoj arteriji bit će hipoksemični u mirovanju.

Kod ispitanika, koji budu imali otvorene IPAVA-e i/ili prisutan PFO, detektirat će se prethodno aplicirani plinski mikromjehurići preko kubitalne vene (venski sustav) u krvnim žilama mozga (arterije).

U ispitanika koji imaju veći PFO bit će detektirano više plinskih mikroembolusa (ranije apliciranih u kubitalnu venu) u moždanim arterijama.

3. ISPITANICI I POSTUPCI

3.1. ISPITANICI

Ispitivanu skupinu u Studiji I sačinjavale su zdrave osobe koje su do sada sudjelovale kao ispitanici u studijama provedenima na Zavodu za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta u Splitu te su testirane kao PFO negativne najviše do tri godine pred uključenje u studiju, a prethodno su imale su dokazan protok kroz IPAVA-e. Planirano je uključiti najmanje 10 ispitanika na temelju proučene literature i do sada objavljenih sličnih radova. Ukupno 10 ispitanika bit će optimalno u slučaju da planirani lijekovi, suprotno hipotezi, ne dovedu do otvaranja i novačenja intrapulmonalnih arteriovenskih anastomoza. U Studiji I nije planirano koristiti kontrolnu skupinu ispitanika.

Ispitivanu skupinu u Studiji II sačinjavali su bolesnici s kroničnim srčanim zatajivanjem te srednjom do visokom vjerojatnosti plućne hipertenzije uz dvije kontrolne skupine. Prva kontrolna skupina bit će bolesnici s kroničnim srčanim zatajivanjem s niskom vjerojatnosti plućne hipertenzije, dok će druga kontrolna skupina biti zdravi ispitanici. Skupina s umjerenom do visokom vjerojatnosti plućne hipertenzije sadrži 32 (8 ženskih) ispitanika, skupina s niskom vjerojatnosti plućne hipertenzije sadrži 24 (4 ženska) ispitanika, dok kontrolna skupina zdravih ispitanika sadrži 28 (6 ženskih) ispitanika. Ukupno je uključeno 56 ispitanika s kroničnim srčanim zatajivanjem jer smo očekivali razliku periferne arterijske saturacije koja u zdravoj populaciji i kod bolesnika s kroničnim srčanim zatajivanjem bez plućne hipertenzije iznosi prosječno $96,3\pm 1,2\%$ za najmanje 2% u odnosu na bolesnike s kroničnim srčanim zatajivanjem i plućnom hipertenzijom uz desno-lijevi šant te uz zadanu graničnu p-vrijednost 5% i snagu istraživanja od 80%. Za izračun veličine uzorka koristili smo Power/Sample Size Calculator (HyLown Consulting LLC, Atlanta, GA, SAD).

Kriteriji uvrštenja ispitanika u ispitivanu skupinu bili su sljedeći: medicinski dokumentirana dijagnoza srčanog zatajivanja, dob ispitanika 20 do 80 godina, NYHA razred I-III (engl. New York Heart Association *classification*), stabilna bolest (bez hospitalizacije 2 mjeseca prije uključjenja u studiju). Dodatni kriterij uključjenja kojim smo raščlanili ispitivanu i kontrolnu skupinu bolesnika sa stabilnim kroničnim srčanim zatajivanjem je sistolički tlak u plućnoj arteriji. Izvršena je stratifikacija bolesnika s kroničnim srčanim zatajivanjem (CHF) u dvije grupe prema ehosonografski utvrđenoj vjerojatnosti plućne hipertenzije koristeći kriterije nedavno publicirane u smjernicama Europskog kardiološkog i pulmološkog društva (27). Prvu grupu čine bolesnici sa srednje visokom i visokom vjerojatnosti plućne hipertenzije (CHF PH+) dok drugu skupinu čine bolesnici s niskom vjerojatnosti plućne hipertenzije (CHF PH-).

Nekoliko načina smo koristili za odabir i uvrštavanje skupine ispitanika u istraživanje. Za početak smo koristili Hrvatski registar bolesnika s kroničnim srčanim zatajivanjem, iz kojega smo

tražili i telefonskim putem kontaktirali bolesnike koji odgovaraju gore navedenim kriterijima uvrštenja. Zbog nedostupnosti velikog broja bolesnika iz registra (mjesto prebivališta udaljena od Splita), te nemogućnosti pretraživanja registra po određenim kriterijima, drugi način prikupljanja podatka bio je anketiranje ambulantnih bolesnika koji dolaze na pregled u KBC Split u kardiološke ambulante Klinike za bolesti srca i krvnih žila. Treći, ujedno i najvažniji, izvor uključanja bolesnika s kroničnim srčanim zatajivanjem bila je medicinska dokumentacija i kontakti bolesnika, koji se nalaze u arhivu Klinike za bolesti srca i krvnih žila KBC-a Split, hospitaliziranih tijekom posljednje 2 godine pred planirano znanstveno istraživanje. Kontrolna skupina zdravih ispitanika dijelom je regrutirana među poznanicima sudionika istraživanja, zaposlenog osoblja Medicinskog fakulteta u Splitu i KBC-a Split koji prema dobi i spolu odgovaraju ispitnoj skupini, te nemaju kroničnih bolesti, a dijelom su se koristili podatci ranije testiranih zdravih ispitanika koji također prema dobi i spolu odgovaraju ispitnoj skupini iz ranije publicirane studije uz zahvalu dr. H. Cameron Norris (62) te dijelom iz nepubliciranih podataka uz zahvalu dr. R. Romcu. Skupina kontrolnih zdravih ispitanika u Studiji II prikazana je primarno radi vizualne usporedbe s ispitivanim skupinama te osim usporedbe razine mjehurića u lijevim srčanim komorama u odnosu na srčanim minutni volumen (CO) i sistolički tlak u plućnoj arteriji (PASP), drugih statističkih usporedbi s ispitivanim skupinama nije urađeno.

3.2. POSTUPCI

3.2.1. Informirani pristanak

Svi protokoli korišteni u sklopu ove disertacije bili su odobreni od Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu. Predmetna istraživanja urađena su u skladu s odredbama Etičkog kodeksa koje regulira istraživanja na ljudima u znanstvenom, istraživačkom i stručnom radu uz poštivanje etičkih načela Helsinške deklaracije. Osobno sam svim ispitanicima uključenim u obje studije iznio planirani protokol kao i moguće rizike i koristi sudjelovanja u istraživanju nakon čega je svaki ispitanik dao pisanu suglasnost prije uključanja u istraživanje.

3.2.2. PFO testiranje .

Interatrijski ovalni otvor (lat. *foramen ovale*) je otvoren u fetalnom dobu te omogućuje protok krvi iz desne u lijevu pretklijetku. Po rođenju, otpor protoku krvi kroz plućnu cirkulaciju naglo opada, čime se snižava tlak u desnim srčanim šupljinama u odnosu na lijeve srčane šupljine. Posljedično, zalistak prekrije ovalni otvor čime sprječava protok krvi iz desne u lijevu pretklijetku. Međutim, u ~ 1/3 populacije zalistak ne zatvori ovalni otvor u potpunosti zbog čega kod njih i dalje

postoji mogućnost protoka krvi iz desne u lijevu pretkljetku (i obrnuto). Koristeći tehniku kontrastne ehokardiografije može se odrediti ima li osoba prisutan otvoren ovalni otvor, tj. PFO (eng. *patent foramen ovale*).

Ukratko, potrebno je postaviti braunilu u kubitalnu venu. Potom se na distalni kraj braunile spoji trokraki nastavak. Na dva otvora pripoje se šprice zapremnine 5 ili 10 mL, jedna koja sadrži 1 mL zraka i druga koja sadrži 3 mL fiziološke otopine (0.9% NaCl) i 1 mL ispitanikove krvi. Mjehurići se kreiraju na način da se omogući direktan spoj šprica pomičući graničnik trokrakog nastavka te se tijekom 10 sekundi klipovi šprica snažno miču naprijed-natrag kreirajući veliku količinu malenih mjehurića. Potom se snažnim potiskom u bolusu aplicira sadržaj u kubitalnu venu i on pristiže u desne srčane šupljine kao „eho oblak“ s odgodom od oko 1-2 sekunde što se najbolje vizualizira postavljajući ultrazvučnu sondu iznad srčanog vrška koristeći projekciju četiri šupljine. Ukoliko je kod ispitanika prisutan interatrijski ovalni otvor, kontrastni mjehurići imaju direktan put iz desne u lijevu pretkljetku te se isti mogu brzo pojaviti u sistemske mikrocirkulaciji. Ispitanika se smatra pozitivnim na postojanje PFO-a ako se kontrastne mjehuriće vizualizira u lijevim srčanim komorama unutar tri srčana ciklusa nakon njihove pojave u desnim srčanim komorama. Testiranje na prisutnost PFO-a započinje se primjenom bolusa mjehurića u osobe koja leži u lijevom lateralnom antidekubitalnom položaju i miruje. Naknadno se ponovi primjena mjehurića uz izvođenje Valsalvinog postupka. Za ispravno izvođenje manevra potrebo je pokušavati izdahnuti uz zadržavanje zatvorenog glotisa tijekom najmanje 15 sekundi čime se povisuje intratorakalni tlak. Ovim manevrom se privremeno prekida dotok krvi u desnu pretkljetku i plućnu cirkulaciju, dok se krv i dalje odlazi iz plućne cirkulacije preko lijevog srca u sistemske cirkulaciju. Po završetku Valsalvinog postupka naglo pritječe velika količina venske krvi u desnu pretkljetku, čime se povisi tlak u desnoj pretkljetki te kratkotrajno čak i premaši tlak u lijevoj pretkljetki (13). Dakle, upotrebom ovog manevra prolazno se poveća tlačni gradijent kroz potencijalni interatrijski septalni otvor, tj. PFO, čime se pruža još bolja mogućnost za detekciju istog.

Kada krv ne protječe kroz intraatrijski ovalni otvor niti kroz IPAVA, kontrastni mjehurići se vizualiziraju samo u desnim srčanim komorama. Mjehurići u lijevim srčanim šupljinama tada se ne detektiraju jer se isti zaustavljaju i eliminiraju u plućnoj mikrocirkulaciji (7). Ukoliko kontrastni mjehurići prolaze kroz IPAVA-e, potrebno je da iz desnog srca prođu kroz plućnu cirkulaciju prije nego li dospiju u lijevo srce, za što im je od pojave u desnom srcu potrebno više od tri srčana ciklusa. Prema tome, pojava kontrastnih mjehurića u lijevom srcu više od 3 srčana ciklusa nakon pojave „eho oblaka“ u desnom srcu, kod osoba koje nemaju otvoren interatrijski ovalni otvor, predstavlja protok kroz IPAVA. Protok krvi kroz IPAVA se boduje semikvantitativno od 0 do 5 koristeći prethodno publiciran bodovni sistem gdje s 0 označavamo odsutnost mjehurića, stupanj 1

= 1-3 mjehurića, stupanj 2 = 4-12 mjehurića, stupanj 3 = >12 mjehurića, stupanj 4 = >12 mjehurića heterogeno rasprostranjeno, stupanj 5 = >12 mjehurića homogeno raspoređeno (51). Broj bodova se određuje analizirajući ehokardiografski zapis u trajanju od 20 sekundi nakon pojave mjehurića u desnom srcu, a koristeći djelić zapisa (engl. *frame*) na kojem je registriran najveći broj i prostorna distribucija mjehurića.

U ispitanika kod kojih je dokazano postojanje otvorenog interatrijskog ovalnog otvora primijenjen je čisti medicinski kisik preko maske i istodobno apliciran novi bolus mjehurića te je vršeno bodovanje prisutnosti mjehurića u lijevim srčanim komorama. Naime, prethodno je dokazano da disanje čistog kisika zatvara IPAVA-e te se na ovaj način mogao razlikovati i semikvantificirati protok krvi kroz IPAVA-e i PFO. Dakle, kada bi se stupanj razine mjehurića u ispitanika, koji je PFO pozitivan, snizio tijekom disanja čistog kisika, tada bi se za njih smatralo da imaju prisutan protok krvi kroz IPAVA-e i PFO.

Zbog naknadne statističke analize, subklasificirali smo ranije navedeno bodovanje na beznačajno šantiranje (stupnjevi ≤ 2) i značajan desno-lijevi šant (stupnjevi ≥ 3) kako je prethodno prihvaćeno (15).

3.2.3. Određivanje sistoličkog tlaka u plućnoj arteriji

U obje studije koristili smo neinvazivno mjerenje sistoličkog tlaka u plućnoj arteriji jer postoji izvrsna podudarnost tako mjerenog tlaka u odnosu na zlatni standard, tj. invazivno mjerenje prilikom desne kateterizacije srca (13, 36, 70). Sistolički tlak u plućnoj arteriji (PASP) je određivan koristeći pojednostavljenu Bernoullijevu jednadžbu: $PASP = 4v^2 + P_{RA}$, gdje je v vršna brzina trikuspidnog regurgitacijskog mlaza mjerena ehosonografski kontinuiranim doplerovim signalom pomoću uređaja Vivid E9 (GE e9, Milwaukee, SAD), dok je P_{RA} tlak u desnoj pretklijetci koji smo procijenili na temelju kolapsibilnosti i promjera donje šuplje vene. Kolapsibilnost je određivana tijekom ultrazvučnog prikazivanja donje šuplje vene, u koordinaciji s ispitanicima koji su izvodili brzi udah, tzv. „*sniff test*“ (27, 70). Tlak u desnom atriju se procjenjuje da iznosi 3 mmHg ako se lumen donje šuplje vene tijekom *sniff testa* smanji >50%, a bazalni promjer joj je ≤ 2.1 cm; 15 mmHg ako se lumen donje šuplje vene tijekom *sniff testa* smanji <50%, a bazalni promjer joj je >2.1 cm; 8 mmHg za sva ostala mjerenja koja se ne uklapaju u ranije navedeno (27, 70). Kod ispitanika s malenim trikuspidnim regurgitacijskim mlazom otežano je mjerenje vršne regurgiracijske brzine. Upravo zbog ovoga prilikom svakog mjerenja/procjene tlakova u plućnoj arteriji davali smo maleni bolus mjehurića 0.1 mL zraka izmiješanog s 1 mL fiziološke otopine u kubitalnu venu čime smo značajno poboljšavali/pojačavali signal trikuspidne regurgiracije (s obzirom da se isti mjeri na osnovi Dopplerovog efekta) s ciljem da dobijemo što točnije podatke,

kako su definirali Rudski i sur. (70), a prihvaćeno je i u smjernicama Europskog kardiološkog i pulmološkog društva (27). Sva mjerenja je uradio iskusni subspecijalist kardiolog (P. L.).

3.2.4. Plućna hipertenzija

Plućna hipertenzija se definira kao patološko stanje kod kojeg je vrijednost srednjeg tlaka u plućnoj arteriji (mPAP) ≥ 25 mmHg u mirovanju određeno desnostranom kateterizacijom srca (27). Vjerojatnost plućne hipertenzije može se i neinvazivno ehosonografski procijeniti sukladno smjernicama Europskog kardiološkog društva (ESC) i Europskog respiracijskog društva (ERS) koristeći vršnu brzinu protoka preko trikuspidne valvule (TRV) (27). Osobe, koje imaju $TRV \geq 2.9$ $m \cdot s^{-1}$, smatra se da imaju umjerenu do visoku vjerojatnost za plućnu hipertenziju i klasificirali smo ih kao CHF PH+ (n=32, 8 ženskih ispitanika). Osobe, koje imaju $TRV \leq 2.8$, smatra se da imaju nisku vjerojatnost plućne hipertenzije te smo ih u našoj studiji označili kao CHF PH- (n=24, 4 ženska ispitanika).

3.2.5. Spirometrija

U obje studije ispitanicima je urađena spirometrija, dobro znan test plućne funkcije koji se koristi za određivanje volumena i brzina protoka udahnutog i izdahnutog zraka. Ovim testom se određuje forsirani vitalni kapacitet (FVC), tj. maksimalni volumen zraka koji možemo izdahnuti nakon maksimalnog udaha. Američko torakološko i Europsko respiracijsko društvo publicirali su smjernice za izvođenje i reproducibilnost ovog testa (58). Ispitaniku se postavi štikaljka na nos te on diše preko usnika dok pneumotahometar uređaja mjeri protok zraka. Potom ispitanik udahne maksimalan volumen zraka da bi, nakon toga, maksimalno snažno i bez pauze, a u trajanju od najmanje 6 sekundi, izdahnuo maksimalnu količinu zraka iz pluća. Treba istaknuti da je dozvoljeno glasovno poticanje ispitanika tijekom cijelog perioda od 6 sekundi izdisanja. Uz određivanje FVC-a, mjerio se i volumen zraka izdahnut tijekom prve sekunde, tzv. forsirani ekspiracijski volumen u prvoj sekundi (FEV_1). Kod zdravih ispitanika FEV_1/FVC omjer je $\sim 80\%$. Međutim, ukoliko postoji povećana reaktivnost bronha, opstrukcija i/ili restrikcija protoku, volumen izdahnutog zraka tijekom prve sekunde je smanjen, što će posljedično dovesti i do smanjenja FEV_1/FVC omjera. Volumen zraka, koji se izdahne tijekom srednjeg dijela FVC postupka, naziva se forsirani ekspiracijski protok od 25 do 75% FVC-a ($FEF_{25-75\%}$). Njime se mjeri i procjenjuje funkcija malih distalnih dišnih puteva, a što je uglavnom neovisno o uloženom trudu ispitanika tijekom postupka. Osobe kod kojih je prisutna pojačana reaktivnost i/ili opstrukcija na razini malih dišnih puteva, imaju ranije zatvaranje malih distalnih dišnih puteva i zbog toga niži FEV_1 i $FEF_{25-75\%}$ u odnosu na očekivani prema dobi, spolu, težini, visini i rasi. Maksimalna voljna ventilacija (MVV) predstavlja volumen

zraka koji osoba može udahnuti i izdahnuti tijekom jedne minute. Test se izvodi na način da se diše maksimalnom frekvencijom i volumenom disanja u trajanju od 12 sekundi, a množenjem s 5 rezultat se aproksimira na jednu minutu. MVV je metoda koja ukazuje na stanje respiracijskih mišića, popustljivost pluća i otpor dišnih puteva. Također smo određivali i vršni protok pri izdisaju (PEF), tj. najveću brzinu protoka zraka postignutu prilikom izdaha. U slučaju bronhokonstrikcije vrijednosti PEF-a su snižene. Sva mjerenja su izvršena pomoću uređaja Quark b² (Cosmed, Rim, Italija).

3.2.6. Difuzijski kapacitet pluća za ugljični monoksid

Difuzijski kapacitet pluća za CO (DL_{CO}) je test plućne funkcije kojim se mjeri difuzija plinova kroz alveolokapilarnu membranu, dakle između udahnutog zraka i krvi u plućnim kapilarama. Koristio se uređaj Quark b² (Cosmed, Rim, Italija). Test se bazira na velikom kapacitetu vezivanja ugljičnog monoksida za hemoglobin (150 do 300 puta veći kapacitet u odnosu na kisik). Izvodi se na način da ispitanik u potpunosti izdahne do razine, tzv. rezidualnog plućnog volumena. Potom ispitanik maksimalno udahne smjesu koja sadrži 21% kisika, 0,3% ugljičnog monoksida, 0,5% neona, uz preostali udio dušika. Ispitanik nakon maksimalnog udaha ove smjese zadržava dah tijekom 8 sekundi te se potom smjesa koju izdiše analizira plinskim kromatografom. Na osnovi razlike koncentracije ugljičnog monoksida između početne udahnute smjese i mjerene koncentracije ugljičnog monoksida iz alveola, može se izračunati volumen plina koji je difuzijom prešao u krv. Volumen ugljičnog monoksida, koji difuzijom prijeđe u krv, je standardiziran prema vremenu zadržavanja daha, uključujući i vrijeme potrebno za inspirij i ekspirij (40). Dobivena vrijednost DL_{CO} može se, također, normirati prema alveolarnom volumenu (V_A, koji se mjeri tijekom maksimalnog udaha uz korekciju prema predviđenom „mrtvom prostoru“, a što se računa prema visini i spolu). DL_{CO}, korigiran prema alveolarnom volumenu (DL_{CO}/V_A), služi da se izbjegnu pogreške prilikom zaključivanja o izmjerenom nižem DL_{CO} kod osoba s manjim plućnim volumenima, koji imaju i manju alveolarnu površinu za izmjenu plinova.

3.2.7. Acidobazni status

Uzorci krvi za analizu uzeti su punktiranjem radijalne aratrije pomoću šprice zapremnine 3 mL čiji je vršak popunjen heparinom (*heparin sodium*, 1.000 U/ml). Uzimani su uzorci arterijske krvi volumena 0.5-1 mL te su isti odmah po punkciji (uobičajno za < 30 s) premješteni u uložak za analizu u plinsko-elektrolitnom analizatoru i-STAT[®]1 Analyzer (East Windsor, SAD). Određivani su sljedeći standardni parametri: pH, P_{O₂}, P_{CO₂}, HCO₃⁻, BE, SaO₂, tCO₂, Na⁺, K⁺, Ca²⁺, GUK, Hgb. Arterijska hipoksemija je definirana kao SaO₂ < 95%.

3.2.8. Transkranijski dopler

2 MHz pulsni ultrasonografski uređaj (ST3; Spencer Technologies, Seattle, SAD) korišten je za objektivno automatizirano brojanje mjehurića (mikroembolusa) i mjerenje vršne brzine protoka krvi u srednjoj i stražnjoj cerebralnoj arteriji (MCA, PCA) koristeći metodu Dopplerovog učinka na način da je ultrazvučnom sondom u temporalnoj regiji ispitanika s jedne strane prikazana MCA, a u istoj regiji sa suprotne strane PCA. U polovici ispitanika MCA je prikazana na desnoj, a PCA na lijevoj strani i obratno. MCA je prikazivana obično ~1 cm distalno od odvajanja/bifurkacije prednje cerebralne arterije, dok je PCA sondirana u P₁ segmentu što predstavlja površinu između vrška bazilarne arterije te posteriorne cerebralne kolateralne arterije (96). Korištene su standardizirane tehnike traženja arterije kao i tehnike optimiziranja kvalitete signala kako je prethodno opisano (96). Po pronalasku kvalitetnog signala sonde su fiksirane pomoću specijalnog fiksirajućeg uređaja (Marc 600; Spencer Technologies, Seattle, SAD). Dobiveni podatci o vršnoj brzini protoka tijekom cijele studije su, koristeći analogno-digitalni pretvarač Powerlab (ADInstruments, Colorado Springs, SAD), pohranjivani u softverski program Lab Chart (ADInstruments, Colorado Springs, SAD) radi naknadne analize. Ukupan broj mjehurića (mikroembolijskih signala) registriran u MCA i PCA zapisivan je svaki puta nakon primjene bolusa mjehurića u kubitalnu venu. Sve prikaze cerebralnih arterija je uradio iskusni specijalist neurolog (K. Č.).

3.2.9. Hemodinamska mjerenja

Sva neinvazivna mjerenja hemodinamskih parametara su vršena u mirnom okruženju s ambijentalnom temperaturom $23 \pm 1^\circ\text{C}$ dok su ispitanici bili u ležećem položaju na lijevom boku, a prethodno su odmarali tijekom najmanje 15 minuta. Mjerenja se izvode na način da se većom manžetom dio uređaja fiksira oko podlaktice u visini radiokarpalnog zgloba, a manja manžeta se omota oko srednje falange srednjeg prsta s ciljem da se senzori uređaja postave iznad projekcije digitalnih arterija. Za mjerenja je korištena dominantna (najčešće desna) ruka. Sistolički i dijastolički arterijski tlak (SBP, DBP) kontinuirano su mjereni koristeći metodu fotopletizmografije pomoću uređaja Finometer (TPD Biomedical Instrumentation, Amsterdam, Nizozemska), a isti su prethodno kalibrirani koristeći standardni živin manometar na nadlaktici preko brahijalne arterije. Udarni volumen (SV) je procjenjivan pomoću, tzv. Modelflow analize (94) te je kalibriran najmanje jednom za svakog ispitanika koristeći ehokardiografsku modificiranu Simpsonovu metodu. Kod modificirane Simpsonove metode granica endokarda lijevog ventrikula bila bi ocrтана na kraju dijastole te na kraju sistole iz jedne ravnine koristeći projekciju četiri srčane šupljine iz srčanog apeksa. Razlika između volumena lijeve klijetke na kraju dijastole te na kraju sistole daje udarni

volumen. Srčani minutni volumen (CO) smo računali kao $SV \times$ srčana frekvencija (HR) koju smo određivali iz kontinuiranog elektrokardiografskog zapisa. Ukupni periferni otpor (TPR) smo računali kao srednji arterijski tlak (MAP)/CO. Svi podaci su pohranjeni koristeći PowerLab/16sp (ADInstruments, Colorado Springs, SAD) sustav za prikupljanje podataka te su potom transferirani na računalo radi naknadne analize pomoću softverskog programa ChartTM 5 (ADInstruments, Colorado Springs, SAD). Segmenti za analizu su uključivali zapise trajanja $1\text{min} \pm 1\text{s}$.

Periferna arterijska saturacija (SpO_2) je kontinuirano monitorirana pomoću pulsog okismetra (Poet II Criticare Systems, Waukesha, SAD) čiji senzor je bio postavljen na jagodicu lijevog kažiprsta.

3.2.10. Posebne okolnosti za bolesnike s fibrilacijom atrijske

Za ispitanike s fibrilacijom atrijske, za mjerenje dimenzija srčanih stijenki i šupljina, kao i za procjenu zalistaka, rađena su najmanje dva odvojena mjerenja (uvijek uzimajući cikluse sa srednjom duljinom RR intervala). Korišteno je 3-5 srčanih ciklusa za mjerenje srčanog minutnog volumena i sistoličkog tlaka u plućnoj arteriji. Kod dokazivanja prisutnosti PFO-a nije korišten poseban protokol u slučaju da je ispitanik imao fibrilaciju atrijske.

3.2.11. Priprema ispitanika i istraživački protokol

Studija I izvedena je u laboratoriju Zavoda za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta u Splitu, a zahtijevala je jedan dolazak ispitanika. Nakon detaljnog upoznavanja ispitanika s predviđenim protokolom istraživanja, uz iznošenje svih rizika i koristi, svaki ispitanik je dao pisanu suglasnost prije uključivanja u istraživanje. Potom je svakom ispitaniku uzeta detaljna anamneza te izvršen medicinski pregled. Zatim su urađena antropometrijska mjerenja i testovi plućne funkcije. Ostatak predviđenog protokola ispitanici su ležali na leđima u lijevom bočnom položaju. U antekubitalnoj veni lijeve podlaktice bila im je postavljena braunila veličine 18 ili 20 G (G od eng. *gauge*, standardizirana mjera vanjskog promjera igle). Na distalni kraj braunile bila su pripojena dva trokraka nastavka (Lakhani Medicare Private Limited, Faridabad, Haryana, Indija). Proksimalni trokraki nastavak je korišten za infuziju lijekova, dok su se preko distalnog nastavka primjenjivali bolusi mjehurića u kubitalnu venu, kako je prethodno opisano (vidi testiranje na PFO). Svi lijekovi su primijenjeni pomoću infuzomata (B. Braun, Infusomat[®] Space, Breinigsville, SAD). Primjenjivane su dvije doze NTG kao i NE tijekom 3-4 minute: NTG u dozama od $3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ i $6 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$; dok se NE primjenjivao u dozama $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ i $0.25 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$. AMP je primjenjivan u jednoj dozi od $6 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tijekom 30 minuta. Tzv. „wash-out“ period između primjene različitih lijekova iznosio je 30-45 min s namjerom da se postignu početne hemodinamske

vrijednosti. Primjena prva dva lijeka NTG i NE bila je randomizirana s obzirom na njihovo kratko poluvrijeme života (NTG $t_{1/2} \sim 3-4$ min, NE $t_{1/2} \sim 1-2$ min), dok je aminofilin uvijek primjenjivan kao treći lijek s obzirom na poluvrijeme života $t_{1/2} \sim 8$ h. Tijekom primjene lijekova vršena su sva prethodno opisana hemodinamska i ehokardiografska mjerenja, kao i određivanje stupnja mjehurića u lijevim srčanim komorama. U izvođenju predviđenog protokola sudjelovao je multidisiplinarni tim sastavljen od djelatnika KBC-a Split, kardiologa i anesteziologa, te kolega zaposlenika Zavoda za integrativnu fiziologiju.

Studija II također je izvedena u laboratoriju Zavoda za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta u Splitu, a zahtijevala je jedan dolazak ispitanika. Nakon detaljnog upoznavanja ispitanika s predviđenim protokolom istraživanja, uz iznošenje svih rizika i koristi, svaki ispitanik je dao pisanu suglasnost prije uključanja u istraživanje. Potom je svakom ispitaniku uzeta detaljna anamneza te izvršen medicinski pregled. Zatim su urađena antropometrijska mjerenja, testovi plućne funkcije, ehokardiografska mjerenja dimenzija, volumena, tlakova i funkcije zalistaka te je uzet uzorak krvi iz radijalne arterije za određivanje acidobaznog statusa. Potom je ispitanicima postavljena braunila veličine 18 ili 20 G u površinsku kubitalnu venu lijeve podlaktice te im je urađeno testiranje na prisutnost PFO-a. Ostatak predviđenog protokola ispitanici su ležali na leđima u lijevom bočnom položaju te su vršena kontinuirana hemodinamska mjerenja tijekom čega su ispitanicima primjenjivani bolusi mjehurića u kubitalnu venu, a transtorakalnom ehokardiografijom i transkranijalnim doplerom je određivan i semikvantificiran desno-lijevi šant, tj. protok kroz IPAVA-e i PFO. Tijekom primjene bolusa mjehurića vršena su dodatna ehokardiografska mjerenja tlaka u plućnoj arteriji. U izvođenju predviđenog protokola sudjelovao je multidisiplinarni tim sastavljen od djelatnika KBC-a Split, kardiologa, anesteziologa i neurologa; kolega zaposlenika Zavoda za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu te kolega zaposlenika Zavoda za fiziologiju Sveučilišta u Oregonu iz Sjedinjenih Američkih Država.

3.2.12. Statistička raščlamba

Studija I

Svi hemodinamski parametri prezentirani su kao kvantitativni podatci (aritmetička sredina \pm standardna devijacija). Sve usporedbe hemodinamskih parametara mjerenih tijekom primjene dvije doze nitroglicerina i noradrenalina (početne vrijednosti hemodinamskih parametara prema parametrima mjerenim tijekom infuzije lijeka) kao i početne vrijednosti hemodinamskih parametara prije primjene svakog pojedinačnog lijeka (nitroglicerina, noradrenalina i aminofilina) uspoređene su ANOVA testom za ponavljana mjerenja uz *post hoc* analizu Bonferroni testom. Hemodinamski parametri mjereni tijekom primjene jedne doze aminofilina (početne vrijednosti prema

vrijednostima istih nakon primjene aminofilina tijekom 30 minuta) uspoređeni su sa Studentovim t-testom. Količina mjehurića prikazana je kvalitativno kao medijan (25-75% raspon) te uspoređena neparametrijskim testom, Friedmanovom analizom varijance.

Vrijednost $p < 0.05$ predstavljala je granicu statističke značajnosti. Statistička analiza svih podataka napravljena je pomoću aplikacije Statistica (verzija 8.0; Statsoft Inc., Tulsa, SAD).

Studija II

Ukupna i grupna deskriptivna statistika (srednja vrijednost, standardna devijacija te standardna greška srednje vrijednosti) računata su za sve testne varijable. Koristili smo Studentov t-test za neovisne uzorke za utvrđivanje značajnosti razlika među ispitanicima sa i bez PFO-a unutar pojedine skupine bolesnika (npr. CHF PH+ ili CHF PH-) uz $\alpha = 0.05$. Prilikom usporedbe razlike mjerenih parametara acidobaznog statusa prospektivno smo utvrdili da prisutnost PFO-a rezultira u nižim vrijednostima SaO_2 i P_{O_2} te višim vrijednostima P_{CO_2} te smo radili usporedbu jednostranim (eng. *one-tailed*) Studentovim t-testom za neovisne uzorke. S obzirom da ostali parametri nisu mogli biti određeni prospektivno, za njihovu usporedbu smo koristili dvostrani (eng. *two-tailed*) Studentov t-test za neovisne uzorke. Pojedinačni χ^2 -testovi su korišteni za usporedbu razlike u uzimanju lijekova, srčanog ritma (sinusni ritam ili fibrilacija atrijska) i NYHA razreda među grupama. Razlike protoka kroz IPAVA-e i PFO između zdravih kontrolnih ispitanika i CHF bolesnika utvrđene su pomoću Mann-Whitney U testa s obzirom da semikvantitativno bodovana razina mjehurića zahtijeva upotrebu neparametrijskog testa. Pojedinačne χ^2 -test analize su urađene za određivanje povezanosti protoka kroz IPAVA-e ili PFO na osnovi zabilježene razine mjehurića, a u odnosu na PASP ili CO. Temeljeno na prethodnom radu naše istraživačke grupe, razina mjehurića bila je podijeljena u dvije grupe: niska razina mjehurića (≤ 12 mikromjehurića određeno s TCD uređajem ili stupanj mjehurića ≤ 2 određeno ehosonografski) i visoka razina mjehurića (> 12 mikromjehurića određeno s TCD uređajem ili stupanj mjehurića ≥ 3 određeno ehosonografski) za potrebe χ^2 -test analize. Nadalje, TRV vrijednost je podijeljena na nisku ($\leq 2.8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) i visoku ($\geq 2.8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) temeljeno na ECS/ERS kriterijima za ehosonografsko određivanje vjerojatnosti plućne hipertenzije, dok je CO podijeljen na niski ($< 6 \text{ L}/\text{min}$) i visoki ($\geq 6 \text{ L}/\text{min}$) temeljem retrospektivne vizualne separacije visoke i niske razine mjehurića, također za potrebe χ^2 -test analize. Završnim χ^2 -testom uspoređena je razina mjehurića određena korištenjem transtorakalne kontrastne ehokardiografije te broj istodobno detektiranih mikroembolijskih signala pomoću transkranijuskog doplera. Za potrebe ove analize, razina mjehurića je podijeljena kako je ranije opisano, na nisku (≤ 12 mikromjehurića određeno s TCD uređajem, ili stupanj mjehurića ≤ 2 određeno ehosonografski) i visoku (> 12 mikromjehurića određeno s TCD uređajem, ili stupanj mjehurića ≥ 3 određeno ehosonografski), dok je razina mikroembolijskih signala detektiranih transkranijuskim doplerom

podijeljena na skupinu s manjim (≤ 12 mikroembolijskih signala) i većim (> 12 mikroembolijskih signala) lijevo-desnim šantom.

Statistička analiza svih podataka je urađena pomoću aplikacije GraphPad Prism software v 5.0b (GraphPad Software, La Jolla, SAD). Vrijednost $p < 0.05$ predstavljala je granicu statističke značajnosti.

4. REZULTATI

4.1. Studija I

4.1.1. Antropometrijski podatci i plućna funkcija

Antropometrijski podatci te podatci plućne funkcije uključujući spirometriju, maksimalnu voljnu ventilaciju i difuzijski kapacitet pluća za ugljični monoksid prikazani su u Tablici 1. Testovi plućne funkcije bili su unutar referentnog raspona za sve ispitanike (Tablica 1).

Tablica 1. Antropometrijski podatci i plućna funkcija

	srednja vrijednost (SD)	% predviđenog (SD)
Dob	37.2 (8.4)	
Težina (kg)	88 (9.2)	
Visina (cm)	180.5 (6.6)	
BMI (kg/m ²)	27 (2.4)	
BF (%)	15.8 (3.7)	
FVC (L)	6.1 (1.1)	118.9 (16.8)
FEV ₁ (L)	4.8 (0.7)	114.4 (11.6)
FEV ₁ /FVC (%)	79.8 (6.8)	99.1 (7,3)
FEF ₂₅₋₇₅ (L)	4.5 (1.1)	95.8 (20.4)
PEF (L/s)	11.5 (0.9)	118.7 (9.6)
MVV (L/min)	182.4 (32.5)	124.5 (21.6)
EVC (L)	5.9 (1)	110.3 (13.9)
IVC (L)	5.7 (1.1)	107.4 (15.7)
ERV (L)	1.7 (0.5)	114.6 (32.7)
DL _{CO} (mL/min/mmHg)	32.7 (7.4)	95 (21.1)
DL _{CO} /VA (mL/min/mmHg/L)	4.4 (0.7)	94.8 (16.6)

Podatci su prezentirani kao srednja vrijednost i standardna devijacija (u zagradama). BMI, indeks tjelesne mase; BF, postotak tjelesne masti; FVC, forsirani vitalni kapacitet; FEV₁, forsirani ekspiracijski volumen tijekom prve sekunde; FEF₂₅₋₇₅, forsirani ekspiracijski protok od 25% do 75% vitalnog kapaciteta; PEF, vršni ekspiracijski protok; MVV, maksimalna voljna ventilacija; EVC, ekspiracijski vitalni kapacitet; IVC, inspiracijski vitalni kapacitet; ERV, ekspiracijski rezervni volumen; DL_{CO}, difuzijski kapacitet pluća za ugljični monoksid; DL_{CO}/VA, difuzijski kapacitet pluća za ugljični monoksid korigiran po alveolarnom volumenu. Dobivena mjerenja su prikazana i kao % pojedinačnih predviđenih mjerenja računatih prema očekivanom za dob, spol, težinu, visinu i rasu.

4.1.2. Hemodinamski parametri

Dobiveni hemodinamski parametri su prezentirani u Tablici 2. NTG primijenjen u dozi od 3 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ je uzrokovao porast srčane frekvencije i sniženje udarnog volumena, dok je u dozi 6 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ uzrokovao još izraženije promjene ranije navedenih parametara uz statistički značajno sniženje srednjeg, sistoličkog i dijastoličkog arterijskog tlaka, kao i sistoličkog tlaka u plućnoj

arteriji. NE primijenjen u dozi od $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ povisio je srednji, sistolički i dijastolički arterijski tlak kao i sistolički tlak u plućnoj arteriji uz sniženje srčane frekvencije. Primijenjen u višoj dozi od $0.25 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, NE je uz još izraženije promjene ranije navedenih parametara uzrokovao i porast udarnog volumena, ukupnog perifernog otpora i periferne arterijske saturacije. Nakon primjene AMP-a u dozi od $6 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ tijekom 30 minuta, samo je srčani minutni volumen bio statistički značajno povećan. Mjereni hemodinamski parametri prije primjene različitih lijekova nisu se međusobno razlikovali.

4.1.3. Stupanj mjehurića

Zabilježena razina mjehurića nakon primjene više i niže doze NTG-a i NE-a, kao i nakon primjene AMP-a, određena za svakog ispitanika prikazana je u Tablici 3. NTG primijenjen u dozama od $3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ i $6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, kao i NE primijenjen u dozama $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ i $0.25 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ rezultirao je u najviše mjerenom stupnju mjehurića 1, što govori u prilog beznačajnom protoku kroz IPAVA. Stupanj mjehurića 2, što se smata značajnim za otvaranje i protok kroz IPAVA-e, zabilježen je samo u jednog od devet ispitanika nakon primjene AMP-a.

Tablica 2. Hemodinamski parametri

	Nitroglicerin			Noradrenalin			Aminofilin		
	mirovanje	3 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	6 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	mirovanje	0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	0.25 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	mirovanje	6 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
MAP (mmHg)	85 (6.8)	82.2 (6.9)	76.5* (8.6)	83.3 (8.6)	93.6* (13.5)	103.1* (7.7)	83.6 (6.9)	83.3 (6.5)	
HR (beats/min)	69.3 (13.4)	77.8* (15.5)	82.7* (19)	67.8 (12.9)	56* (9.8)	47.4* (12.2)	68.6 (15.8)	72.8 (16.2)	
SV (mL)	84.5 (28.9)	70* (26)	69.9* (26.8)	76.2 (16)	85.1 (22.5)	105* (24.4)	82.3 (24.7)	85.1 (19.5)	
CO (L/min)	5.7 (1.5)	5.2 (1.7)	5.5 (1.8)	5.2 (0.9)	4.7 (1.3)	4.8 (0.9)	5.4 (1.3)	6* (1.2)	
SBP (mmHg)	116.1 (9.6)	109.3 (7.7)	103.2* (6.3)	113.6 (7.8)	129.2* (13.2)	150.8* (20.3)	115 (9.5)	115.5 (10.3)	
DBP (mmHg)	73.1 (8)	71.9 (8)	67.1* (10.2)	73.1 (9.5)	81* (12)	88.2* (4.4)	73.7 (7.9)	73.3 (7)	
TPR (mmHg/L/min)	16.2 (5.3)	17.2 (5.3)	15.2 (5.1)	17.1 (4.4)	21.5 (7.3)	22.7* (4.7)	16.4 (5)	14.4 (3.7)	
SpO ₂ (%)	97.1 (1.1)	96.6 (1.8)	96 (1.7)	96.4 (1.7)	96.9 (1)	98* (0.6)	96.9 (0.7)	96.4 (1.5)	
PASP (mmHg)	21.6 (3.1)	21 (2.3)	19.1* (3.4)	21.6 (2.4)	24.7* (2.6)	30.3* (5.2)	22.1 (3.1)	22.3 (2.4)	

Podatci su prezentirani kao srednja vrijednost i standardna devijacija (u zagradama). MAP, srednji arterijski tlak; HR, srčana frekvencija; SV, udarni volumen; CO, srčani minutni volumen; SBP, sistolički arterijski tlak; DBP, dijastolički arterijski tlak; TPR, ukupni periferni otpor; SpO₂, periferna arterijska saturacija; PASP, sistolički tlak u plućnoj arteriji, * p<0.05 prema početnoj hemodinamskoj vrijednosti

Tablica 3. Stupanj mjehurica

ispitanik	Nitroglicerina		Noradrenalin		Aminofilin	
	mirovanje	3 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	mirovanje	0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	mirovanje	6 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	1	1	1	1	0	0
5	0	0	0	0	0	2
6	0	1	0	1	1	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	-	-

4.2. Studija II

Ukupna incidencija PFO-a u skupini CHF bolesnika bila je 17/56 (30%), s time da je u skupini CHF PH- bolesnika bila 6/24 (29%), dok je u skupini CHF PH+ bolesnika bila 11/32 (34%)

Tablica 4. Antropometrija, plućna i srčana funkcija

	CHF PH+ (n=32)		CHF PH- (n=24)		kontrola
	PFO- (n=21)	PFO+ (n=11)	PFO- (n=18)	PFO+ (n=6)	
Dob	66.8±9.4	66.7±9.3	65.4±8.4	68.2±10.1	67.2±9.1
Težina (kg)	87.4±19.1	79.7±10.5	96.9±18.5	85.5±15.6	78.6±17.6
Visina (cm)	1.73±0.09	1.74±0.09	1.76±0.09	1.78±0.11	1.72±0.10
BMI (kg/m ²)	29.4±6.9	26.4±2.40	31.4±5.5	26.9±3.7	26.4±3.6
BSA (m ²)	2.00±0.21	1.95±0.18	2.13±0.21	2.04±0.24	1.90±0.30
Pušenje	8 (38%)	4 (36%)	9 (50%)	4 (67%)	7 (25%)
Alkohol >21 i.j./tj.	7 (33%)	3 (27%)	7 (39%)	3 (33%)	n.d.
FVC (L)	3.30±1.02	3.16±1.37	4.03±0.97	4.22±1.86	4.15±0.98
FVC (% pred)	87.8±17.3	78.8±22.8	102.2±14.8	91.3±22.9	106.2±13.2
FEV ₁ (L)	2.48±0.73	2.51±1.10	3.26±0.78	3.02±1.29	3.11±0.69
FEV ₁ (% pred)	84.9±18.1	83.0±21.3	105.3±15.3	85.3±8.9*	105.6±11.3
FEV ₁ /FVC (%)	75.8±10.1	74.1±10.5	80.8±8.3	70.5±8.6*	75.5±4.9
FEF ₂₅₋₇₅ (L)	2.14±0.73	2.52±0.79	3.36±1.07	2.65±0.96	2.55±0.80
FEF ₂₅₋₇₅ (% pred)	68.8±22.6	76.9±14.0	101.8±26.5	68.9±14.9*	100.7±19.1
PEF (L/s)	5.82±2.55	6.11±1.84	6.15±1.86	5.58±1.48	8.11±2.24
LVIDd (cm)	6.4±1.0	6.3±0.9	6.4±0.5	6.5±0.8	n.d.
LAd (cm)	5.4±0.9	5.0±0.8	4.6±0.6	4.6±0.8	n.d.
RAd (cm)	5.3±0.6	5.5±0.7	4.6±0.7	4.4±0.7	n.d.
RVd (cm)	4.4±0.4	4.4±0.3	3.8±0.6	3.8±0.6	n.d.
Ritam					
Sinusni ritam	4 (19%)	5 (45%)	15 (83%)	5 (83%)	28 (100%)
Atrijska fibrilacija	17 (81%)	6 (55%)	3 (16%)	1 (17%)	0 (0%)
NYHA razred ≥II	20 (95%)	11 (100%)	11 (61%)	3 (50%)	0 (0%)
Lijekovi					
Diuretici	21 (100%)	10 (91%)	11 (61%)	3 (50%)	-
β-blokatori	16 (76%)	7 (64%)	15 (83%)	3 (50%)	-
ACE inhib/ARB	13 (62%)	7 (64%)	11 (61%)	3 (50%)	-
Ca ²⁺ -blokatori	3 (14%)	0 (0%)	1 (6%)	0 (0%)	-
Metildigoksin	14 (67%)	4 (36%)	4 (22%)	1 (17%)	-

Podatci su prezentirani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. BMI, indeks tjelesne mase; pušenje, trenutno ili prethodno; alkoholna konzumacija >21 internacionalne jedinice/tjedan trenutno ili prethodno tijekom najmanje dvije godine; NYHA, New York Heart Association klasifikacija funkcionalnog statusa; FVC, forsirani vitalni kapacitet; FEV₁, forsirani ekspiracijski volumen u prvoj sekundi; FEF₂₅₋₇₅, forsirani ekspiracijski protok od 25% do 75% vitalnog kapaciteta; PEF, vršni ekspiracijski protok; n.d., nema podataka; LVIDd, promjer lijeve klijetke na kraju diastole; LAd, promjer lijeve pretklijetke; RAd, promjer desne pretklijetke; RV, promjer desne klijetke. Dobivena mjerenja za spirometriju su prikazana i kao % pojedinačnih predviđenih mjerenja računatih prema očekivanom za dob, spol, težinu, visinu i rasu. * p<0.05 prema PFO-

(Tablica 4). Incidencija PFO-a u dobno usklađenoj kontrolnoj skupini zdravih ispitanika bila je 6/28 (21%) (Tablica 4). CHF PH- PFO+ bolesnici imali su niži FEV₁ (% predviđenog), FEV₁/FVC (volumen i % predviđenog) kao i FEF₂₅₋₇₅ (% predviđenog) u usporedbi s CHF PH- PFO-bolesnicima (Tablica 4). Nije pronađeno statistički značajnih razlika među PFO+ i PFO-bolesnicima s obzirom na srčani ritam i lijekove bilo u CHF PH+ ili CHF PH- skupini (Tablica 4). Prema dizajnu studije PASP kod CHF PH- bolesnika je bio sličan kao i u skupini kontrolnih zdravih ispitanika, dok su PASP i P_{RA} bili statistički značajno viši u CHF PH+ skupini bolesnika (Tablica 5).

Tablica 5. Hemodinamski i ehokardiografski podatci

	CHF PH+ (n=32)		CHF PH- (n=24)		kontrolne
	PFO- (n=21)	PFO+ (n=11)	PFO- (n=18)	PFO+ (n=6)	
Hemodinamika					
MAP (mmHg)	91±11	93±17	94±12	94±12	n.d.
SBP (mmHg)	120±12	125±16	129±17	133±8	n.d.
DBP (mmHg)	77±11	76±17	78±11	80±7	n.d.
TPR (mmHg/L/min)	15±3	14±4	16±7	15±6	n.d.
MCA (cm/s)	45±10	46±8	54±17	56±24	n.d.
PCA (cm/s)	34±8	38±5	41±12	42±25	n.d.
Ehokardiografija					
EDLVV (mL)	215±66	215±62	215±41	218±62	109±27
ESLVV (mL)	121±48	123±43	110±27	108±37	40±12
SV (mL)	93±35	92±22	105±20	111±33	69±19
HR (beates/min)	77±17	76±16	67±12	71±4	70±10
CO (L/min)	7.1±2.7	6.9±1.8	7.1±1.8	7.8±2.3	4.9±1.6
CI (L/min)	3.5±1.2	3.6±1.1	3.3±0.8	3.8±0.8	2.5±0.7
LVEF (%)	47±11	47±9	49±5	51±8	64±7
MR ≥2	18 (86%)	9 (82%)	6 (29%)	2 (33%)	0 (0%)
TRV (m/s)	3.5±0.5	3.7±0.6	2.0±0.6	2.2±0.4	2.4±0.4
pRA (mmHg)	11±4	9.9±3.3	7.2±1.9	6.3±2.6	4.0±2.0
PASP (mmHg)	61±16	66±20	25±11	25±8	24±8

BSA, površina tijela; CHF, kronično srčano zatajivanje; DBP, dijastolički arterijski tlak; EDLVV, volumen lijeve klijetke na kraju dijastole; ESLVV, volumen lijeve klijetke na kraju sistole; HR, srčana frekvencija; LVEF, ejekcijska frakcija lijeve klijetke; MAP, srednji arterijski tlak; MCA, srednja moždana arterija; MR, mitralna regurgitacija; n.d., nema podataka; PASP, sistolički tlak plućne arterije; PCA, stražnja moždana arterija; PFO, interatrijski ovalni otvor; PH, plućna hipertenzija; P_{RA}, tlak u desnoj pretklijetki; CO, srčani minutni volumen; SBP, sistolički arterijski tlak; SV, udarni volumen; TPR, ukupni periferni otpor; TRV, vršna brzina protoka preko trikuspidne valvule.

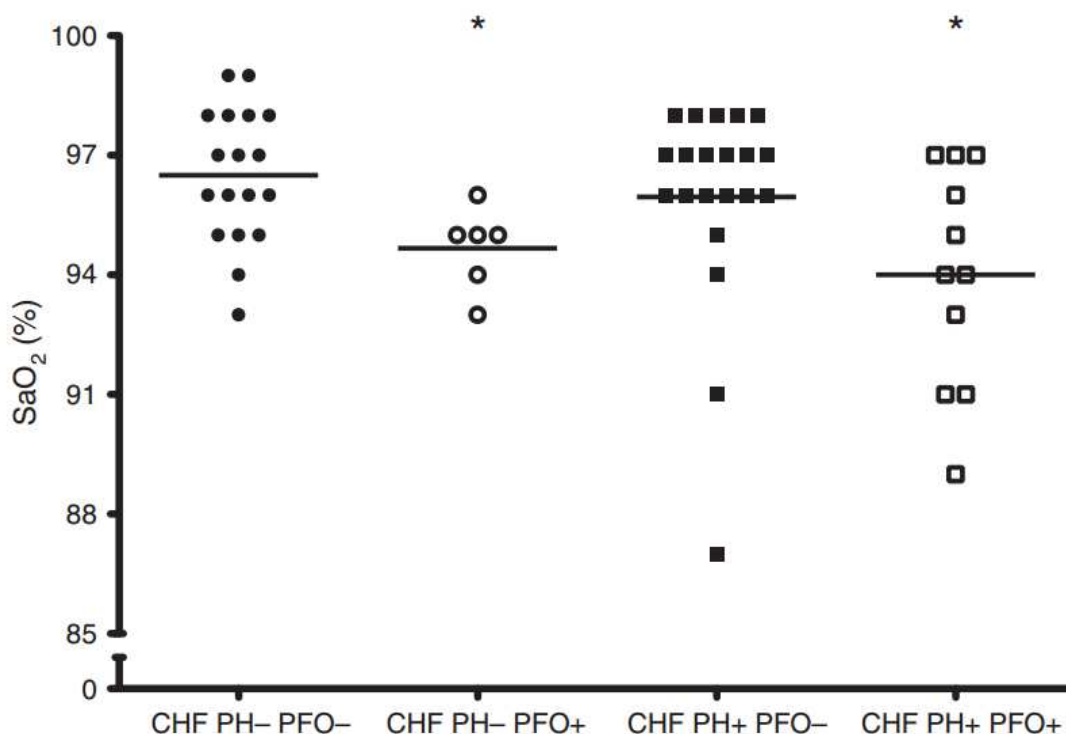
Prosječna periferna arterijska saturacija kisikom bila je niža kod ispitanika koji su imali PFO. Za istaknuti je kako je u toj grupi bilo varijabilnosti u SaO₂. Preciznije, 12 od 17 (71%) PFO+ ispitanika imalo je SaO₂ ≤95% (Slika 2). Prosječna SaO₂ bila je <95% u CHF PH+ PFO+ bolesnika, što nije bio slučaj kod CHF PH+ PFO- bolesnika (Slika 2, Tablica 6).

Tablica 6. Acidobazni status, koncentracija elektrolita i razina glukoze

	CHF PH+		CHF PH-	
	PFO- (n=21)	PFO+ (n=11)	PFO- (n=18)	PFO+ (n=6)
pH	7.45±0.05	7.44±0.03	7.43±0.04	7.43±0.04
P _{CO₂} (kPa)	4.4±0.8	4.9±0.9	4.9±0.6	4.9±0.6
P _{O₂} (kPa)	10.9±1.6	9.8±2	11.3±1.7	10.9±1.8
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	22.88±3.64	24.79±3.87	24.46±2.65	24.73±1.36
BE (mmol/L)	0.71±3.21	0.64±3.37	0.21±2.80	0.38±1.31
SaO ₂ (%)	96.0±2.6	94.0±2.8*	96.5±1.7	94.7±1.0*
tCO ₂ (mmol/L)	23.9±3.8	25.9±4.1	25.6±2.7	25.9±1.4
Na ⁺ (mmol/L)	140.9±3.4	141.0±2.1	140.4±1.9	140.8±1.7
K ⁻ (mmol/L)	3.6±0.7	3.8±0.6	4.3±0.7	4.0±0.3
iCa ²⁺ (mmol/L)	1.2±0.10	1.2±0.10	1.2±0.10	1.1±0.20
Glu (mmol/L)	5.8±1.6	6.1±1.4	6.7±1.2	6.0±0.6
Hgb (g/L)	127±23	124±25	138±15	139±22

Podatci su prezentirani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. BE, višak baza; P_{CO₂}, parcijalni tlak ugljičnog dioksida; P_{O₂}, parcijalni tlak kisika; Glu, koncentracija glukoze; Hgb, hemoglobin; iCa²⁺, ionizirani kalcij; SaO₂, periferna arterijska oksigenacija (iz arterijske krvi); tCO₂, ukupni sadržaj ugljičnog dioksida. *p<0.05 prema PFO-

Slika 2. Učinak prisutnosti PFO-a na SaO₂ u CHF bolesnika sa i bez plućne hipertenzije

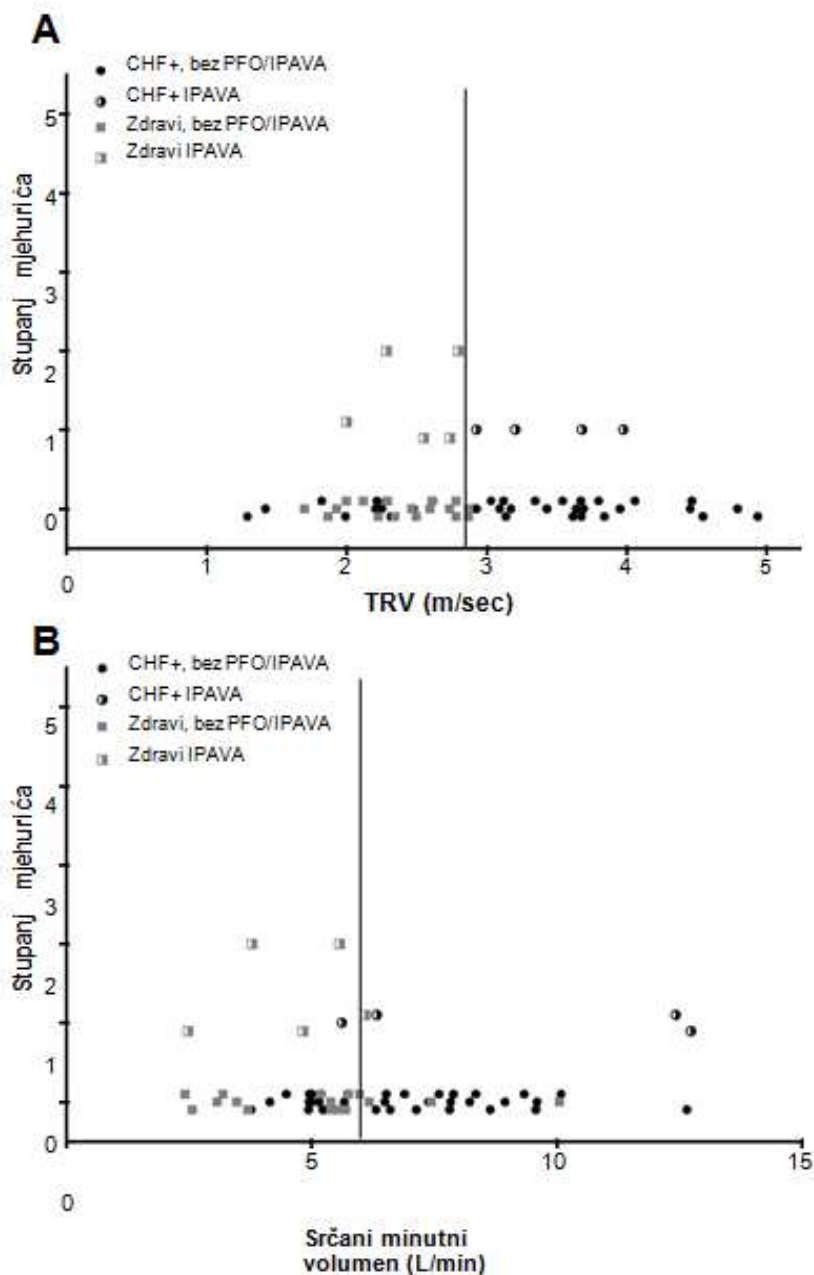


CHF; kronično srčano zatajivanje; PFO, interatrijski ovalni otvor; PH, plućna hipertenzija; SaO₂, periferna arterijska oksigenacija.

SaO₂ je bila viša kod PFO+ bolesnika; Studentov t-test, *p<0.05 prema PFO-

Protok krvi kroz IPAVA-e, dakle potencijalni intrapulmonalni desno-lijevi šant, nije bio prisutan u većine PFO- ispitanika zbog toga što kod niti jednog ispitanika nije zabilježen stupanj mjehurića >2. Unatoč tome, urađena je χ^2 analiza odnosa između protoka krvi kroz IPAVA-e u odnosu na TRV i CO; ovi podatci su prikazani na Slici 3.

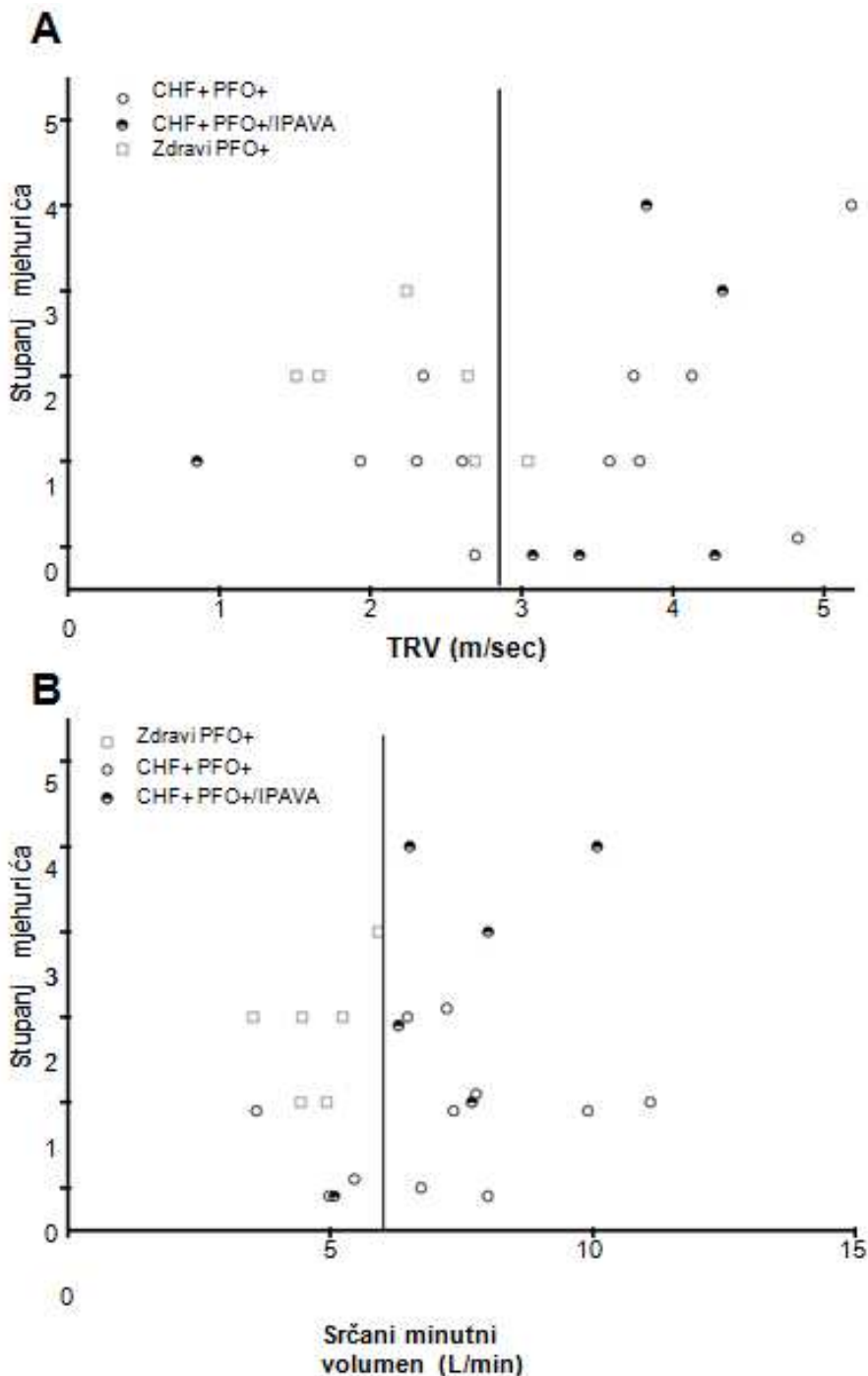
Slika 3. Protok krvi kroz IPAVA-e u odnosu na vršnu brzinu protoka preko trikuspidnog zalistka (TRV) (A) ili srčani minutni volumen (B)



CHF+ bez PFO/IPAVA, bolesnici s kroničnim srčanim zatajivanjem bez protoka krvi kroz IPAVA-e i/ili PFO; CHF+ IPAVA, bolesnici s kroničnim srčanim zatajivanjem s protokom kroz IPAVA-e; Zdravi, bez PFO/IPAVA, zdravi ispitanici bez protoka krvi kroz IPAVA-e i/ili PFO; Zdravi IPAVA, zdravi ispitanici s protokom kroz IPAVA-e; Nijedan ispitanik nije imao signifikantan protok krvi kroz IPAVA; tj. stupanj mjehurića >2, zbog čega se odnos protoka krvi kroz IPAVA nije mogao usporediti s TRV i CO χ^2 analizom.

Intrakardijalni šant u PFO+ ispitanika bio je prisutan, ali nije bio povezan s TRV prema χ^2 analizi (Slika 4A). Koristeći χ^2 analizu dokazana je statistički značajna povezanost između protoka krvi

Slika 4. Odnos protoka krvi kroz PFO u odnosu na vršnu brzinu protoka preko trikuspidnog zalistka (TRV) (A) ili srčani minutni volumen (B)



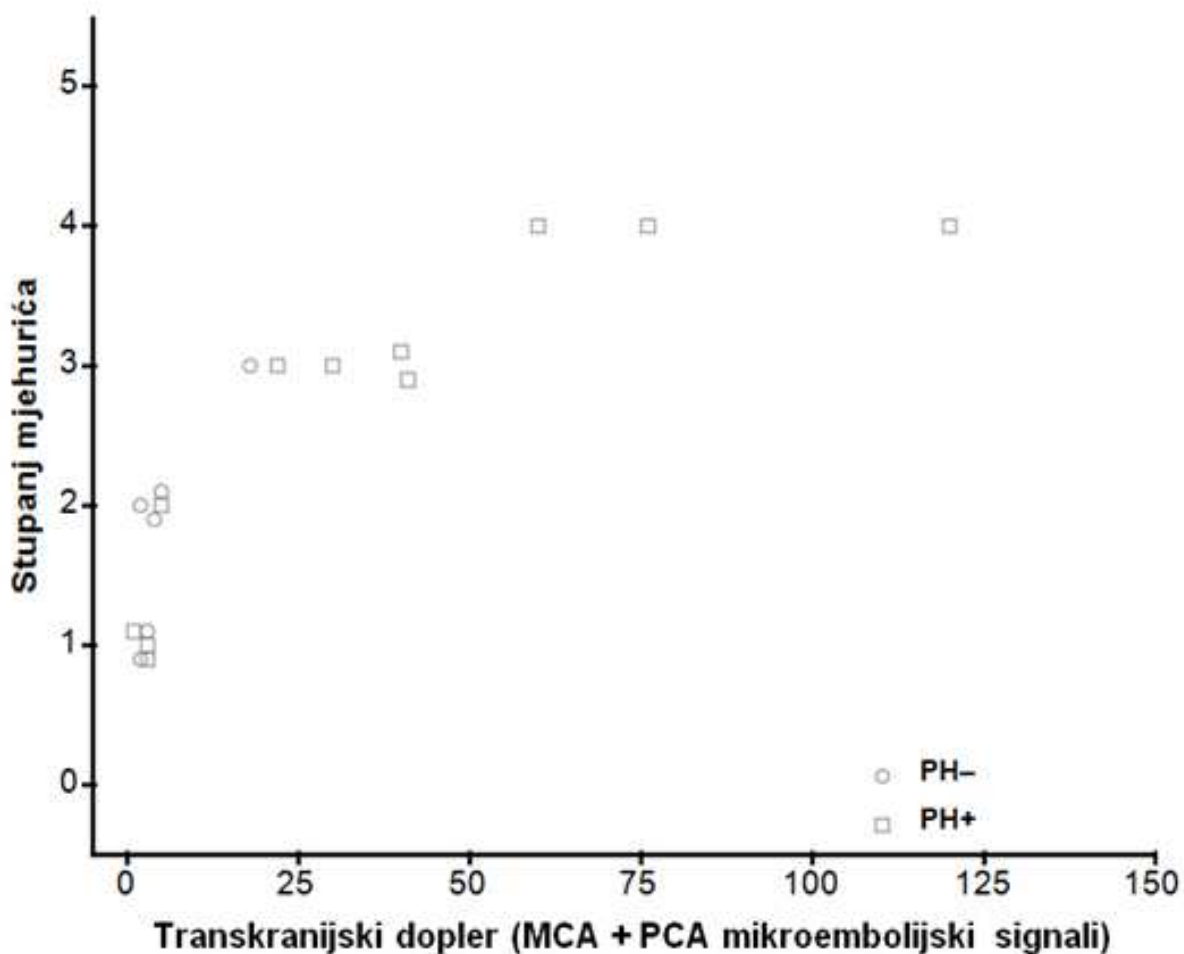
CHF+ PFO+, bolesnici s kroničnim srčanim zatajivanjem i protokom krvi kroz PFO; CHF+ PFO+/IPAVA, bolesnici s kroničnim srčanim zatajivanjem i protokom krvi kroz PFO i IPAVA-e; Zdravi PFO+, zdravi ispitanici s protokom krvi kroz IPAVA-e; TRV, vršna brzina protoka preko trikuspidne valvule.

Nije bilo povezanosti između protoka krvi kroz PFO i TRV (χ^2 , $p=0.63$), dok je povezanost između PFO i CO bila statistički značajna (χ^2 , $p<0.028$)

kroz PFO i srčanog minutnog volumena (Slika 4B).

U PFO+ ispitanika, dokazana je statistički značajna povezanost između stupnja mjehurića dobivenih pomoću kontrastne transtorakalne ehokardiografije i mikroembolijskih signala detektiranih s transkranijским doplerom, gdje je pokazano da oni s većim desno-lijevim šantom (stupanj mjehurića >2 određen transtorakalnom kontrastnom ehokardiografijom) imaju veći broj registriranih TCD signala (>12 mikroembolijskih signala), i obratno (Slika 4).

Slika 5. Odnos između stupnja mjehurića dobivenog pomoću transtorakalne kontrastne ehokardiografije i mikroembolijskih signala detektiranih transkranijским doplerom u srednjoj moždanoj arteriji (MCA) i stražnjoj moždanoj arteriji (PCA)



Podatci uključuju bolesnike s kroničnim srčanim zatajivanjem sa PFO-om i odnose se na dobivene rezultate nakon Valsalvinog manevra. PH-, bolesnici s kroničnim srčanim zatajivanjem bez plućne hipertenzije; PH+, bolesnici s kroničnim srčanim zatajivanjem i plućnom hipertenzijom; transkranijски dopler (MCA + PCA signali), zbroj broja mikroembolijskih signala detektiranih transkranijским doplerom u srednjoj i stražnjoj moždanoj arteriji.

Pronašli smo statistički značajnu povezanost između podataka dobivenih TTSCE-om i TCD-om; konkretno TTSCE-om određen stupanj mjehurića >2 (tj. >12 mjehurića u lijevoj klijetki) je korelirao sa >12 mikroembolijskih signala detektiranih TCD-om u moždanoj cirkulaciji; (χ^2 , $p=0.0001$)

5. RASPRAVA

5.1. Studija I

Najvažniji nalaz u Studiji I je da niti nitroglicerina, niti noradrenalin, niti aminofilin, svi često korišteni lijekovi u suvremenoj medicini, u primijenjenim dozama nisu doveli do otvaranja IPAVA u zdravih ispitanika u mirovanju. Dok su mehanizam i/ili mehanizmi otvaranja IPAVA još uvijek nepoznati i predmet su rasprave, nedavno je u brojnim studijama njihovo otvaranje izvrsno koreliralo s porastom srčanog minutnog volumena i/ili sistoličkog tlaka u plućnoj arteriji (4, 19, 41, 43, 44, 49, 51, 78) sugerirajući da vjerojatno postoji neka „kritična“ kombinacija tlaka i protoka koja pasivno otvara IPAVA-e. Sva tri primijenjena lijeka su uzrokovala različite vazoaktivne i hemodinamske učinke, ali niti jedan nije uzrokovao značajan porast CO i/ili PASP-a koji bi bio dovoljan za otvaranje IPAVA.

5.1.1. Nitroglicerina

Nitroglicerina je potentni vazodilatator koji se većinom koristi za liječenje anginoznih boli, arterijske hipertenzije te prilikom akutnog infarkta miokarda s ciljem da se smanji ishemija. Primijenjen u niskim dozama, NTG primarno uzrokuje venodilataciju (smanjuje prethodno opterećenje), dok u višim dozama dilatira kako vene tako i arterije (smanjuje naknadno opterećenje) te je zbog toga potentan antihipertenziv. Upravo zbog njegovog vazodilatirajućeg djelovanja bili smo zainteresirani istražiti njegov potencijal otvaranja IPAVA. Međutim, NTG primijenjen bilo u nižoj ($3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) ili višoj ($6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) dozi nije uzrokovao otvaranje IPAVA ni u jednog od 10 ispitanika. Njegova primjena rezultirala je u dobro znanom, dozno ovisnom, smanjenju sistoličkog, dijastoličkog i srednjeg arterijskog tlaka, bez smanjenja ukupnog perifernog otpora. Nepromijenjen ukupni periferni otpor tijekom primjene NTG-a sugerira da je postojala kompenzatorna vazokonstrikcija u perifernoj vaskulaturi, najvjerojatnije posredovana simpatičkim živčanim sustavom kako predlažu i Gisolf i sur. (29). Srčana frekvencija je porasla tijekom primjene niže i više doze, ali unatoč tome srčani minutni volumen je ostao nepromijenjen uglavnom na račun sniženog srčanog udarnog volumena. Za pretpostaviti je da zbog nepromijenjenog srčanog minutnog volumena te malo, ali signifikantno sniženog sistoličkog tlaka u plućnoj arteriji (samo nakon primjene NTG-a u višoj dozi), nije došlo do pasivnog otvaranja IPAVA. Čini se da ove dinamične krvne žile velikog promjera nisu osjetljive na primjenu NTG te se ne mogu otvoriti samo na račun vazodilatirajućeg učinka nitroglicerina. Učinci nitroprusida, nitroglicerina i fentolamina (svi vazodilatatori) na hemodinamiku i udio desno-lijevog šanta kroz systemske arteriovenske komunikacije su prethodno istraživani na psima (18) te je dokazano da se ukupno systemsko šantiranje ne mijenja u odnosu na bazalne vrijednosti. Sudeći prema tome, vazodilatatori,

vjerojatno, putem svojeg primarnog mehanizma djelovanja, ne utječu na regulaciju protoka kroz arteriovenske anastomoze (bilo sistemske ili IPAVA-e). Međutim, u studiji Bryan i sur. (4) su dokazali novačenje i otvaranje IPAVA primjenom dopamina (plućni vaskularni vazodilatator) u niskim dozama, unatoč nepromijenjenom srčanom minutnom volumenu, što je sugeriralo direktni vazodilatirajući učinak dopamina na IPAVA-e. No, nedugo potom u studiji, koju su publicirali Laurie i sur. (43), primjena dopamina ni u jednoj primjenjenoj dozi nije dovela do otvaranja i novačenja IPAVA.

5.1.2. Noradrenalin

Noradrenalin se koristi za kontrolu krvnog tlaka u određenim akutnim hipotenzivnim stanjima s obzirom da dominantno djeluje vazokonstriksijski (alfa-adrenergički učinak), a dijelom i kao inotropni srčani stimulator i dilatator koronarnih arterija (beta-adrenergički učinak) (42). U prezentiranoj studiji, noradrenalin je dozno ovisno povisio sistemski i tlak u plućnoj arteriji. U ispitanika je sistolički tlak u plućnoj arteriji prosječno porastao na 30,3 mmHg te je dostigao “kritičnu vrijednost tlaka“ koja je bila dovoljna za otvaranje i novačenje IPAVA nakon primjene adrenalina u studiji koju su publicirali Laurie i sur. (43). Međutim, unatoč tom porastu sistoličkog tlaka u plućnoj arteriji prelazak mjehurića (iz desnih u lijeve srčane komore) nije bio prisutan ni u jednog ispitanika. U usporedbi s navedenom studijom, noradrenalin je uzrokovao blago sniženje srčanog minutnog volumena, prvenstveno na račun značajno snižene srčane frekvencije, što je potpuno suprotan učinak u odnosu na adrenalin. Naime, tijekom primjene adrenalina istodoban porast sistoličkog tlaka u plućnoj arteriji i srčanog minutnog volumena najvjerojatnije je doveo do pasivnog naprezanja/otvaranja IPAVA s ciljem da se smanji plućna vaskularna rezistencija. Moguće je da isključivo povišenje sistoličkog tlaka u plućnoj arteriji, u kombinaciji s nepromijenjenim srčanim minutnim volumenom, ne rezultira otvaranjem IPAVA.

5.1.3. Aminofilin

Aminofilin je plućni vaskularni vazodilatator koji uzrokuje srčanu simulaciju i bronhodilataciju (64, 89). Prethodno je dokazano da aminofilin “otvara vensko-arterijsku barijeru“ i narušava filtrirajuću sposobnost pluća kod pasa (7). Naime, Butler and Hills su dokazali da je primjena aminofilina u četiri psa uzrokovala transpulmonalni prijelaz embolusa u sistemske cirkulacije nakon primjene mjehurića zraka promjera manjeg od 130 μm u vensku cirkulaciju. Unatoč tome, aminofilin nije imao učinka na transpulmonalni prijelaz mjehurića zraka na modelu svinje (90). Rezultate ovih dviju studija teško je međusobno uspoređivati zbog razlike u dizajnu istraživanja. Nepodudarnost ovih dviju studija moguće je vezana za različit farmakološki učinak

aminofilina među testiranim vrstama, a koji je primijenjen u različitim dozama (intravenski $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ tijekom 4 minute u pasa, dok je kod svinja primijenjen u dozi od $15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ tijekom 10 minuta). Dodatno, psima su aplicirani kalibrirani mjehurići promjera 40-300 μm brzinom od 0.5 mL/min, dok su svinjama aplicirani kalibrirani mjehurići promjera 110-300 μm različitim brzinama ($0.05\text{-}0.2 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$). Završno, kod obje vrste smatra se da je promjer kapilara sličan, iako je kapilarna površina koja zaustavlja mikroemboluse zraka u plućima različita (kod svinja je površina značajno veća). U našoj studiji, nakon primjene aminofilina, registrirana je razina mjehurića 2, što govori u prilog značajnom protoku kroz IPAVA-e samo kod jednog od devet ispitanika. Ovaj rezultat je ostvaren unatoč činjenici da primjena aminofilina stimulira oslobađanje adrenalina (89), kateholamina za kojeg je prethodno dokazano da promovira otvaranje i novačenje IPAVA (43). Jedno od mogućih objašnjenja je da primjena aminofilina u dozi $6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ tijekom 30 minuta nije uspjela dovoljno povisiti koncentraciju adrenalina u plazmi do razine potrebne za otvaranje i novačenje IPAVA. Odsutan učinak adrenalina tijekom primjene aminofilina je neizravno razvidan zbog nesignifikantnog učinka na mjerenim hemodinamskim parametrima tijekom primjene aminofilina, osim blago, ali značajno povišenog srčanog minutnog volumena.

5.1.4. Ograničenja

Nekoliko je ograničenja u ovoj studiji. Prvo, koristili smo indirektnu tehniku kontrastne ehokardiografije za detekciju protoka kroz IPAVA-e. To je neinvazivna tehnika kojom se može detektirati desno-lijevi šant u zdravih ljudi, s tim da se s obzirom na vrijeme pojavljivanja kontrastnih mjehurića u lijevim srčanim komorama razlikuje intrakardijalni od intrapulmonalnog šanta (47). Ipak, tehnika se nedavno pokazala učinkovitom u detekciji otvaranja i novačenja IPAVA u brojnim studijama (4, 19, 41, 43, 44, 49, 51, 78). Drugo, naša studija je izvedena na malom broju ispitanika te zbog toga rezultati moraju biti razmatrani s oprezom. Treće, ispitanici nisu testirani u drugom, osim u ležećem položaju, a moguće da položaj tijela utječe na protok krvi kroz IPAVA. Također, ispitanici nisu testirani tijekom tjelovježbe, a moguće ovi lijekovi snižavaju granicu potrebnu za otvaranje i novačenje IPAVA tijekom vježbanja. Osobe s povećanim rizikom za moždani udar ili tranzitornu ishemičnu ataku mogu imati i druge rizične faktore koji, moguće, pridonose lakšem prijelasku iz venske u sistemske cirkulacije (desno-lijevom šantiranju). Četvrto, PASP je određivan neinvazivno. Najpreciznija mjerenja tlakova u plućnoj cirkulaciji dobila bi se invazivnim mjerenjem pomoću Swan-Ganz katetera, što je zlatni standard za mjerenje PASP-a (9). Međutim, prilikom svakog mjerenja/procjene tlakova u plućnoj arteriji davali smo maleni bolus mjehurića 0.1 mL zraka izmiješanog s 1 mL fiziološke otopine u kubitalnu venu, čime smo značajno poboljšavali/pojačavali signal trikuspidne regurgiracije (s obzirom da se isti mjeri na

osnovi Dopplerovog efekta) s ciljem da dobijemo što točnije podatke, kako su definirali Rudski i sur. (70), a prihvaćeno je i u smjernicama Europskog kardiološkog i pulmološkog društva (27). Završno, svi hemodinamski parametri dobiveni su pomoću neinvazivnih mjerenja koja mogu prouzročiti neprecizne procjene nekih varijabli. Međutim, neovisne studije provjere valjanosti dokazale su izvrsnu podudarnost između rezultata dobivenih korištenjem neinvazivne metode (Finometer) i onih dobivenih invazivnim mjerenjem (56). Nadalje, s obzirom da je svaki ispitanik služio kao svoja vlastita kontrola (početno mjerenje hemodinamskih parametara, tzv. *baseline* mjerenje te mjerenje istih za vrijeme infuzije lijeka), mi vjerujemo da su korištene tehnike prihvatljive zamjene za invazivna mjerenja.

5.2. Studija II

Najvažniji nalazi u ovoj opservacijskoj studiji su sljedeći: a) prevalencija PFO-a u CHF bolesnika bila je ~30%, što je slično kao i u skupini, po dobi i spolu usklađenih, zdravih kontrolnih ispitanika; b) arterijska hipoksemija, definirana kao $\text{SaO}_2 < 95\%$, bila je prisutna samo kod CHF PH+ bolesnika s PFO-om, što govori u prilog da PFO može može doprinijeti arterijskoj hipoksemiji u mirovanju u ovoj skupini CHF bolesnika.

5.2.1. PFO i arterijska hipoksemija

U prethodno publiciranim radovima, koji su se bavili istraživanjem plućne izmjene plinova u mirovanju kod bolesnika sa stabilnim kroničnim zatajivanjem, dokazano je da su plinovi u krvi i većina podataka dobivenih tehnikom uklanjanja višestrukih inertnih plinova uobičajeno unutar očekivanih referentnih vrijednosti (69). Štoviše, u ovim studijama se sugerira da je primarni uzrok patoloških nalaza, koji se odnose na uspješnost plućne izmjene plinova, ograničenje difuzije uzrokovano plućnom kongestijom ili plućnim edemom. Međutim, u ovim studijama ispitanici nisu bili stratificirani u podgrupe onih sa i bez plućne hipertenzije i/ili s obzirom na prisutnost PFO-a. Dakle, nije nam poznato koliko je bolesnika koji su bili uključeni u prethodne studije imalo PFO. U ovom istraživanju ispitanici su prospektivno stratificirani u one sa i bez PFO-a, te smo otkrili da su ispitanici s prisutnim PFO-om imali nižu SaO_2 nego li ispitanici bez PFO-a. Dodatno su CHF PH+ bolesnici s prisutnim PFO-om imali arterijsku hipoksemiju u mirovanju, što nije bio slučaj kod CHF PH+ bolesnika bez prisutnog PFO-a, niti kod CHF PH- bolesnika. Dakle, iako svi CHF bolesnici mogu imati neki stupanj ventilacijsko-perfuzijske nepodudarnosti i/ili ograničenja difuzije zbog plućnog zastoja/edema, samo je jedna skupina bolesnika, preciznije, oni s prisutnim PFO-om i plućnom hipertenzijom, imala arterijsku hipoksemiju.

Prevalencija PFO-a u općoj populaciji je između 25 i 40% (23, 32, 57, 97). U našoj studiji prevalencija PFO-a u CHF bolesnika je bila slična (~30%) kao u općoj populaciji. Inače, povećani tlak u desnoj pretkljetki moguće može olakšati protok krvi kroz PFO zahvaljujući anatomske konfiguraciji *septuma primuma* koji se pritiskom otvori u lijevu pretkljetku kada tlak u desnoj pretkljetki premaši tlak u lijevoj pretkljetki. U CHF PH+ bolesnika Drazner i sur. su objavili da je tlak u desnoj pretkljetki ~ 12 mmHg (17). U našoj studiji kod CHF PH+ bolesnika prosječni tlak u desnoj pretkljetki bio je ~ 10-11 mmHg, dok je kod CHF PH- bolesnika bio samo ~ 6 mmHg. Ovim povećanim tlakom u desnom srcu kod CHF PH+ PFO+ bolesnika može se objasniti zašto je učinak PFO-a na arterijsku hipoksemiju veći nego li kod CHF PH- PFO+ bolesnika. Sukladno ovome, naši podatci sugeriraju da je protok krvi kroz PFO značajan kod velikog broja CHF PH+ PFO+ bolesnika, što može uzrokovati arterijsku hipoksemiju u ovoj grupi.

U ovoj studiji smo pronašli da je SaO₂ niži i kod CHF PH+ i PH- bolesnika s PFO-om u odnosu na bolesnike bez PFO-a. Jedan od mogućih čimbenika koji su pridonijeli značajnom smanjenju SaO₂ u CHF bolesnika s prisutnim PFO-om je, kako je dokazano prethodno, da ispitanici s PFO-om imaju višu unutarnju temperaturu koja uzrokuje pomak disocijacijske krivulje hemoglobin-kisik udesno (15, 50). Međutim, u našoj studiji CHF bolesnicima nismo mjerili unutarnju temperaturu da bismo potvrdili da upravo ovo doprinosi zapaženoj razlici.

5.2.2. Protok krvi kroz IPAVA-e u CHF bolesnika

Norris i sur. su dokazali da je protok krvi kroz IPAVA-e snižen kod, kako su subklasificirali, zdravih starijih ispitanika (>50 godina) u odnosu na mlađe ispitanike (≤41 godina), s prevalencijom protoka krvi kroz IPAVA ~ 8% kod starijih u odnosu na ~ 30% kod mladih ispitanika (62). Sukladno navedenim rezultatima i u našoj studiji smo dokazali minimalan protok kroz IPAVA-e (~ 7%) u CHF bolesnika čija je dob bila ~ 67 godina. Stoga, sagledavši obje studije, čini se da postoji dobno vezano smanjenje protoka krvi kroz IPAVA-e, u obje skupine starijih, kako zdravih tako i CHF bolesnika. Očekivali smo da će visoki plućni tlakovi kod CHF bolesnika s PH povećati protok krvi kroz IPAVA, ukoliko je isti ovisan o visokim tlakovima u plućima. Međutim, Elliott i sur. (22) su dokazali da je povećani srčani minutni volumen, neovisno o povećanom tlaku u plućnoj arteriji, potreban za otvaranje i novačenje IPAVA kod zdravih mladih ispitanika. Uzeti zajedno, prethodni i trenutni rezultati izneseni ovdje, govore u prilog da je protok krvi kroz IPAVA smanjen u starijih ispitanika te da povišeni tlak u plućnoj arteriji ne uzrokuje otvaranje i novačenje IPAVA u ovoj populaciji bolesnika. Prema tome, s obzirom da je protok krvi kroz IPAVA-e (desno-lijevi šant) ili malen (beznačajan) ili nije prisutan, nije za očekivati da bi mogao biti značajno uključen u reguliranje plućne izmjene plinova u starijih CHF bolesnika. Unatoč tome, za sada nije poznato ima

li kakvu ulogu protok krvi kroz IPAVA-e u određivanju uspješnosti plućne izmjene plinova u mlađih CHF bolesnika, posebno onih s plućnom hipertenzijom.

5.2.3. Transkranijski dopler i detekcija protoka krvi kroz PFO i IPAVA-e

Za detekciju protoka krvi kroz PFO i IPAVA-e kod CHF bolesnika koristili smo tehniku transtorakalne kontrastne ehokardiografije, dok smo istodobno koristili i TCD za kvantifikaciju apsolutnog broja mjehurića (tj. mikroembolusa) koje smo detektirali u cerebralnoj cirkulaciji. Otkrili smo da, kada bi bio detektiran značajan desno-lijevi šant tehnikom transtorakalne kontrastne ehokardiografije, isto bi bilo potvrđeno i TCD-om. Konkretno, kada bi bio utvrđen stupanj mjehurića ≤ 2 transtorakalnom kontrastnom ehokardiografijom (≤ 12 mikroembolijskih signala TCD-om), TCD-om bi bilo detektirano 0-5 mikroembolijskih signala. Kod ispitanika, koji su imali stupanj mjehurića 3 detektiran transtorakalnom ehokardiografijom, TCD-om je detektirano ~ 18 do 41 mikroembolijski signal u cerebralnoj cirkulaciji, dok je za stupanj 4 detektirano ~ 60 do 120 mikroembolijskih signala. Stoga, obje metode mogu biti korisne u detekciji protoka kroz IPAVA ili PFO u CHF bolesnika s ciljem da se odredi je li prisutnost arterijske hipoksemije povezana s protokom kroz PFO i/ili IPAVA, s obzirom da podatci dobiveni TCD-om pokazuju da nije bilo preklapanja u kvantificiranju mikroembolijskih signala. Dodatno, uporabu TCD-a, u studijama u kojima je korištenje transtorakalne kontrastne ehokardiografije nepodobno ili nije moguće, podupiru naši, kao i rezultati drugih istraživača (71).

5.2.4. Ograničenja

Osnovno ograničenje ove studije je da je ona opservacijska i zbog toga povezanost protoka krvi kroz PFO s arterijskom hipoksemijom u CHF bolesnika ne podrazumijeva i uzročnu povezanost. Buduće intervencijske studije učinjene na CHF bolesnicima, kojima će se uraditi zatvaranje PFO-a, su potrebne da se utvrdi uzročna povezanost. Dodatno ograničenje ove studije je da je plućna hipertenzija određivana ehosonografski na temelju smjernica ESC/ERS društva (27). Ovakva mjerenja mogla su podcijeniti ili precijeniti vršnu TRV. Međutim, prilikom svakog mjerenja/procjene tlakova u plućnoj arteriji davali smo maleni bolus mjehurića 0,1 mL zraka izmješanog s 1 mL fiziološke otopine u kubitalnu venu čime smo značajno poboljšavali/pojačavali signal trikuspidne regurgiracije (kako je prethodno opisano) s ciljem da dobijemo što točnije podatke TRV-a. Dodatno, na razlike mjerene u PASP-u među grupama mogla je utjecati viskoznost krvi. Obzirom da u ovoj studiji nismo određivali hematokrit, dobivene rezultate ne možemo korigirati prema viskoznosti (37). Međutim, među grupama nije zabilježena statistički značajna razlika u razini hemoglobina, što sugerira da nije za očekivati da je viskoznost krvi među grupama

bila značajno različita. Još jedno ograničenje ove studije je da su P_{RA} i PASP određivani neinvazivno, što je moglo rezultirati podcijenjivanjem ili precijenjivanjem plućnih tlakova kod nekih ispitanika. Unatoč tomu, naša stratifikacija CHF bolesnika otkrila je značajan učinak povećanog PASP-a na arterijsku hipoksemiju samo kod bolesnika s PFO-om, što govori u prilog tome da su naša mjerenja P_{RA} i PASP vjerodostojna. Uz to, naša mjerenja P_{RA} su usporediva s rezultatima drugih (17).

U ovoj studiji nismo imali podatke o rentgenogramu srca i pluća i/ili kompjutorizirane tomografije za potrebe određivanja prisutnosti plućne kongestije ili plućnog edema, kao ni podatke o difuzijskom kapacitetu pluća. Moguće je da su razlike u plućnoj kongestiji ili edemu, što može utjecati na difuzijski kapacitet, pridonijele verificiranoj arterijskoj hipoksemiji u CHF PH+ bolesnika s PFO-om i nižoj SaO_2 u CHF PH- PFO+ bolesnika. Dodatno ograničenje ove studije je što nismo mjerili udio desno-lijevog šanta što bi moglo pomoći potvrditi dobivena mjerenja SaO_2 . Unatoč tome, mjerili smo statistički značajnu razliku u SaO_2 kod CHF bolesnika s PFO-om u odnosu na one bez PFO-a, što sugerira da je udio desno-lijevog šanta moguće veći u onih s prisutnim PFO-om.

CHF bolesnici u prezentiranoj studiji uzimali su različite skupine lijekove, uključujući β -blokatore. Naša grupa je prethodno dokazala da hipoksijom inducirano šantiranje kroz IPAVA-e nije pod utjecajem β -blokatora kada su razlike u srčanom minutnom volumenu malene (43). Inače, podvostručenje srčanog minutnog volumena infuzijom kateholamina može povećati protok krvi kroz IPAVA kod ispitanika bez PFO-a (22). Dakle, potreban je značajan porast u srčanom minutnom volumenu da se prouzroči protok kroz IPAVA, te zbog toga smatramo da β -blokatori imaju minimalan utjecaj na protok krvi kroz IPAVA u ispitanika koji miruju. Čak i kod hipoksemičnih bolesnika za očekivati je da β -blokatori imaju minimalan utjecaj na protok krvi kroz IPAVA-e, s obzirom da smo u prethodnim studijama dokazali da na ovaj protok nemaju učinka u hipoksemičnih zdravih ispitanika (43). Ipak, u ovoj studiji je dokazana signifikantna povezanost između protoka krvi kroz PFO i srčanog minutnog volumena. Upravo zbog ovoga, lijekovi poput β -blokatora, koji imaju potencijal utjecati na srčani minutni volumen, moguće mogu utjecati na ovu povezanost.

6. ZAKLJUČCI

Studija I

- Nitroglicerina, noradrenalin i aminofilin primijenjeni u ranije spomenutim dozama nemaju utjecaja na otvaranje i novačenje IPAVA, krvnih žila velikog promjera, kako direktnim (putem receptora) tako niti indirektnim (putem povećanja tlaka ili protoka) učinkom.
- Unatoč njihovim različitim vazoaktivnim i hemodinamskim učincima, nijedan od lijekova nije uzrokovao značajan porast srčanog minutnog volumena i/ili sistoličkog tlaka u plućnoj arteriji stimulusa ranije dokazanih da pasivno otvaraju i novače IPAVA.
- Primjena ovih lijekova, u navedenim dozama, ne otvara mogući put za sistemsku embolizaciju vitalnih organa (mozak, srce, bubrezi itd).

Studija II

- Prevalencija PFO-a u CHF bolesnika bila je ~30% što je slično kao i u općoj populaciji.
- Arterijska hipoksemija, definirana kao $SaO_2 < 95\%$, bila je prisutna samo kod CHF PH+ bolesnika s PFO-om, što govori u prilog da PFO može doprinijeti arterijskoj hipoksemiji u mirovanju u ovoj skupini CHF bolesnika.
- Protok krvi kroz IPAVA-e nije bio prisutan ili je bio beznačajan u CHF bolesnika, čak i kod onih s plućnom hipertenzijom, što znači da protok krvi kroz IPAVA nije pod utjecajem povećanog tlaka u plućnoj arteriji te da isti ne pridonosi arterijskoj hipoksemiji kod ovih bolesnika.
- Dokazali smo izvrsnu podudarnost opažanja i kvantificiranja desno-lijevog šanta (protok krvi kroz IPAVA-e i/ili PFO) transtorakalnom kontrastnom ehokardiografijom i transkranijalnim doplerom. Dakle, obje metode mogu poslužiti za istu svrhu što je osobito značajno kada izvođenje jedne od njih nije podobno ili nije moguće.
- Podatci dobiveni u ovoj studiji, kao i prethodno publicirani, dokazuju da starenje negativno utječe na IPAVA-e, što podrazumijeva da se sa povećanjem životne dobi protok krvi kroz IPAVA-e značajno smanjuje.

7. LITERATURA

1. **Aviasdo D, Daly M, Lee C, and Schmidt C.** The contribution of the bronchial circulation to the venous admixture in pulmonary venous blood. *J Physiol (Lond)* 155: 602-622, 1961.
2. **Bates ML, Fulmer BR, Farrell ET, Drezdon A, Pegelow DF, Conhaim RL, and Eldridge MW.** Hypoxia recruits intrapulmonary arteriovenous pathways in intact rats but not isolated rat lungs. *J Appl Physiol* 112: 1915-1920, 2012.
3. **Berger RM, Geiger R, Hess J, Bogers AJ, and Mooi WJ.** Altered arterial expression patterns of inducible and endothelial nitric oxide synthase in pulmonary plexogenic arteriopathy caused by congenital heart disease. *Am J Respir Crit Care Med* 163: 1493-1499, 2001.
4. **Bryan TL, van Diepen S, Bhutani M, Shanks M, Welsh RC, and Stickland MK.** The effects of dobutamine and dopamine on intrapulmonary shunt and gas exchange in healthy humans. *J Appl Physiol* 113: 541-548, 2012.
5. **Bunton D, MacDonald A, Brown T, Tracey A, McGrath JC, and Shaw AM.** 5-hydroxytryptamine- and U46619-mediated vasoconstriction in bovine pulmonary conventional and supernumerary arteries: effect of endogenous nitric oxide. *Clin Sci* 98: 81-89, 2000.
6. **Burrowes KS, Hunter PJ, and Tawhai MH.** Anatomically based finite element models of the human pulmonary arterial and venous trees including supernumerary vessels. *J Appl Physiol* 99: 731-738, 2005.
7. **Butler BD, and Hills BA.** The lung as a filter for microbubbles. *J Appl Physiol Respi Environ Exerc Physiol* 47: 537-543, 1979.
8. **Cameron Norris H, Mangum TS, Duke JW, Straley TB, Hawn JA, Goodman RD, and Lovering AT.** Exercise- and hypoxia-induced blood flow through intrapulmonary arteriovenous anastomoses is reduced in older adults. *J Appl Physiol* 116: 1324-1333, 2014.
9. **Chan KL, Currie PJ, Seward JB, Hagler DJ, Mair DD, and Tajik AJ.** Comparison of three Doppler ultrasound methods in the prediction of pulmonary artery pressure. *J Am Coll Cardiol* 9: 549-554, 1987.
10. **Cheney FW, Pavlin J, Ferens J, and Allen D.** Effect of pulmonary microembolism on arteriovenous shunt flow. *J Thorac Cardiovasc Surg* 76: 473-478, 1978.
11. **Clara M.** Die Arterio-Venosen Anastomosen. Leipzig: J.A. Barth, 1939.
12. **Cudkowicz L.** Effect of l-norepinephrine on left ventricular diastolic pressures in man. *Thorax* 23: 63-68, 1968.

13. **Currie PJ, Seward JB, Chan KL, Fyfe DA, Hagler DJ, Mair DD, Reeder GS, Nishimura RA, and Tajik AJ.** Continuous wave Doppler determination of right ventricular pressure: a simultaneous Doppler-catheterization study in 127 patients. *J Am Coll Cardiol* 6: 750-756, 1985.
14. **Dallinger S, Dorner GT, Wenzel R, Graselli U, Findl O, Eichler HG, Wolzt M, and Schmetterer L.** Endothelin-1 contributes to hyperoxia-induced vasoconstriction in the human retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41: 864-869, 2000.
15. **Davis JT, Ng CY, Hill SD, Padgett RC, and Lovering AT.** Higher oesophageal temperature at rest and during exercise in humans with patent foramen ovale. *J Physiol* 593: 4615–4630, 2015.
16. **Di Tullio M, Sacco RL, Venketasubramanian N, Sherman D, Mohr JP, and Homma S.** Comparison of diagnostic techniques for the detection of a patent foramen ovale in stroke patients. *Stroke* 24: 1020-1024, 1993.
17. **Drazner MH, Brown RN, Kaiser PA, Cabuay B, Lewis NP, Semigran MJ, Torre-Amione G, Naftel DC, and Kirklin JK.** Relationship of right- and left-sided filling pressures in patients with advanced heart failure: a 14-year multi institutional analysis. *J Heart Lung Transplant* 31: 67–72, 2012.
18. **Dumont L, Lamoureux C, Lelorier J, Stanley P, and Chartrand C.** Hypotension and arteriovenous shunting: effects of intravenous infusion of nitroprusside, nitroglycerin and phentolamine. *Angiology* 35: 88-96, 1984.
19. **Eldridge MW, Dempsey JA, Haverkamp HC, Lovering AT, and Hokanson JS.** Exercise-induced intrapulmonary arteriovenous shunting in healthy humans. *J Appl Physiol* 97: 797-805, 2004.
20. **Elkayam U, Ng TMH, Hatamizadeh P, Janmohamed M, and Mehra A.** Renal Vasodilatory Action of Dopamine in Patients With Heart Failure: Magnitude of Effect and Site of Action. *Circulation* 117: 200-205, 2008.
21. **Elliott JE, Choi Y, Laurie SS, Yang X, Gladstone IM, and Lovering AT.** Effect of initial gas bubble composition on detection of inducible intrapulmonary arteriovenous shunt during exercise in normoxia, hypoxia, or hyperoxia. *J Appl Physiol* 110: 35-45, 2011.
22. **Elliott JE, Duke JW, Hawn JA, Halliwill JR & Lovering AT.** Increased cardiac output, not pulmonary artery systolic pressure, increases intrapulmonary shunt in healthy humans breathing room air and 40% O₂. *J Physiol* 592: 4537–4553, 2014.

- 23. Elliott JE, Nigam SM, Laurie SS, Beasley KM, Goodman RD, Hawn JA, Gladstone IM, Chesnutt MS, and Lovering AT.** Prevalence of left heart contrast in healthy, young, asymptomatic humans at rest breathing room air. *Respir Physiol Neurobiol* 188: 71-78, 2013.
- 24. Elliott FM, and Reid L.** Some new facts about the pulmonary artery and its branching pattern. *Clin Radiol* 16: 193-198, 1965.
- 25. Farquhar H, Fracp MW, Mbbs MW, Fracp KP, Mbchb AR, Fracp MS, and Dsc RB.** Systematic review of studies of the effect of hyperoxia on coronary blood flow. *Am Heart J* 158: 371-377, 2009.
- 26. Fay FS.** Guinea pig ductus arteriosus. I. Cellular and metabolic basis for oxygen sensitivity. *Am J Physiol* 221: 470-479, 1971.
- 27. Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, Simonneau G, Peacock A, Vonk Noordegraaf A, Beghetti M, Ghofrani A, Gomez Sanchez MA, Hansmann G, Klepetko W, Lancellotti P, Matucci M, McDonagh T, Pierard LA, Trindade PT, Zompatori M, Hoeper M, Aboyans V, Vaz Carneiro A, Achenbach S, Agewall S, Allanore Y, Asteggiano R, Paolo Badano L, Albert Barberà J, Bouvaist H, Bueno H, Byrne RA, Carerj S, Castro G, Erol Ç, Falk V, Funck-Brentano C, Gorenflo M, Granton J, Iung B, Kiely DG, Kirchhof P, Kjellstrom B, Landmesser U, Lekakis J, Lionis C, Lip GY, Orfanos SE, Park MH, Piepoli MF, Ponikowski P, Revel MP, Rigau D, Rosenkranz S, Völler H, and Luis Zamorano J.** 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J* 37: 67-119, 2016.
- 28. Geiger R, Berger RM, Hess J, Bogers AJ, Sharma HS, and Mooi WJ.** Enhanced expression of vascular endothelial growth factor in pulmonary plexogenic arteriopathy due to congenital heart disease. *J Pathol* 191: 202-207, 2000.
- 29. Gisolf J, Westerhof BE, van Dijk N, Wesseling KH, Wieling W, Karemaker JM.** Sublingual nitroglycerin used in routine tilt testing provokes a cardiac output-mediated vasovagal response. *J Am Coll Cardiol* 44: 588-593, 2004.
- 30. Glazier JB, Hughes JM, Maloney JE, and West JB.** Measurements of capillary dimensions and blood volume in rapidly frozen lungs. *J Appl Physiol* 26: 65-76, 1969.

- 31. Groves BM, Reeves JT, Sutton JR, Wagner PD, Cymerman A, Malconian MK, Rock PB, Young PM, and Houston CS.** Operation Everest II: elevated high altitude pulmonary resistance unresponsive to oxygen. *J Appl Physiol* 63: 521-530, 1987.
- 32. Hagen PT, Scholz DG, and Edwards WD.** Incidence and size of patent foramen ovale during the first 10 decades of life: an autopsy study of 965 normal hearts. *Mayo Clin Proc* 59: 17-20, 1984.
- 33. Hakim TS, Lisbona R, and Dean GW.** Gravity-independent inequality in pulmonary blood flow in humans. *J Appl Physiol* 63: 1114-1121, 1987.
- 34. Haque WA, Boehmer J, Clemson BS, Leuenberger UA, Silber DH, and Sinoway LI.** Hemodynamic effects of supplemental oxygen administration in congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 27: 353-357, 1996.
- 35. Higgins RD, Hendricks-Munoz KD, Caines VV, Gerrets RP, and Rifkin DB.** Hyperoxia stimulates endothelin-1 secretion from endothelial cells; modulation by captopril and nifedipine. *Curr Eye Res* 17: 487-493, 1998.
- 36. Himelman RB, Stulbarg M, Kircher B, Lee E, Kee L, Dean NC, Golden J, Wolfe CL, and Schiller NB.** Noninvasive evaluation of pulmonary artery pressure during exercise by saline-enhanced Doppler echocardiography in chronic pulmonary disease. *Circulation* 79: 863-871, 1989.
- 37. Hoffman JI.** Pulmonary vascular resistance and viscosity: the forgotten factor. *Pediatr Cardiol* 32: 557-561, 2011.
- 38. Hopkins SR, Olfert IM, and Wagner PD.** Point: Exercise-induced intrapulmonary shunting is imaginary. *J Appl Physiol* 107: 993-994, 2009.
- 39. Imhof PR, Sieber A, Hodler J, Müller P, Ott B, Fankhauser P, Chu LC, and Gérardin A.** Plasma concentrations and haemodynamic effects of nitroglycerin during and after intravenous infusion in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 23: 99-106, 1982.
- 40. Jones RS, and Meade F.** A theoretical and experimental analysis of anomalies in the estimation of pulmonary diffusing capacity by the single breath method. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci* 46: 131-143, 1961.
- 41. Kennedy JM, Foster GE, Koehle MS, Potts JE, Sandor GG, Potts MT, Houghton KM, Henderson WR, and Sheel AW.** Exercise-induced intrapulmonary arteriovenous shunt in healthy women. *Respir Physiol Neurobiol* 181: 8-13, 2012.
- 42. Lampard JG, and Lang E.** Vasopressors for hypotensive shock. *Ann Emerg Med* 61: 351-352, 2013.

43. **Laurie SS, Elliott JE, Goodman RD, and Lovering AT.** Catecholamine-induced opening of intrapulmonary arteriovenous anastomoses in healthy humans at rest. *J Appl Physiol* 113: 1213-22, 2012.
44. **Laurie SS, Yang X, Elliott JE, Beasley KM, and Lovering AT.** Hypoxia-induced intrapulmonary arteriovenous shunting at rest in healthy humans. *J Appl Physiol* 109: 1072-1079, 2010.
45. **Lendrum B, Kondo B, and Katz LN.** The role of thebesian drainage in the dynamics of coronary flow. *Am J Physiol* 143: 243-246, 1945.
46. **Lovering AT, Eldridge MW, and Stickland MK.** Counterpoint: Exercise induced intrapulmonary shunting is real. *J Appl Physiol* 107: 994-997, 2009.
47. **Lovering AT, and Goodman RD.** Detection of Intracardiac and Intrapulmonary Shunts at Rest and During Exercise Using Saline Contrast Echocardiography, in: Ainslie, P. (Ed.), Applied Aspects of Ultrasonography in Humans. InTech, Rijeka, pp. 159-174, 2012.
48. **Lovering AT, Haverkamp HC, Romer LM, Hokanson JS, Eldridge MW.** Transpulmonary passage of ^{99m}Tc macroaggregated albumin in healthy humans at rest and during maximal exercise. *J Appl Physiol* 106: 1986-1992, 2009.
49. **Lovering A, Romer L, Haverkamp H, Pegelow D, Hokanson J, and Eldridge MW.** Intrapulmonary shunting and pulmonary gas exchange during normoxic and hypoxic exercise in healthy humans. *J Appl Physiol* 104: 1418-1425, 2008.
50. **Lovering AT, Stickland MK, Amann MK, O'Brien MJ, Hokanson JS, and Eldridge MW.** Effect of a patent foramen ovale on pulmonary gas exchange efficiency at rest and during exercise. *J Appl Physiol* 2011.
51. **Lovering AT, Stickland MK, Amann M, Murphy JC, O'brien MJ, Hokanson JS, and Eldridge MW.** Hyperoxia prevents exercise-induced intrapulmonary arteriovenous shunt in healthy humans. *J Physiol (Lond)* 586: 4559-4565, 2008.
52. **Lovering AT, Stickland MK, Kelso AJ, and Eldridge MW.** Direct demonstration of 25- and 50-micron arteriovenous pathways in healthy human and baboon lungs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292: H1777-1781, 2007.
53. **Madden D, Lozo M, Dujic Z, and Ljubkovic M.** Exercise after SCUBA diving increases the incidence of arterial gas embolism. *J Appl Physiol (1985)* 115: 716-22, 2013.

- 54. Madden JA, Dawson CA, and Harder DR.** Hypoxia-induced activation in small isolated pulmonary arteries from the cat. *J Appl Physiol* 59: 113-118, 1985.
- 55. Madden JA, Vadula MS, and Kurup VP.** Effects of hypoxia and other vasoactive agents on pulmonary and cerebral artery smooth muscle cells. *Am J Physiol* 263: L384-393, 1992.
- 56. Maestri R, Pinna GD, Robbi E, Capomolla S, and La Rovere MT.** Noninvasive measurement of blood pressure variability: accuracy of the Finometer monitor and comparison with the Finapres device. *Physiol Meas* 26: 1125-1136, 2005.
- 57. Marriott K, Manins V, Forshaw A, Wright J, and Pascoe R.** Detection of right-to-left atrial communication using agitated saline contrast imaging: experience with 1162 patients and recommendations for echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 26: 96–102, 2013.
- 58. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Crapo R, Enright P, van der Grinten CPM, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Navajas D, Pedersen OF, Pellegrino R, Viegi G, Wanger J, and Force AE.** Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 26: 319-338, 2005.
- 59. Motley HL, Cournand A, Werko L, Himmelstein A, and Dresdale D.** The influence of short periods of induced acute anoxia upon pulmonary artery pressures in man. *Am J Physiol* 150: 315-320, 1947.
- 60. Muneyuki M, Urabe N, Kato H, Shirai K, Ueda Y, and Inamoto A.** The effects of catecholamines on arterial oxygen tension and pulmonary shunting during the postoperative period in man. *Anesthesiology* 34: 356-364, 1971.
- 61. Niden A, and Aviado D.** Effects of pulmonary embolism on the pulmonary circulation with special reference to arteriovenous shunts in the lung. *Circ Res* 4: 67-73, 1956.
- 62. Norris HC, Mangum TS, Duke JW, Straley TB, Hawn JA, Goodman RD, and Lovering AT.** Exercise- and hypoxia-induced blood flow through intrapulmonary arteriovenous anastomoses is reduced in older adults. *J Appl Physiol* 116: 1324–1333, 2014.
- 63. Norris HC, Mangum TS, Kern JP, Elliott JE, Beasley KM, Goodman RD, Mladinov S, Barak OF, Bakovic D, Dujic Z, Lovering AT.** Intrapulmonary arteriovenous anastomoses in humans with chronic obstructive pulmonary disease: implications for cryptogenic stroke? *Exp Physiol* 101: 1128-42, 2016.
- 64. Ogilvie RI.** Clinical pharmacokinetics of theophylline. *Clin Pharmacokinet* 3: 267-293, 1978.

- 65. Prinzmetal M, Ornitz EM, Simkin B, and Bergman HC.** Arterio-venous anastomoses in liver, spleen, and lungs. *Am J Physiol* 152: 48-52, 1948.
- 66. Prinzmetal M, Simkin B, Bergman HC, and Kruger HE.** Studies on the coronary circulation; the collateral circulation of the normal human heart by coronary perfusion with radioactive erythrocytes and glass spheres. *Am Heart J* 33: 420-442, 1947.
- 67. Rahn H, Stroud RC, and Tobin CE.** Visualization of arterio-venous shunts by cinefluorography in the lungs of normal dogs. *Proc Soc Exp Biol Med* 80: 239-241, 1952.
- 68. Reeves JT, Moon RE, Grover RF, and Groves BM.** Increased wedge pressure facilitates decreased lung vascular resistance during upright exercise. *Chest* 93: 97S-99S, 1988.
- 69. Robertson HT.** Gas exchange consequences of left heart failure. *Compr Physiol* 1: 621-634, 2011.
- 70. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K, Solomon SD, Louie EK, and Schiller NB.** Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 23: 685-713, 2010.
- 71. Shaikh ZF, Kelly JL, Shrikrishna D, de Villa M, Mullen MJ, Hopkinson NS, Morrell MJ, and Polkey MI.** Patent foramen ovale is not associated with hypoxemia in severe chronic obstructive pulmonary disease and does not impair exercise performance. *Am J Respir Crit Care Med* 189: 540–547, 2014.
- 72. Shaw AM, Bunton DC, Brown T, Irvine J, and MacDonald A.** Regulation of sensitivity to 5-hydroxytryptamine in pulmonary supernumerary but not conventional arteries by a 5-HT(1D)-like receptor. *Eur J Pharmacol* 408: 69-82, 2000.
- 73. Shaw AM, Bunton DC, Fisher A, McGrath JC, Montgomery I, Daly C, and MacDonald A.** V-shaped cushion at the origin of bovine pulmonary supernumerary arteries: structure and putative function. *J Appl Physiol* 87: 2348-2356, 1999.
- 74. Siggaard-Andersen O, and Huch R.** The oxygen status of fetal blood. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl* 107: 129-135, 1995.
- 75. Siostrzonek P, Lang W, Zangeneh M, Gössinger H, Stümpflen A, Rosenmayr G, Heinz G, Schwarz M, Zeiler K, and Mösslacher H.** Significance of left-sided heart disease for the

detection of patent foramen ovale by transesophageal contrast echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 19: 1192-1196, 1992.

76. Stenmark KR, and Abman SH. Lung vascular development: Implications for the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Annu Rev Physiol* 67: 623-661, 2005.

77. Stickland MK, and Lovering AT. Exercise-induced intrapulmonary arteriovenous shunting and pulmonary gas exchange. *Exerc Sport Sci Rev* 34: 99-106, 2006.

78. Stickland MK, Lovering AT, and Eldridge MW. Exercise-induced arteriovenous intrapulmonary shunting in canines. *Am J Respir Crit Care Med* 176: 300-305, 2007.

79. Stickland MK, Welsh RC, Haykowsky MJ, Petersen SR, Anderson WD, Taylor DA, Bouffard M, and Jones RL. Intra-pulmonary shunt and pulmonary gas exchange during exercise in humans. *J Physiol (Lond)* 561: 321-329, 2004.

80. Sylvester JT, Shimoda LA, Aaronson PI, and Ward JPT. Hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Physiol Rev* 92: 367-520, 2012.

81. Takagi C, King GL, Takagi H, Lin YW, Clermont AC, and Bursell SE. Endothelin-1 action via endothelin receptors is a primary mechanism modulating retinal circulatory response to hyperoxia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 37: 2099-2109, 1996.

82. Tobin CE. Arteriovenous shunts in the peripheral pulmonary circulation in the human lung. *Thorax* 21:197-204, 1966.

83. Tobin CE. The bronchial arteries and their connections with other vessels in the human lung. *Surg Gynecol Obstet* 95: 741-750, 1952.

84. Tobin CE, and Zariquiey M. Arteriovenous shunts in the human lung. *Proc Soc Exp Biol Med* 75: 827-829, 1950.

85. Torre-Bueno JR, Wagner PD, Saltzman HA, Gale GE, and Moon RE. Diffusion limitation in normal humans during exercise at sea level and simulated altitude. *J Appl Physiol* 58: 989-995, 1985.

86. Tracey A, Bunton D, Irvine J, MacDonald A, and Shaw AM. Relaxation to bradykinin in bovine pulmonary supernumerary arteries can be mediated by both a nitric oxide-dependent and -independent mechanism. *Br J Pharmacol* 137: 538-544, 2002.

87. Tracey A, MacDonald A, and Shaw AM. Involvement of gap junctions in bradykinin-induced relaxation of bovine pulmonary supernumerary arteries before and after inhibition of nitric oxide/guanylate cyclase. *Clin Sci* 103: 553-557, 2002.

- 88. Tristani-Firouzi M, Reeve HL, Tolarova S, Weir EK, and Archer SL.** Oxygen-induced constriction of rabbit ductus arteriosus occurs via inhibition of a 4-aminopyridine-, voltage-sensitive potassium channel. *J Clin Invest* 98: 1959-1965, 1996.
- 89. Vestal RE, Eiriksson CE Jr, Musser B, Ozaki LK, and Halter JB.** Effect of intravenous aminophylline on plasma levels of catecholamines and related cardiovascular and metabolic responses in man. *Circulation* 67: 162-171, 1983.
- 90. Vik A, Jenssen BM, Brubakk AO.** Effect of aminophylline on transpulmonary passage of venous air emboli in pigs. *J Appl Physiol* 71:1780-6, 1991.
- 91. von Euler U, and Liljestrand G.** Observations on the pulmonary arterial blood pressure in the cat. *Acta Physiol Scand* 12: 301-320, 1946.
- 92. Wagner PD.** Diffusion and chemical reaction in pulmonary gas exchange. *Physiol Rev* 57: 257-312, 1977.
- 93. Wagner PD, Gale GE, Moon RE, Torre-Bueno JR, Stolp BW, and Saltzman HA.** Pulmonary gas exchange in humans exercising at sea level and simulated altitude. *J Appl Physiol* 61: 260-270, 1986.
- 94. Wesseling KH, Jansen JR, Settels JJ, and Schreuder JJ.** Computation of aortic flow from pressure in humans using a nonlinear, three-element model. *J Appl Physiol* 74: 2566–2573, 1993.
- 95. Whyte MK, Peters AM, Hughes JM, Henderson BL, Bellingan GJ, Jackson JE, and Chilvers ER.** Quantification of right to left shunt at rest and during exercise in patients with pulmonary arteriovenous malformations. *Thorax* 47: 790-796, 1992.
- 96. Willie CK, Colino FL, Bailey DM, Tzeng YC, Binsted G, Jones LW, Haykowsky MJ, Bellapart J, Ogoh S, Smith KJ, Smirl JD, Day TA, Lucas SJ, Eller LK, and Ainslie PN.** Utility of transcranial Doppler ultrasound for the integrative assessment of cerebrovascular function. *J Neurosci Methods* 196: 221–237, 2011.
- 97. Woods TD, Harmann L, Purath T, Ramamurthy S, Subramanian S, Jackson S & Tarima S.** Small- and moderate-size right-to-left shunts identified by saline contrast echocardiography are normal and unrelated to migraine headache. *Chest* 138: 264–269, 2010.
- 98. Woods TD, and Patel A.** A critical review of patent foramen ovale detection using saline contrast echocardiography: when bubbles lie. *J Am Soc Echocardiogr* 19: 215-222, 2006.

- 99. Yaginuma G, Mohri H, and Takahashi T.** Distribution of arterial lesions and collateral pathways in the pulmonary hypertension of congenital heart disease: a computer aided reconstruction study. *Thorax* 45: 586-590, 1990.
- 100. Zhu Y, Park TS, and Gidday JM.** Mechanisms of hyperoxia-induced reductions in retinal blood flow in newborn pig. *Exp Eye Res* 67: 357-369, 1998.

8. SAŽETAK

IPAVA su krvne žile velikog promjera 15-500 μm (čak i do 1000 μm), prisutne u >95% zdravih osoba, dok je PFO prisutan u ~ 1/3 opće populacije i oboje predstavljaju mogući izvor desno-lijevog šanta.

U Studiji I smo istražili učinak nitroglicerina, noradrenalina i aminofilina na otvaranje i novačenje intrapulmonalnih arteriovenskih anastomoza u zdravih ispitanika u mirovanju. Ovi lijekovi primijenjeni u ranije navednim dozama nisu imali učinka na filtrirajuću sposobnost pluća u zdravih ljudi u mirovanju. Čini se da ovi lijekovi nemaju utjecaja na otvaranje i novačenje IPAVA, krvnih žila velikog promjera, kako direktnim (putem receptora) tako niti indirektnim (putem povećanja tlaka ili protoka) učinkom. Unatoč njihovim različitim vazoaktivnim i hemodinamskim učincima, nijedan od lijekova nije uzrokovao značajan porast srčanog minutnog volumena i/ili sistoličkog tlaka u plućnoj arteriji stimulusa ranije dokazanih da pasivno otvaraju i novače IPAVA. Naposljetku valja naglasiti da primjena ovih lijekova, u navedenim dozama, ne otvara mogući put za sistemsku embolizaciju vitalnih organa.

U Studiji II smo istražili mogući doprinos protoka krvi kroz IPAVA-e i PFO na arterijsku hipoksemiju u CHF bolesnika sa i bez plućne hipertenzije. Otkrili smo da je arterijska hipoksemija u mirovanju bila prisutna samo kod CHF PH+ bolesnika s PFO-om. S obzirom da protok krvi kroz IPAVA-e nije bio prisutan ili je bio beznačajan, čak i kod onih s plućnom hipertenzijom, zaključujemo da protok krvi kroz IPAVA-e nije pod utjecajem povećanog tlaka u plućnoj arteriji te da isti ne pridonosi arterijskoj hipoksemiji kod ovih bolesnika. Pridonosi li PFO vježbanjem induciranoj arterijskoj hipoksemiji u CHF bolesnika ostaje nepoznato. Podatci dobiveni u ovoj studiji, kao i prethodno publicirani, dokazuju da starenje negativno utječe na IPAVA-e, što podrazumijeva da se sa povećanjem životne dobi protok krvi kroz IPAVA-e značajno smanjuje. Potrebno je istražiti kakve su posljedice, ako ih ima, povezane s tim smanjenjem. Također, u ovoj studiji smo dokazali izvrsnu podudarnost detekcije i kvantificiranja desno-lijevog šanta (protok krvi kroz IPAVA-e i/ili PFO) transtorakalnom kontrastnom ehokardiografijom i transkranijalnim doplerom. Dakle, obje metode mogu poslužiti za istu svrhu, što je osobito značajno kada izvođenje jedne od njih nije podobno ili nije moguće. Kirurško/intervencijsko zatvaranje PFO-a može se uraditi zbog različitih indikacija, kao što su, npr. preboljeni ishemijski moždani udar ili tranzitorna ishemijska ataka. Međutim, s obzirom da PFO pridonosi arterijskoj hipoksemiji u CHF bolesnika s plućnom hipertenzijom, ova grupa bolesnika mogla bi profitirati od zatvaranja PFO-a s ciljem da se poboljša i oksigenacija, osobito u onih s težim stupnjem hipoksemije.

Postojanje IPAVA je poznato najmanje posljednjih 50 godina, međutim, njihova fiziološka i klinička značajnost nije do kraja istražena. Iako, trenutno predložene uloge uključuju mogućnost alternativnog puta embolima iz venskog sustava da dosegnu sistemske cirkulacije, zatim da služe kao paralelna vaskularna mreža, koja se u određenim uvjetima otvara za preusmjerenje potencijalno štetne hidrodinamske energije od krhkih plućnih kapilara čime čine desno-lijevi šant, zbog čega mogu negativno utjecati na plućnu izmjenu plinova. Proučavanje protoka krvi kroz IPAVA-e i PFO predstavlja značajno istraživačko područje s ciljem da se predložene uloge bolje odrede, zbog čega detektiranje i kvantificiranje protoka kroz IPAVA-e i PFO može postati mnogo važnije i u kliničkoj praksi.

9. SUMMARY

Title:**Opening and effects of intrapulmonary arteriovenous anastomoses and patent foramen ovale on arterial oxygenation and systemic microembolisation**

IPAVA are large diameter 15-500 μm (up to 1000 μm) vascular conduits, present in >95% of healthy humans, while PFO is present in $\sim 1/3$ of general population and both represent possible source of right to left shunt.

In Study I we investigated the effects of nitroglycerine, norepinephrine and aminophylline on opening and recruitment of intrapulmonary arteriovenous anastomoses in healthy humans at rest. We found that these drugs applied in above named doses did not seem to modify the filtering capability of the lung in healthy humans at rest which speaks in favour that drugs are not affecting the large-diameter inducible intrapulmonary arteriovenous anastomoses by direct effect on opening and recruitment of the IPAVA (*via* receptors) nor indirect (*via* increase in pressure and flow). Despite their various vasoactive and hemodynamic effects, none of the drugs caused a substantial increase in QT and/or PASP, stimuli previously shown to passively open IPAVA. Finally, application of these drugs, in named doses, does not open the pathway for systemic micro/embolization of vital organs. However, further research is needed to examine their effect on IPAVA during physical activity intensities required for ordinary daily activities or in moderate and strenuous exercise as well as in others than healthy subjects.

In Study II we examined the potential contributions of blood flow through IPAVA and PFO to arterial hypoxaemia in subjects with CHF with and without pulmonary hypertension. We found that arterial hypoxaemia at rest was present in CHF PH+ subjects with PFO. Given that blood flow through IPAVA was absent or insignificant, even in those subjects with pulmonary hypertension, we conclude that blood flow through IPAVA is not influenced by increased pulmonary pressures and does not contribute to arterial hypoxaemia in these subjects. Whether or not PFO contributes to exercise-induced arterial hypoxaemia in subjects with CHF remains unknown. Data from our study and previous data indicate that aging process may negatively affect IPAVA, assuming that blood flow through IPAVA is reduced with increasing age. We still need to investigate what consequences, if any, are associated with this decline. Also, in this study we have shown excellent correlation between detection and quantification of right to left shunt (blood flow through IPAVA and /or PFO) using transthoracic contrast echocardiography and transcranial Doppler. Thus, both methods can be used for the same purpose which is especially important when performing one of them is not suitable or possible. Surgical closure of the PFO may be undertaken for various reasons, such as history of stroke or transient ischaemic attack, yet PFO closure for this purpose remains

controversial. However, because PFO contributes to arterial hypoxaemia in subjects with CHF and pulmonary hypertension, these specific subjects may also benefit from PFO closure as an intervention to improve oxygenation, particularly in those subjects with more severe levels of hypoxaemia.

IPAVA have been known to exist for over 50 years, but their physiological and clinical significance are still being established; although, currently suggested roles for IPAVA include allowing emboli to reach the systemic circulation, also serve as a parallel vascular network that under certain conditions open to divert potentially damaging hydrodynamic energy from fragile pulmonary capillaries thus creating the right to left shunt which could adversely affect the pulmonary gas exchange. Studying blood flow through IPAVA, as well as through PFO, is an important area of research and as the suggested roles become better established, detecting and quantifying flow through IPAVA and PFO may become significantly more important in the clinic.

10. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODATCI

Ime i prezime autora: Mislav Lozo,

specijalizant kardiologije, KBC Split, Spinčićeva 1, 21000 Split, RH

Elektronička pošta: mislav.lozo@yahoo.com

Državljanstvo: hrvatsko

Datum i mjesto rođenja: 18.12.1985., Split, RH

OBRAZOVANJE

2000.-2004. Pohađao IV. Opću gimnaziju "Marko Marulić" u Splitu, sve godine položio s odličnim uspjehom te oslobođen mature.

2004.-2010. Upisao i završio studij medicine pri Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, smjer: doktor medicine, diplomirao 05.07.2010. godine s prosjekom 4.78. Za vrijeme studija radio kao asistent na katedrama fiziologije, patofiziologije te interne medicine.

2010.-2011. Odradio jednogodišnji staž u KBC Sestre Milosrdnice te položio državni stručni ispit 17.11.2011. godine.

2012.-2013. Zaposlen kao znanstveni novak na Zavodu za integrativnu fiziologiju pri Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu uz potporu Ministarstva znanosti i obrazovanja. Sudjelovao u brojnim međunarodnim znanstvenim projektima i istraživanjima pod organizacijom „Phypode“ i „European DAN“ te nastavi fiziologije za studente medicine i zdravstvenih studija.

2013. Zaposlen kao specijalizant kardiologije pri Klinici za bolesti srca i krvnih žila KBC-a Split. Tijekom specijalizacije educiram se za intervencijsku kardiologiju. Uz to participiram u znanstvenoj djelatnosti Klinike. Također, sudjelujem u nastavnoj aktivnosti u sklopu izbornog predmeta „Intervencijske metode liječenja u kardiologiji“.

18.11.2011. Upisao poslijediplomski doktorski studij "Medicina utemeljena na dokazima" pri Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu. Odslušao dvije godine i položio sve ispite s prosjekom 4.80.

OSTALE AKTIVNOSTI

Sudjelovao na četiri različita državna natjecanja: iz matematike 1998. godine, fizike 2000. godine (3. mjesto), kemije 2001. godine i biologije 2004. godine (2. mjesto).

Primao stipendiju grada Splita za nadarene učenike tijekom sve 4 godine srednjoškolskog obrazovanja.

Primao stipendiju Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta za 10 najboljih studenata Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu tijekom svih 6 godina trajanja studija.

Primao stipendiju grada Splita za najboljih 5 studenata svih poslijediplomskih studija u Hrvatskoj i inozemstvu.

Dobio certifikat za sudjelovanje i održao predavanje na međunarodnom „Annual Symposium of the Croatian Physiological Society with International Participation“ održanom na Hrvatskom institutu za istraživanje mozga pri Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu od 14. do 16. rujna 2012.

Dobio certifikat za sudjelovanje i održano predavanje na redovitom godišnjem hrvatskom simpoziju interventnih kardiologa s međunarodnom participacijom na temu „Komplikacije u intervencijskoj kardiologiji“ održanom u Specijalnoj bolnici za kardiovaskularnu kirurgiju i kardiologiju „Magdalena“ 17.06.2015.

Diploma za 1. mjesto za najzanimljiviji prikaz slučaja liječenja bolesnika s akutnim koronarnim sindromom prema izboru kolega interventnih kardiologa, predstavnika centara Hrvatske mreže primarne perkutane koronarne intervencije za liječenje AKS: KBC Zagreb, KBC Osijek, KBC Rijeka, KBC Sestre milosrdnice, KBC Split, KB Dubrava, KB Merkur, KB Sveti Duh, KB Magdalena, OB Slavonski Brod i OB Zadar održanom u Zagrebu 07.07.2016.

PUBLIKACIJE

- (1) Thom SR, Milovanova TN, Bogush M, Yang M, Bhopale VM, Pollock NW, Ljubkovic M, Denoble P, Madden D, **Lozo M**, Dujic Z. Bubbles, microparticles, and neutrophil activation: changes with exercise level and breathing gas during open-water SCUBA diving. *J Appl Physiol (1985)*. 2013 May 15;114(10):1396-405. doi: 10.1152/jappphysiol.00106.2013. Epub 2013 Mar 14.
- (2) Madden D, **Lozo M**, Dujic Z, Ljubkovic M. Exercise after SCUBA diving increases the incidence of arterial gas embolism. *J Appl Physiol (1985)*. 2013 Sep 1;115(5):716-22. doi: 10.1152/jappphysiol.00029.2013. Epub 2013 Jun 13.
- (3) **Lozo M**, Madden D, Gunjaca G, Ljubkovic M, Marinovic J, Dujic Z. The impact of consecutive freshwater trimix dives at altitude on human cardiovascular function. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2015 Mar;35(2):142-9. doi: 10.1111/cpf.12139. Epub 2014 Feb 16.
- (4) Lozo Vukovac E, **Lozo M**, Mise K, Gudelj I, Puljiz Ž, Jurcev-Savicevic A, Bradaric A, Kokeza J, Mise J. Bronchoalveolar pH and inflammatory biomarkers in newly diagnosed IPF and GERD patients: a case-control study. *Med Sci Monit*. 2014 Feb 15;20:255-61. doi: 10.12659/MSM.889800.
- (5) **Lozo M**, Lojpur M, Madden D, Lozo P, Banic I, Dujic Z. The effects of nitroglycerin, norepinephrine and aminophylline on intrapulmonary arteriovenous anastomoses in healthy humans at rest. *Respir Physiol Neurobiol*. 2014 Aug 1;199:19-23. doi: 10.1016/j.resp.2014.04.007. Epub 2014 May 5.

- (6) **Lozo M**, Lozo Vukovac E, Ivancevic Z, Pletikosic I. Phantom tumor of the lung: localized interlobar effusion in congestive heart failure. *Case Rep Cardiol.* 2014;2014:207294. doi: 10.1155/2014/207294. Epub 2014 Sep 28.
- (7) Perić I, Paladin I, Lozo Vukovac E, Vela Ljubić J, Gudelj I, **Lozo M**. Tracheomalacia, to stent or not to stent. *Respir Med Case Rep.* 2015 Oct 2;16:137-9. doi: 10.1016/j.rmcr.2015.09.012. eCollection 2015.
- (8) Lovering AT, **Lozo M**, Barak O, Davis JT, Lojpur M, Lozo P, Čaljkušić K, Dujčić Ž. Resting arterial hypoxaemia in subjects with chronic heart failure, pulmonary hypertension and patent foramen ovale. *Exp Physiol.* 2016 May 1;101(5):657-70. doi: 10.1113/EP085657.
- (9) Giunio L, Boric T, Bulat C, Dragicevic D, **Lozo M**. Cardiac Tamponade after right ventricular perforation caused by screw-in lead. *Int J Angiol.* 2106 May doi: 10.1055/s-0036-1580700