

# Utjecaj oralne suplementacije kanabidiolom na srednji arterijski tlak i serumske koncentracije katestatina u bolesnika s esencijalnom hipertenzijom : randomizirano, dvostruko slijepo, križno ispitivanje

---

**Kumrić, Marko**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2023**

*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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:349052>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-19**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**MARKO KUMRIĆ, dr. med.**

**UTJECAJ ORALNE SUPLEMENTACIJE KANABIDILOM  
NA SREDNJI ARTERIJSKI TLAK I SERUMSKE  
KONCENTRACIJE KATESTATINA U BOLESNIKA S  
ESENCIJALNOM HIPERTENZIJOM: RANDOMIZIRANO,  
DVOSTRUKO SLIJEPO, KRIŽNO ISPITIVANJE**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**SPLIT, 2023.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**MARKO KUMRIĆ, dr. med.**

**UTJECAJ ORALNE SUPLEMENTACIJE KANABIDILOM  
NA SREDNJI ARTERIJSKI TLAK I SERUMSKE  
KONCENTRACIJE KATESTATINA U BOLESNIKA S  
ESENCIJALNOM HIPERTENZIJOM: RANDOMIZIRANO,  
DVOSTRUKO SLIJEPO, KRIŽNO ISPITIVANJE**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**SPLIT, 2023.**

Ovaj rad izrađen je na Katedri za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

**Voditelji rada:**

Prof. dr. sc. Tina Tičinović Kurir, dr. med. i izv. prof. dr. sc. Joško Božić, dr. med.

## **Zahvala**

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
1.1. Definicija i klasifikacija hipertenzije .....	2
1.1.1. Sekundarne hipertenzije .....	5
1.1.2. Hipertenzija u posebnim populacijama i rezistentna hipertenzija .....	16
1.1.3. Tehnika mjerenja arterijskog tlaka .....	20
1.2. Epidemiologija esencijalne hipertenzije.....	23
1.3. Patofiziologija esencijalne hipertenzije.....	24
1.3.1. Hemodinamski podtipovi esencijalne hipertenzije.....	25
1.3.2. Uloga renalnih mehanizama .....	27
1.3.3. Uloga hormonalnih mehanizama.....	28
1.3.4. Uloga vaskularnih mehanizama.....	29
1.3.5. Uloga neuralnih mehanizama .....	29
1.4. Dijagnostička obrada bolesnika s esencijalnom hipertenzijom.....	31
1.4.1. Anamneza bolesnika s hipertenzijom .....	31
1.4.2. Klinički pregled i laboratorijska obrada bolesnika s hipertenzijom .....	32
1.5. Liječenje bolesnika s esencijalnom hipertenzijom .....	34
1.5.1. Promjene životnih navika .....	35
1.5.2. Antihipertenzivna terapija .....	37
1.6. Posljedice arterijske hipertenzije i prognoza bolesnika s hipertenzijom.....	41
1.7. Katestatin.....	44
1.7.1. Temeljna biologija katestatina.....	44
1.7.2. Uloga katestatina u regulaciji kardiovaskularnog sustava.....	47
1.7.3. Uloga katestatina u kardiovaskularnim bolestima .....	48
1.8. Kanabidiol (CBD) .....	52
1.8.1. Struktura i biosinteza CBD-a.....	52
1.8.2. Farmakokinetika CBD-a.....	54
1.8.3. Farmakodinamika CBD-a.....	56
1.8.4. Pretpostavljeni kardiovaskularni učinci CBD-a .....	59
<b>2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA</b> .....	<b>65</b>
<b>3. ISPITANICI I POSTUPCI</b> .....	<b>68</b>
3.1. Ispitanici.....	69
3.2. Postupci.....	71
3.2.1. Postupci prvog dijela istraživanja.....	72
3.2.2. Postupci drugog dijela istraživanja.....	75
3.3. Statistička analiza podataka .....	78
<b>4. REZULTATI</b> .....	<b>81</b>
4.1. Rezultati prvog dijela istraživanja.....	82
4.2. Rezultati drugog dijela istraživanja.....	91
<b>5. RASPRAVA</b> .....	<b>99</b>
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>109</b>
<b>7. SAŽETAK</b> .....	<b>112</b>
<b>8. SUMMARY</b> .....	<b>114</b>
<b>9. LITERATURA</b> .....	<b>117</b>
<b>10. ŽIVOTOPIS</b> .....	<b>158</b>

## POPIS OZNAKA I KRATICA

ACC – Američki koledž kardiologije (engl. *American College of Cardiology*)

ACE – angiotenzin konvertirajući enzim (engl. *angiotensin converting enzyme*)

AHA – Američko udruženje za srce (engl. *American Heart Association*)

ALT – alanin transaminaza

AST – aspartat transaminaza

ATP – adenzin trifosfat

CBD – kanabidiol

CBGA – kanabigerolna kiselina (engl. *cannabigerolic acid*)

ChgA – kromogranin A

CVLM – kaudalna ventrolateralna medula (engl. *caudal ventrolateral medulla*)

CYP – citokrom P450

DASH – dijetetski pristup za sprječavanje hipertenzije (engl. *Dietary Approaches to Stop Hypertension*)

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

eGFR – procijenjena glomerularna filtracija (engl. *estimated glomerular filtration rate*)

EKG – elektrokardiogram

ESC – Europsko kardiološko društvo (engl. *European Society of Cardiology*)

ESH – Europsko društvo za hipertenziju (engl. *European Society of Hypertension*)

ET – endotelin

GABA – Gama-aminomaslačna kiselina (engl. *gamma-aminobutyric acid*)

GGT – gama-glutamil transferaza

GWAS – cjelogenomske asocijacijske studije (engl. *Genome-Wide Association Studies*)

HbA<sub>1c</sub> – hemoglobin A1c

HFpEF – zatajenje srca s očuvanom istisnom frakcijom (engl. *heart failure with preserved ejection fraction*)

HIE – hipoksično-ishemična encefalopatija

HDL – lipoprotein visoke gustoće

HMOD – hipertenzijom posredovano oštećenje organa (engl. *hypertension-mediated organ damage*)

HRV – varijabilnost srčanog ritma (engl. *Heart rate variability*)

HZJZ – Hrvatski zavod za javno zdravstvo

ITM – indeks tjelesne mase

KBB – kronična bolest bubrega

KMAT – kontinuirano mjerenje arterijskog tlaka

LDL – lipoprotein niske gustoće

MACE – neželjeni kardiovaskularni događaj (engl. *major adverse cardiovascular event*)

NGAL – lipokalin udružen s neutrofilnom gelatinazom (engl. *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*)

NPY – neuropeptid Y

OSA – opstruktivna apneja tijekom spavanja

RAAS – renin-angiotenzin-aldosteronski sustav

RPR – renin-proreninski receptor

RVH – renovaskularna hipertenzija

RVLM – rostralna ventrolateralna medula

SŽS – središnji živčani sustav

TGF- $\beta$  – transformirajući čimbenik rasta beta (engl. *transforming growth factor beta*)

THC – tetrahidrokanabinol

TPR – totalni periferni otpor (engl. *total peripheral resistance*)



**1. UVOD**



---

## 1.1. Definicija i klasifikacija hipertenzije

Važeće smjernice za zbrinjavanje bolesnika s hipertenzijom definiraju hipertenziju kao prisutnost vrijednosti arterijskog tlaka pri kojoj benefit liječenja, promjenama životnih navika ili antihipertenzivima, nadilazi rizike liječenja (1). Unatoč neospornoj činjenici da su povišene vrijednosti krvnog tlaka direktno povezane s kardiovaskularnim morbiditetom i mortalitetom, ciljne vrijednosti tlaka još uvijek su predmet debate (2-4). Štoviše, čak ni smjernice dvaju najutjecajnijih stručnih udruženja nisu potpuno usuglašene u tom vidu (1,5). Prema važećim smjernicama Europskog kardiološkog društva (engl. *European Society of Cardiology*, ESC) i Europskog društva za hipertenziju (engl. *European Society of Hypertension*, ESH) hipertenzija se definira kao arterijski tlak veći od 140/90 mmHg, dok smjernice krovnih američkih društava (Američki koledž kardiologije (engl. *American College of Cardiology*, ACC) i Američko udruženje za srce (engl. *American Heart Association*, AHA)) hipertenziju definiraju pri vrijednostima tlaka od barem 130/80 mmHg. Uzrok očitog nesuglasja u ciljnim vrijednostima tlaka posljedica je ponešto različite interpretacije recentnih dokaza u vidu ovisnosti tlaka i kardiovaskularnih ishoda. Pivotalna studija u tom smislu bila je SPRINT studija koja je na uzorku od 9361 bolesnika s hipertenzijom i višim kardiovaskularnim rizikom, ali bez šećerne bolesti, usporedila kardiovaskularne ishode između intenzivne (ciljni sistolički tlak 120 mmHg) i standardne terapije hipertenzije (ciljni sistolički tlak 140 mmHg) (6). Rezultati SPRINT studije upućuju na to da intenzivno snižavanje tlaka dovodi do 25 % smanjenja u pojavnosti neželjenih kardiovaskularnih događaja (engl. *major adverse cardiovascular events*, MACE) i 27 % manje smrti od bilo kojeg uzroka. Iako se većina autora slaže da takvi rezultati upućuju na korisnost dodatne redukcije tlaka, mnoštvo autora smatra da ovom studijom nije rasvijetljena ciljna vrijednost tlaka. Naime, način mjerenja tlaka u SPRINT studiji (automatsko mjerenje tlaka izvan ordinacije) bio je različit u odnosu na većinu randomiziranih kliničkih istraživanja i stoga je mogao podcijeniti vrijednosti tlaka jer se na ovaj način izbjegao efekt

bijele kute koji je značajno mogao utjecati na tlak (7,8). Stoga, autori ESC/ESH smjernica zagovaraju da bi vrijednosti tlaka mjerene u okviru te studije mogle prije odgovarati sistoličkim tlakovima od 130-140 mmHg i 140-150 mmHg (intenzivna vs. standardna terapija). U tom vidu, valja naglasiti da je u objema smjernicama naglašena važnost mjerenja tlaka izvan ordinacije uporabom validiranih tlakomjera. S druge strane, nekoliko recentnih meta-analiza upućuju na to da iako dodatno smanjenje tlaka nudi određene benefite na kardiovaskularno zdravlje. Za naglasiti je da je korisnost manja što su ciljne vrijednosti tlaka niže, a osim toga, ciljanje nižih vrijednosti povezano je s većim odustajanjem od antihipertenzivne terapije, kojoj je adherencija i bez toga poražavajuća. Detaljna usporedba definicija hipertenzije između ESC/ESH i ACC/AHA smjernica prikazana je u **Tablici 1**.

**Tablica 1.** Usporedba definicija hipertenzije između ESC/ESH i ACC/AHA smjernica (1,5).

Parametar usporedbe	Sistolički i dijastolički tlak (mmHg)	ACC/AHA smjernice 	ESC/ESH smjernice 
<b>Arterijski tlakovi prilikom mjerenja u ordinaciji</b>	≤120 i ≤80	Normalan	Optimalan
	120-129 i/ili ≥80*	Povišen	Normalan
	130-139 i/ili 80-89†	Stadij 1	Visoko normalan
	140-160 i/ili 90-99	Stadij 2	Stupanj 1
	160-179 i/ili 100-109	Stadij 3	Stupanj 2
	≥180 i/ili ≥110‡	Hipertenzivna kriza	Stupanj 3
<b>Kontinuirano mjerenje arterijskog tlaka§</b>	Prosječni 24-satni tlak	≥125/75 mmHg	≥130/80 mmHg
	Prosječni dnevni tlak	≥130/80 mmHg	≥135/85 mmHg
	Prosječni noćni tlak	≥110/65 mmHg	≥120/70 mmHg

\*80-85 mmHg u ESC/ESH † 85-89 mmHg u ESC/ESH ‡ ≥120 mmHg u ACC/AHA § Navedene vrijednosti predstavljaju gornji limit. Kratice: Europsko kardiološko društvo (engl. *European Society of Cardiology*, ESC); Europsko društvo za hipertenziju (engl. *European Society of Hypertension*, ESH); Američki koledž kardiologije (engl. *American College of Cardiology*, ACC); Američko udruženje za srce (engl. *American Heart Association*, AHA).

Maskirana hipertenzija podrazumijeva povišene vrijednosti tlaka pri mjerenju tlaka izvan liječničke ordinacije, dok su vrijednosti tlaka unutar normalnog raspona za vrijeme mjerenja u ordinaciji (9). Valja naglasiti da novije preporuke pod maskiranu hipertenziju klasificiraju i oblik hipertenzije u kojem su samo noćne vrijednosti tlaka povišene (izolirana noćna hipertenzija). Zlatni standard procjene ovog tipa hipertenzije jest kontinuirano mjerenje arterijskog tlaka (KMAT), premda smjernice podupiru i dnevno mjerenje tlaka konvencionalnim uređajima za mjerenje tlaka (1,10-12). Štoviše, noviji podaci upućuju da je mjerenje tlaka takvim uređajima podjednako učinkovito u detekciji maskirane hipertenzije, ali i hipertenzije bijelog ogrtača (13,14). Procjenjuje se da 8 % do 16 % generalne populacije boluje od ovog oblika hipertenzije. Klinička značajnost ovog oblika hipertenzije leži u činjenici da bolesnici s maskiranom hipertenzijom imaju veći rizik za razvoj hipertenzije i generalno značajno veći kardiovaskularni rizik u odnosu na normotenzivne osobe (15,16).

Hipertenzija bijelog ogrtača je stanje karakterizirano povišenim vrijednostima tlaka mjerenih u liječničkoj ordinaciji, ali normalnim tlakovima mjerenim izvan iste (17). Prevalencija ovog poremećaja izrazito varira ovisno o primijenjenim kriterijima i ispitivanoj populaciji (od 10 do 60 %) (18-20). Slično maskiranoj hipertenziji, ovaj specifični oblik hipertenzije također je povezan s povećanim kardiovaskularnim rizikom, ali i rizikom razvoja šećerne bolesti tipa 2 (21,22). Valja naglasiti da iako maskiranu i hipertenziju bijelog ogrtača definiramo u bolesnika koji inače ne boluju od „potpuno razvijene“ hipertenzije, činjenica je da se fenomeni maskiranja i bijelog ogrtača također mogu javiti i u bolesnika koji se liječe od hipertenzije. Ipak, zbog ograničenosti definicije, takve bolesnike klasificiramo kao „rezistentna hipertenzija bijelog ogrtača (pseudo-rezistentna hipertenzija)“ i „maskirana nekontrolirana hipertenzija“ (23). Potonja je zasebno adresirana u recentnim ESC/ESH smjernicama s obzirom na to da je česta, a na razini primarne zdravstvene zaštite ima očite implikacije. Naime, prilagodba terapije antihipertenzivima na temelju vrijednosti tlaka mjerenih za vrijeme posjete

liječniku česta je praksa, a isto bi moglo dovesti do prividno adekvatne, ali zapravo nedovoljne kontrole arterijskog tlaka (1,24-26).

### **1.1.1. Sekundarne hipertenzije**

Prema etiopatogenetskim mehanizmima, arterijsku hipertenziju dijelimo na primarnu (esencijalnu) hipertenziju i sekundarne oblike hipertenzije, premda valja naglasiti da se ne mogu svi oblici hipertenzije dihotomno rasporediti između dvije navedene skupine jer dijele zajedničke etiopatogenetske mehanizme. Svojevrni primjer takve etiološke „sive zone“ jest opstruktivna apneja tijekom spavanja (OSA), koja se prema važećim smjernicama ipak svrstava kao sekundarni uzrok hipertenzije (1). Patofiziološki gledano, mehanizmi u podlozi esencijalne hipertenzije ekstenzivno su istraženi, ali i dalje postoji mnoštvo nepoznanica, na što nam upućuje izostanak terapijskog odgovora ili barem nepredvidljiv terapijski odgovor u slučajevima kada je terapija bila usmjerena k predloženim patofiziološkim mehanizmima. Poznat primjer je denervacija renalnog simpatičkog sustava, koja se unatoč obećavajućim inicijalnim rezultatima, pokazala nedostatnom u liječenju rezistentne hipertenzije (27-29). S druge strane, iako se sekundarne hipertenzije obično prezentiraju težim i rezistentnim formama hipertenzije, po uklanjanju uzroka (osim ako liječenje nije provedeno prekasno ili nije moguće liječiti uzrok) vrijednosti arterijskog tlaka često se normaliziraju (30,31).

Prilikom dijagnostičke obrade bolesnika s novootkrivenom hipertenzijom, u osobnoj i obiteljskoj anamnezi te fizikalnom pregledu važno je obratiti pozornost na čimbenike koji upućuju na prisutnost sekundarne hipertenzije (**Tablica 2**).

**Tablica 2.** Kliničke značajke koji upućuju na moguću sekundarnu etiologiju hipertenzije.

Klinički parametar
Bolesnici mlađi od 40 godina s hipertenzijom 2. stupnja ili pojavom bilo kojeg stupnja hipertenzije u djetinjstvu
Akutno pogoršanje hipertenzije u bolesnika s prethodno dokumentiranom kronično stabilnom normotenzijom
Rezistentna hipertenzija
Hipertenzija 3. stupnja ili pojava hipertenzivne krize
Prisutnost opsežnog hipertenzijom posredovanog oštećenja organa
Kliničko-biokemijske značajke koje upućuju na endokrine uzroke hipertenzije
Kliničko-biokemijske značajke koje upućuju na kroničnu bubrežnu bolest
Klinički znakovi koji upućuju na prisutnost opstruktivne apneje tijekom spavanja
Simptomi sukladni s feokromocitom i/ili pozitivna obiteljska anamneza na feokromocitom i povezane sindrome

(Preuzeto i prilagođeno prema: Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M i sur.; ESC Scientific Document Group. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. Eur Heart J. 2018;39(33):3021-104)

Valja istaknuti da je dob bolesnika ključna pri procjeni uzroka sekundarne hipertenzije, budući da očekujemo različite etiologije sekundarne hipertenzije ovisno o dobnoj skupini (1). Primjerice, najčešći uzroci sekundarne hipertenzije u djece mlađe od 18, a posebno u djece mlađe od 12 godina, su monogeniski oblici hipertenzije (pr. Liddleov sindrom, neki oblici kongenitalne adrenalne hiperplazije, Gordonov sindrom...), bolesti bubrežnog parenhima i koarktacija aorte (32). U mladih odraslih osoba dobi od 18 do 40 godina, osim bolesti bubrežnog parenhima, česti uzroci sekundarne hipertenzije uključuju renovaskularnu hipertenziju (uzrokovanu fibromuskularnom displazijom renalne arterije), ali i neprepoznate oblike monogeniskih hipertenzija (1,32,33). U dobnoj skupini od 40 do 65 godina pak, često se susreću endokrine hipertenzije (Connov sindrom, Cushingov sindrom, feokromocitom), renovaskularna hipertenzija uzrokovana aterosklerozom, bubrežne parenhimne bolesti i

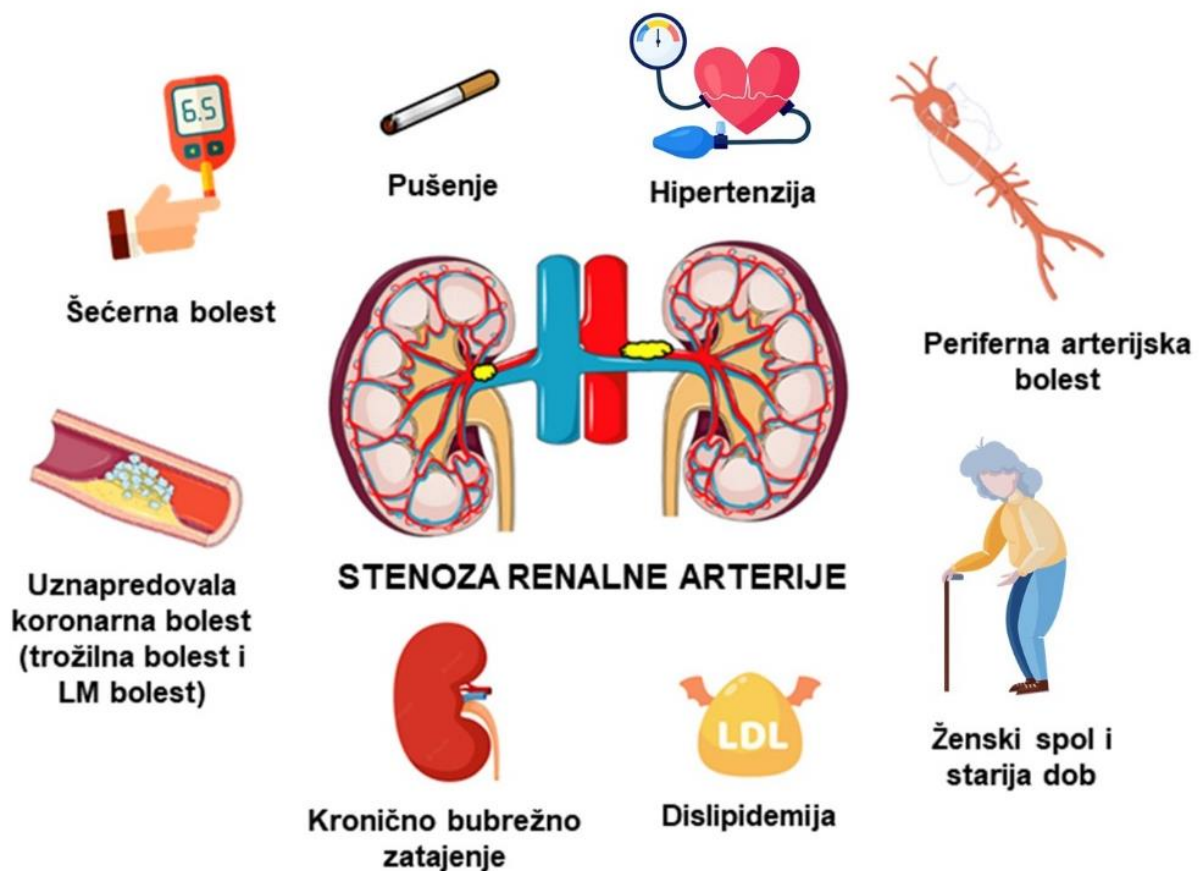
naposljetku opstruktivna apneja tijekom spavanja (OSA) (1). Konačno, u skupini osoba starijih od 65 godina, očekivani uzroci sekundarne hipertenzije su bolesti bubrežnog parenhima, stenoza renalne arterije te bolesti štitnjače (33).

#### *1.1.1.1. Renovaskularna hipertenzija*

Eklatantni primjer sekundarne hipertenzije upravo je renovaskularna hipertenzija (RVH), odnosno pojava visokih vrijednosti arterijskog tlaka kao rezultat hipoperfuzije bubrega (33). Valja naglasiti da će hipoperfuzija bubrega rezultirati sličnim odgovorom, tj. razvojem RVH, neovisno o tome je li ista nastala kao posljedica ateroskleroze (najčešće), fibromuskularne displazije, aneurizme renalne arterije, ekstrinzične kompresije renalne arterije ili raznih drugih uzroka koji reduciraju bubrežnu opskrbu krvlju (33-35). Patofiziološki gledano, obrazac reakcije bubrega na takvu noksu puno će više ovisiti o tome je li zahvaćen jedan ili oba bubrega, nego o uzroku opstrukcije (36).

Postoje dva temeljna pokusa koji objašnjavaju gore navedenu razliku, a inicijalno ih je opisao Golblatt 1934. (36). U prvom pokusu (2 bubrega, 1 stenotičan; 2B1S), zahvaćeni bubreg reagira na hipoperfuziju time da stimulira lučenje renina i aktivaciju renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava (RAAS-a). Posljedično dolazi do zadržavanja soli i vode. Istovremeno, zdravi bubreg reagira na povećano zadržavanje soli i renina time da inhibira sintezu renina, a također dolazi do aktivacije tlačne natriureze što u konačnici sprječava nakupljanje soli i vode, a hipertenzija se održava na račun povišenja totalnog perifernog otpora (37). U drugom pokusu (1 bubreg, 1 stenotičan; 1B1S) pokazano je da kada nema „zdravog“ bubrega, tlačna natriureza izostaje, a do porasta tlaka dolazi volumnim mehanizmom. Zadržavanjem volumena dolazi do supresije lučenja renina. Osim u slučaju kada postoji samo jedan funkcionalan bubreg, 1B1S obrazac moguće je pronaći i u soba s obostranom stenozom renalnih arterija, ali također i u bilo kojem obliku stenozе proksimalno od izlazišta renalnih arterija (koarktacija aorte, stenoza

uzrokovana graftovima aorte...). S obzirom na to da čak i u slučaju 2B1S, dugoročno djelovanje visokog tlaka, ali i samog angiotenzina oštećuje zdravi bubreg, s vremenom 2B1S sve više počinje nalikovati na 1B1S, a istovremeno dolazi i do supresije lučenja renina. Upravo su zbog toga, renin i reninska aktivnost plazme limitirane korisnosti u dijagnozi RVH. Uz to, valja naglasiti da iako saniranje uzroka RVH može dovesti do vraćanja tlaka na vrijednosti prije razvoja hipoperfuzije bubrega, dugoročna RVH dovodi do oštećenja oba bubrega čak i u 2B1S modelu, budući da je jedan bubreg hipoperfundiran (što aktivira upalnu kaskadu), a drugog oštećuju visoki tlak i RAAS. Epidemiološki gledano, vrlo je važno napomenuti da se ateroskleroza i posljedična stenoza renalne arterije događa u značajnog broja bolesnika s koronarnom bolesti (38). Čimbenici koji su povezani s povećanom učestalošću stenozе renalne arterije u bolesnika s koronarnom bolesti prikazani su na **Slici 1**.



**Slika 1.** Čimbenici povezani s povećanom učestalošću stenozе renalne arterije u bolesnika s koronarnom bolesti. Kratice: LM: bolest debla lijeve koronarne arterije (engl. *left main*). (originalna ilustracija autora).



### 1.1.1.2. Hipertenzija u sklopu kronične bolesti bubrega

Odnos između kronične bolesti bubrega (KBB) i hipertenzije je dvojak. Naime, hipertenzija predstavlja i uzrok i posljedicu KBB-a (39). Navedena interakcija značajno povećava rizik od nepovoljnih kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih ishoda, što je osobito značajno u bolesnika s rezistentnom hipertenzijom koja se obično i viđa u populaciji bolesnika s KBB-om (40). Patofiziološki mehanizmi kojim su hipertenzija i KBB međusobno povezani su brojni i uključuju: poremećaj regulacije ekskrecije natrija, pojačanu aktivnost simpatičkog živčanog sustava (SŽS-a) te promjene u aktivnosti renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava (RAAS-a) (39).

Liječenje bolesnika s hipertenzijom povezanom s KBB često je izazovno i ograničenog uspjeha (41). U slučajevima rezistentne hipertenzije u tih bolesnika važno je isključiti pseudorezistenciju (smanjena adherencija antihipertenzivima) i sekundarne uzroke koji se mogu liječiti. Liječenje kombinacijom antihipertenzivnih lijekova, uključujući odgovarajući izbor diuretika, na temelju procijenjene glomerularne filtracije, ključna je komponenta liječenja hipertenzije u bolesnika s KBB-om (1,42). Osim lijekova, u liječenju hipertenzije u bolesnika s KBB-om nefarmakološki pristup, uključujući modifikacije stila života, od iznimne je važnosti. Daleko najvažnija promjena u tom smislu je ograničenje unosa soli u prehrani. Naime, KBB dovodi do glomerulo-tubularnog dizbalansa karakteriziranog smanjenom proksimalnom reapsorpcijom natrija i povećanom distalnom dopremom i reapsorpcijom natrija (39). Nadalje, izlučivanje aldosterona dodatno doprinosi distalnoj reapsorpciji natrija u KBB-u i nije posredovano samo reninom i kalijem, već i metaboličkom acidozom, endotelinom-1 i vazopresinom. Uz to, u KBB-u također dolazi do aktivacije intrarenalnog RAAS-a, stvarajući intratubularni angiotenzin II koji dalje potiče distalnu reapsorpciju natrija. Visok unos natrijevih soli hranom u KBB-u pridonosi zadržavanju natrija aktivacijom mineralokortikoidnog receptora neovisnom o aldosteronu koje je posredovano preko Rac1

GTPaze (43). Uz to, visoke količine natrija u prehrani također aktiviraju upalni odgovor posredovan Th17 limfocitima i citokinima koji povećavaju distalni transport natrija (43). Zaključno, KBB uzrokuje lokalne i sustavne promjene koje zajedno potiču reapsorpciju natriju u distalnom nefronu i hipertenziju osjetljivu na sol (43). Optimalni ciljani krvni tlak u liječenju hipertenzije populacije s KBB-om i dalje je predmet rasprave i varira među različitim smjernicama, usprkos velikom broju provedenih studija (1,5,41,42).

### 1.1.1.3. Hipertenzija uzrokovana suviškom mineralokortikoida

Primarni aldosteronizam ili Connov sindrom oblik je endokrinog poremećaja kojeg obično uzrokuju adenomi koji proizvode aldosteron (oko 35 % slučajeva) ili bilateralnom idiopatskom hiperplazijom (oko 60 % slučajeva), a ostatak čine adrenokortikalni karcinomi koji proizvode aldosteron i neki monogeni oblici hipertenzije (44). Ovaj oblik sekundarne hipertenzije obično se susreće u bolesnika od 30 do 60 godina, a karakteristična klinička obilježja ove bolesti su arterijska hipertenzija, metabolička alkalozna i hipokalijemija koje prate odgovarajući simptomi poput mišićne slabosti, paralize, poliurije, nokturije i polidipsije (45,46). Zadnja tri navedena simptoma javljaju se kao posljedica nefrogenog dijabetes insipidusa. Ipak, valja naglasiti da samo oko 20 % bolesnika s primarnim aldosteronizmom ima hipokalijemiju, a u frakciji bolesnika hipokalijemija postaje evidentna tek uslijed liječenja tiazidnim diureticima (koji i inače potiču razvoj hipokalijemije) (47). Stoga, staro kliničko pravilo da se na primarni aldosteronizam sumnja samo u hipertenziju praćenu hipokalijemijom je napušteno te se praktički u svake osobe s hipertenzijom, posebice ukoliko je teška i rezistentna, može u podlozi imati primarni aldosteronizam. Unatoč poznatom efektu aldosterona na zadržavanje soli i vode, bolesnici s primarnim aldosteronizmom obično ne razvijaju edeme, budući da dolazi do aktivacije višestrukih bubrežnih kompenzacijskih mehanizama, a ovaj fenomen nazivamo „bijeg aldosterona“ (48).

Dijagnoza primarnog aldosteronizma postavlja se u dvije faze (49). Probirni test sastoji se od mjerenja plazmatskih razina aldosterona i reninske aktivnosti plazme. U slučaju da su probirne razine aldosterona i renina u plazmi sugestivne, koristi se jedan od potvrdnih testova (pr. test opterećenjem solju, fludrokortizon-supresijski test) kako bi se potvrdilo autonomno povećano lučenje aldosterona. Ako je rezultat testa supresije abnormalan, dodatno se preporučuje uzimanje uzorka adrenalne vene ne bi li se jednostrani adenom razlikovao od bilateralne hiperplazije i ne bi li se točno utvrdilo koju žlijezdu treba ukloniti laparoskopskom operacijom, budući da nalazi kompjuterizirane tomografije (engl. *computed tomography*, CT) u do 50 % slučajeva nisu dostatni za razlikovanje etiologije primarnog aldosteronizma (50). Bolesnici sa solitarnim adenomima idealni su kandidati za resekciju tumora, obično laparoskopskom operacijom. Za razliku od njih, bolesnici s bilateralnom hiperplazijom trebaju se liječiti antagonistima aldosterona (npr. spironolakton/eplerenon) i dodatnim antihipertenzivima po potrebi. Uz to, antagonisti aldosterona predstavljaju alternativnu opciju za pacijente sa solitarnim adenomom koji ne žele operaciju ili im ista nije dostupna (49).

#### 1.1.1.4. Feokromocitom i paragangliom

Feokromocitomi su rijetki tumori kromafinih stanica karakterizirani prekomjernim lučenjem kateholamina, a paragangliomi su još rjeđi izvanadrenalni tumori simpatičkih ili vagalnih ganglijskih stanica (51). U kliničkom diskursu, termin feokromocitom obično se koristi neovisno nalazi li se tumor u srži nadbubrega ili negdje duž simpatičkog lanca. Tipična prezentacija feokromocitoma je pojava hipertenzije u tzv. šubovima, odnosno naglim i izrazitim porastima arterijskog tlaka koji su posljedica naglog otpuštanja kateholamina (52). Ipak, valja naglasiti da čak polovica bolesnika ima konstantno povišene vrijednosti arterijskog tlaka (53). Osim povišenja tlaka, paroksizmi u feokromocitomu praćeni su glavoboljom, znojenjem dlanova, boli u prsima, mučninom, palpitacijama i bljedilom. Jedan od čestih

simptoma je također i anksioznost. Dijagnoza se obično postavlja mjerenjem kateholamina u krvi ili njihovih metabolita (metanefrina) u 24-satnom urinu (54). Za dijagnozu je također nužna slikovna dijagnostika u vidu CT-a, magnetske rezonancije, ali i <sup>131</sup>I-metajodobenzilgvanidine (MIBG) scintigrafije. Liječenje feokromocitoma je kirurško, a najvažniji dio je adekvatna preoperativna priprema bolesnika (7 do 14 dana) u vidu alfa i beta blokade, budući da bi bez takve pripreme za vrijeme operacije moglo doći do komplikacija uslijed naglog otpuštanja kateholamina (54). U bolesnika koji nisu kandidati za kirurško liječenje, preporuča se primjena metirozina, inhibitora tirozin-hidroksilaze (54).

#### 1.1.1.5. Cushingov sindrom

Hipertenzija se javlja u čak 80 % bolesnika s Cushingovim sindromom (55). Dugotrajna hipertenzija može dovesti do značajnih reperkusija na kardiovaskularni sustav poput hipertrofije lijevog ventrikla i u konačnici kliničkog sindroma zatajivanja srca. Kao i slučaju ostalih endokrinih hipertenzija, što hipertenzija dulje traje, to je manja šansa da će doći do smanjenja tlaka uslijed liječenja osnovne bolesti budući da dolazi do vaskularnog remodeliranja i oštećenja bubrežne funkcije (55).

Glavni patofiziološki mehanizam hipertenzije u Cushingovom sindromu je mineralokortikoidni učinak glukokortikoida. Naime, mineralokortikoidni receptori (MR) podjednako mogu biti aktivirani aldosteronom i kortizolom, ali pri fiziološkim uvjetima kortizol ne aktivira značajno MR, budući da ga 11 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenaza u bubregu pretvara u kortizon koji nema mineralokortikoidno djelovanje (56). U Cushingovom sindromu dolazi do saturacije navedenog enzima, stoga dolazi do suviška kortizola u bubregu i posljedične aktivacije MR. Uz to, kortizol potiče aktivnost angiotenzin-konvertirajućeg enzima (engl. *angiotensin converting enzyme*, ACE) i ekspresiju angiotenzinskih receptora (57).

Klinički znakovi i simptomi koji bi trebali pobuditi sumnju na prisutnost Cushingove bolesti u bolesnika s hipertenzijom uključuju centralni tip pretilosti, mišićnu slabost, osteoporozu, bivolju grbu, lividne strije, lice poput mjeseca, tanku i fragilnu kožu te mnoge druge. Dijagnoza se obično postavlja na temelju količine kortizola u 24-satnom urinu, kortizola u slini te supresijskim testom deksametazonom (58). Liječenje Cushingovog sindroma ovisi o podležućem uzroku sindroma, a antihipertenzivno liječenje obično se sastoji od primjene kombinacije ACE inhibitora i kalcijских blokatora, uz oprez korištenja diuretika koji mogu dodatno pogoršati hipokalijemiju (59).

#### 1.1.1.6. Opstruktivska apneja tijekom spavanja

Hipertenzija u sklopu opstruktivske apneje tijekom spavanja (OSA) predstavlja svojevrsnu sivu zonu između primarne i sekundarne hipertenzije (60). Naime, hipertenzija u sklopu OSA-e karakterizirana je pojačanom simpatičkom aktivacijom. Razlog takve aktivacije je refleksni odgovor na ponovljene desaturacije arterijske krvi tijekom spavanja (kemoreceptorski refleks) (61). Uz to, česta aktivacija kemoreceptorskog refleksa dovodi do resetiranja takvog mehanizma pa ti isti receptori tijekom dana interpretiraju normoksiju kao hipoksiju, ponovno dovodeći do povišenja krvnog tlaka. Nadalje, postoji složen međuodnos između OSA-e i razvoja šećerne bolesti (62). Valja naglasiti da sama OSA značajno ubrzava razvoj komplikacija hipertenzije (pr. atrijska fibrilacija, moždani udar, smrt). Glavno dijagnostičko oruđe za dijagnozu i klasifikaciju OSA-e je polisomnografijsko testiranje, a među brojnim terapijskim intervencijama, korištenje CPAP-a (engl. *Continuous positive airway pressure*) pokazalo se najkorisnijim (63).

### 1.1.1.7. Ostali oblici sekundarne hipertenzije

Pri obradi bolesnika s hipertenzijom, posebnu pozornost treba usmjeriti na lijekove i dodatke prehrani koji mogu imati hipertenzivni učinak (1). Neki od najvažnijih skupina lijekova za koje se pokazalo da mogu utjecati na arterijski tlak su:

1. Imunosupresivi – posebice ciklofosamid i kortikosteroidi;
2. Inhibitori angiogeneze – bevacizumab, sorafenib, sunitinib;
3. Dekongestivi – fenilefrin, pseudoefedrin, nafazolin;
4. Anabolički steroidi;
5. Eritropoetin;
6. Nesteroidni antireumatici;
7. Oralni kontraceptivi;
8. Preparati za mršavljenje – sibutramin, fenilpropanolamin;
9. Opojne droge – kokain, amfetamini;
10. Razni biljni suplementi – sladić (mineralokortikoidno djelovanje), kositrenica.

Sekundarne hipertenzije također mogu biti genetski posredovane (32). U većini slučajeva radi se o monogenkim poremećajima. Iako su relativno rijetki, monogenški uzroci hipertenzije su važni budući da se ciljano mogu liječiti. Kliničko-patofiziološke karakteristike koje upućuju na prisutnost monogenških formi hipertenzije su pojava hipertenzije u dječjoj i adolescentnoj dobi uz suprimiranu RAAS osovinu (suprimirana reninska aktivnost plazme), što je inače rijetka pojava u esencijalne hipertenzije mladih (64). Stoga, prisutnost niske reninske aktivnosti plazme u hipertenzivne djece i adolescenata bi trebala pobuditi sumnju na monogenske uzroke hipertenzije posredovane povećanim zadržavanjem natrija (1). Međutim, s obzirom na to da beta blokatori, klonidin i metildopa mogu značajno utjecati na RAAS osovinu, nužno je ne uzimati te lijekove u periodu od barem dva tjedna prije mjerenja reninske

aktivnosti plazme (1,5). Uzroci i kliničke karakteristike najvažnijih oblika monogenih hipertenzija prikazani su u **Tablici 3**.

**Tablica 3.** Uzroci i klinički fenotipovi najvažnijih oblika monogenih hipertenzija.

Bolest	Patofiziološki mehanizam	Klinički fenotip
Hipertenzija izlječiva glukokortikoidima	Aldosteron se luči kao posljedica kimernog gena za ACTH (CYP11 $\beta$ 1 na CYP11 $\beta$ 2 gen)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• K<sup>+</sup>↓ pH↑ RAP↓ aldosteron↑</li> <li>• supresija ACTH dovodi do smanjenja tlaka</li> </ul>
Liddleov sindrom	Povećana aktivnost renalnih ENaC kanala (pseudohiperaldosteronizam)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• K<sup>+</sup>↓ pH↑ RAP↓ aldosteron↓</li> <li>• odgovara na amilorid (blokator ENaC)</li> </ul>
Gordonov sindrom	Smanjena inhibicija natrij-klorid kotransportera i ROMK	<ul style="list-style-type: none"> <li>• K<sup>+</sup>↑ pH↓ RAP↓ aldosteron↓</li> <li>• odgovara na tiazidne diuretike</li> </ul>
Gellerov sindrom	Mutacija MR koja rezultira odgovorom istih na progesteron	<ul style="list-style-type: none"> <li>• K<sup>+</sup>↓ pH↑ RAP↓ aldosteron↓</li> <li>• pogoršanje hipertenzije u trudnoći</li> </ul>
Očiti višak mineralokortikoida	Mutacija gena koji kodira 11 $\beta$ -HSD, enzim koji pretvara kortikosteroide u inaktivnu formu	<ul style="list-style-type: none"> <li>• K<sup>+</sup>↓ pH↑ RAP↓ aldosteron↓</li> <li>• odgovara na blokatore MR (spironolakton, eplerenon)</li> </ul>
Kongenitalna adrenalna hiperplazija*	Mutacija gena koji kodira 11 $\beta$ -hidroksilazu Mutacija gena koji kodira 17 $\alpha$ -hidroksilazu	<ul style="list-style-type: none"> <li>• K<sup>+</sup>↓ pH↑ RAP↓ aldosteron↓ kortizol↓ DOC↑</li> <li>• feminizacija muške djece</li> <li>• K<sup>+</sup>↓ pH↑ RAP↓ aldosteron↓ kortizol↓ DOC↑</li> <li>• virilizacija ženske djece</li> </ul>

\*Neke forme ove bolesti rezultiraju hipertenzijom, ovisno o mutiranom enzimu. Kratice: ACTH: adrenokortikotropni hormon; RAP: reninska aktivnost plazme; ENaC: epitelni natrijski kanal (engl. *epithelial sodium channel*); ROMK: kalijev kanal u vanjskoj meduli (engl. *renal outer medullary K<sup>+</sup> channel*); MR: mineralokortikoidni receptor; 11 $\beta$ -HSD: 11 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenaza; DOC: 11-deoksikortikosteron.

## **1.1.2. Hipertenzija u posebnim populacijama i rezistentna hipertenzija**

### **1.1.2.1. Hipertenzija u djece i adolescenata**

Akumulirani podaci upućuju na to da je povišen arterijski tlak u djetinjstvu najjači prediktor hipertenzije u odraslih i da je rizik od hipertenzije u odrasloj dobi najveći u adolescenata s arterijskim tlakom u najvišim percentilama. Za razliku od hipertenzije u odrasloj populaciji, definicija hipertenzije u djece je arbitrarna i temelji se na distribuciji arterijskog tlaka u populaciji određene dječje dobi, a ne na kardiovaskularnom riziku vezanom uz određenu vrijednost arterijskog tlaka (65). Dijagnostički kriteriji za hipertenziju u djece i adolescenata temelje se na konceptu da krvni tlak raste s godinama i veličinom tijela, što samim time onemogućuje korištenje unifromne vrijednosti krvnog tlaka za definiranje hipertenzije, kao što je to slučaj u odrasloj populaciji. Naime, hipertenzija u populaciji mlađoj od 16 godina definira se kao prisutnost sistoličkog i/ili dijastoličkog tlaka iznad 95. percentile za spol, dob i visinu, izmjerenog u najmanje tri odvojena navrata (65).

U slučaju pojave hipertenzije u ovoj dobi, ključni je korak isključiti sekundarne uzroke hipertenzije, ali valja naglasiti da je posljednjih godina učestalost primarne hipertenzije u djece u porastu (66). Iako hipertenzija u djece neće dovesti do pojave MACE-a, randomizirana klinička ispitivanja upućuju na kardioprotektivni i renoprotektivni utjecaj antihipertenzivne terapije čak i u toj dobi (67-69). Stoga, kako bi se dugoročno poboljšali ishodi, liječenje hipertenzije treba započeti već u dječjoj dobi (65). Promjene životnog stila vrlo su važne antihipertenzivne intervencije u djece, osobito u pretile djece s hipertenzijom (70). Izbor antihipertenziva trebao bi se temeljiti na podležućoj patofiziologiji hipertenzije i prisutnosti istodobnih poremećaja, a također se savjetuje da se prvo pokuša s monoterapijom te da se kombinacija antihipertenziva uvodi samo u slučaju nezadovoljavajućih rezultata liječenja. Cilj antihipertenzivne terapije u djece je sniziti vrijednosti arterijskog tlaka na razine niže od 95.



percentile, a još niže razine su preporučene ukoliko djeca boluju od šećerne bolesti i/ili KBB-a (65).

#### *1.1.2.2. Hipertenzija u starijoj dobi*

Neupitna je činjenica da se učestalost hipertenzije povećava s godinama (71). Štoviše, zbog značajnog porasta prevalencije hipertenzije s dobi, liječnici su dugo godina smatrali da je ista posljedica prirodnog tijeka te da se stoga povišene vrijednosti krvnog tlaka u starijih ljudi najčešće ne moraju liječiti antihipertenzivima. Ipak, akumulacijom dokaza ta je paradigma srušena, budući da se pokazalo da redukcija vrijednosti arterijskog tlaka smanjuje kardiovaskularni morbiditet i mortalitet čak i u skupini najstarijih bolesnika (72,73). Naime, recentna studija je pokazala da je bolja adherencija antihipertenzivima povezana sa smanjenjem kardiovaskularnog rizika čak i u skupini bolesnika starijih od 85 godina (74).

Ipak, liječenje hipertenzije u starijih bolesnika slabo se podnosi i nosi sa sobom određeni rizik. Naime, starija populacija češće ima komorbiditete koje primjena antihipertenziva može dodatno pogoršati (75). U prvom redu radi se o bubrežnom oštećenju, aterosklerotskoj bolesti krvnih žila te pojavi posturalne hipotenzije, a također nije zanemariva interakcija antihipertenziva s ostalom kroničnom terapijom koju učestalo primaju stariji bolesnici. Uz to, valja uzeti u obzir da većina randomiziranih kliničkih ispitivanja na koje se oslanjamo, govoreći o korisnosti i sigurnosti antihipertenziva, nije uključila ovu populaciju bolesnika, što treba imati u vidu pri propisivanju antihipertenziva u starijoj populaciji (> 65 godina).

Stoga, u starijih hipertenzivnih bolesnika pri liječenju hipertenzije valja uzeti u obzir sljedeće faktore: kliničko stanje bolesnika, komorbiditete (posebice ortostatsku hipotenziju) i kroničnu terapiju (1). U ovoj populaciji adekvantno je započeti primjenom monoterapije ili kombinacijom najnižih doza antihipertenziva. Zbog učestalosti pojave ortostatske hipotenzije,

preporuča se praćenje pojavnosti iste, po mogućnosti koristeći KMAT. Uz to, nadziranje renalne funkcije se također savjetuje zbog mogućeg utjecaja antihipertenziva na renalnu perfuziju, osobito u slučaju postojanja renalne disfunkcije prije uključanja terapije. Ciljne vrijednosti sistoličkog tlaka u ovih bolesnika su oko 130-140 mmHg, a niže vrijednosti se ne preporučaju zbog rizika od nuspojava. Konačno, ključna preporuka pri liječenju hipertenzije u starijoj populaciji je oprezno praćenje pojavnosti nuspojava, za koje očekujemo da će se pojavljivati češće nego se to čini iz randomiziranih kliničkih ispitivanja, budući da ista najčešće nisu uključila stariju populaciju bolesnika.

### 1.1.2.3. Rezistentna hipertenzija

Rezistentna hipertenzija podrazumijeva prisutnost povišenih vrijednosti krvnog tlaka (140/90 mmHg), izmjerenog kontinuiranim arterijskim mjerenjem tlaka ili mjerenjem tlaka izvan liječničke ordinacije, u bolesnika koji su liječeni preporučenom terapijom, a u kojih je adekvatna adherencija antihipertenzivima potvrđena (1). Preporučena strategija liječenja podrazumijeva promjenu životnih navika i korištenje tri antihipertenzivna lijeka od kojih je barem jedan iz skupine diuretika u optimalnim i maksimalno tolerirajućim dozama. Valja naglasiti da bolesnici s rezistentnom hipertenzijom imaju značajno goru prognozu, veći rizik od preuranjene kardiovaskularne bolesti, kroničnog bubrežnog zatajenja te hipertenzijom posredovanog oštećenja organa (engl. *hypertension-mediated organ damage, HMOD*) (76). Učestalost ovog oblika hipertenzije javlja se u manje od 10 % slučajeva, a čini se da neki autori precjenjuju pojavu rezistentne hipertenzije zbog neadekvatne distinkcije od bolesnika s pseudorezistentnom hipertenzijom (77). Naime, pseudorezistentna hipertenzija je fenomen u kojem osoba nema rezistentan oblik hipertenzije, ali se tako doima zbog jednog od navedenih razloga: nezadovoljavajuća adherencija, inertnost kliničara da titrira antihipertenzive do adekvatne doze, pogrešna tehnika mjerenja tlaka (ili neadekvatna aparatura), fenomen bijele

kute (zbog čega se i preporučaju KMAT ili mjerenje tlaka u kućnim uvjetima) i uznapredovala kalcifikacija brahijalnih arterija (1). Iznimno je važno u vidu pseudorezistentne hipertenzije naglasiti da je adherencija na terapiju obrnuto proporcionalna propisanom broju tableta, zbog čega uvijek treba težiti korištenju kombinacije lijekova u jednoj tableti (78).

Rezistentna hipertenzija obično se javlja u pretilih muškaraca starijih od 75 godina, u bolesnika s dugogodišnjom neliječenom hipertenzijom, u bolesnika s težim oblikom hipertenzije (pr. 3. stupanj hipertenzije), u bolesnika sa šećernom bolesti, u Afroamerikanca i u osoba koje unose više soli od preporučenog. Glavni uzroci koji doprinose razvoju rezistentne hipertenzije su neprepoznata sekundarna hipertenzija, korištenje lijekova i dodataka prehrani koji povisuju arterijski tlak, pretilost, prekomjeran unos alkohola i soli te prisutnost HMOD-a (79,80). Stoga, u bolesnika u kojih se utvrdi prisutnost rezistentne hipertenzije pomnim isključenjem pseudorezistentne hipertenzije, nužno je isključiti sekundarne oblike hipertenzije, a posebno primarni aldosteronizam (1).

Kako bi liječenje rezistentne hipertenzije bilo učinkovito, osim primjene antihipertenzivne terapije nužno je djelovati na promjenu životnih navika, u prvom redu reducirati unos soli te tjelesnu masu. U svrhu povećanja adherencije, smjernice preporučaju korištenje što manjeg broja tableta time da se koriste kombinacije lijekova u jednoj tableti. Nadalje, u bolesnika s rezistentnom hipertenzijom preporuča se uvođenje potentnijih tiazidima sličnih diuretika (npr. indapamid ili klortalidon), a ukoliko je eGFR < 30 mL/min, preporuča se uvođenje diuretika Henleove petlje (npr. furosemid) (1). Nadalje, liječenje rezistentne hipertenzije temelji se na dodatku inhibitora MR-a spironolaktona u niskoj dozi (do 50 mg/dnevno) (82-85). Nažalost, terapija spironolaktonom nepodnošljiva je u značajnog broja bolesnika zbog učestalih nuspojava poput ginekomastije i impotencije u muškaraca te menstrualnih nepravilnosti u žena (86). S obzirom na to da je spironolakton diuretik koji šteti kalij, primjena ovog lijeka kontraindicirana je u bolesnika koji imaju serumske razine kalija >

4,5 mmol/L. Uz to, u bolesnika s oštećenom renalnom funkcijom (eGFR < 45 mL/min) primjena spironolaktona nije preporučena zbog manjka dokaza o sigurnosti primjene (87). Iz istog razloga, bolesnicima liječenim spironolaktonom nužno je pratiti renalnu funkciju i serumske razine kalija po uvođenju terapije te nakon toga barem jednom godišnje (1). U slučaju pojave nepodnošljivih nuspojava spironolaktona vezanih uz reproduktivne hormone, moguće je spironolakton zamijeniti drugim inhibitorom MR-a (eplerenonom (50-100 mg/dnevno) ili inhibitorom ENaC-a amiloridom (10-20 mg/dnevno)). Uz to, noviji dokazi upućuju na to da beta blokator bisoprolol i alfa blokator doksazosin mogu biti razumne alternative u slučaju nepodnošljivosti gore navedenih lijekova (88). S druge strane, ne preporuča se primjena direktnih vazodilatatora, poput hidralazina i minoksidila, budući da dovode do refleksne tahikardije i zadržavanja tekućine (89,90). Uz to, zbog manjka dokaza također nije preporučeno liječenje rezistentne hipertenzije korištenjem invazivnih postupaka za redukciju tlaka poput renalne simpatičke denervacije osim u svrhu provođenja kliničkih ispitivanja (1).

### ***1.1.3. Tehnika mjerenja arterijskog tlaka***

#### ***1.1.3.1. Mjerenje arterijskog tlaka u ordinaciji***

Za mjerenje krvnog tlaka u liječničkoj ordinaciji poželjno je da se koriste auskultatorni, oscilometrijski poluautomatski ili automatski sfigmomanometri (1). Neovisno o tipu uređaja, svaki uređaj za mjerenje tlaka trebao bi biti validiran u skladu sa standardiziranim protokolima te redovito kalibriran. Pri inicijalnom mjerenju krvnog tlaka preporuča se isti izmjeriti na objema rukama. Ukoliko se vrijednosti sistoličkog tlaka dosljedno i značajno razlikuju između dvije ruke (tj. > 15 mmHg) ispravno je posumnjati na neku od vaskularnih bolesti (ateromatozna promjena na jednoj od arterija, koarktacija, disekcija aorte). Uz to, valja naglasiti da ukoliko je utvrđena razlika između tlakova, ruka s višim vrijednostima tlaka bi se trebala koristiti kao referentna.

Tlak mjereno u liječničkoj ordinaciji nerijetko ne predstavlja stvarne vrijednosti tlaka zbog raznih pogrešaka u mjerenju istog. Kao prvo, iako većina ordinacija koristi standardizirane instrumente, česta je pojava da se uređaji za mjerenje arterijskog tlaka neredovito kalibriraju. S druge strane, sama tehnika mjerenja tlaka s adekvatnom pripremom također se često ne poštuje u praksi. Smjernice za pravilno mjerenje arterijskog tlaka sažete su u **Tablici 4.**

**Tablica 4.** Smjernice za pravilno mjerenje arterijskog tlaka.

Preporuka
1. Pacijent mora mirno sjediti neprekriženih nogu barem pet minuta prije početka mjerenja
2. Potrebno je snimiti minimalno 3 mjerenja u razmaku od 1-2 minute (i više ako je razlika u mjerenjima veća od 10 mmHg ili u slučaju atrijske fibrilacije) uz računanje prosjeka
3. Potrebno je koristiti adekvatnu veličinu manžete
4. Manžetu je potrebno postaviti u visini srca ne bi li se anulirao utjecaj hidrostatskog tlaka
5. Ruka mora biti opuštena tijekom cijelog razdoblja
6. Potrebno je mjeriti tlak na obje ruke, a veći od dvije uzima se kao referentni
7. Potrebno je izmjeriti i puls kako bi se isključila prisutnost aritmija
8. U slučaju mjerenja auskultatornom metodom, faze I i V Korotkovljevihi šumova bi se trebale koristiti za određivanje sistoličkog i dijastoličkog tlaka
9. U slučaju sumnje na ortostatsku hipotenziju, preporuča se mjeriti tlak i u stojećem položaju

(Preuzeto i prilagođeno prema: Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M i sur.; ESC Scientific Document Group. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. Eur Heart J. 2018;39(33):3021-104)

S obzirom na to da nepravilno mjerenje uredskih vrijednosti arterijskog tlaka može dovesti do netočne klasifikacije, a time i do precjenjivanja stvarnog tlaka pacijenta i nepotrebnog liječenja (ali i podcjenjivanja s posljedičnim izostankom liječenja), nužno je držati se navedenih smjernica (1).

### 1.1.3.2. Kontinuirano mjerenje arterijskog tlaka (KMAT)

KMAT pruža uvid u vrijednosti arterijskog tlaka tijekom određenog vremena, uobičajeno 24 sata. Uređaji se postavljaju na način da snimaju tlak u intervalima od 15 do 30 minuta. Kako bi rezultati KMAT-a bili interpretabilni, potrebno je minimalno 70 % ispravnih mjerenja (1). U pravilu, prosječne vrijednosti tlaka mjerene ovom tehnikom očekivano su niže nego vrijednosti tlaka mjerene u ordinaciji, djelomično zbog očekivane redukcije tlaka tijekom noći, a djelomično zbog atenuacije efekta bijele kute. Definicija hipertenzije prema vrijednostima tlaka mjerenim KMAT-om navedena je u **Tablici 1**. Osim samih vrijednosti tlaka, dodatna informacija koju pruža KMAT je prisutnost noćnog pada tlaka, tzv. *dipping*. Naime, u dijela bolesnika s hipertenzijom ne dolazi do očekivanog pada tlaka tijekom noći od 10 %. Među rizične faktore za ovakav obrazac tlaka spadaju starija dob, debljina, OSA, autonomna disfunkcija, deprivacija sna, kronična bubrežna bolest, ali i mnogi drugi (91).

Akumulirani podaci upućuju na to da tlakovi mjereni uređajem za KMAT bolje koreliraju s kardiovaskularnim ishodima i hipertenzijom posredovanog oštećenja organa u odnosu na vrijednosti mjerene u liječničkoj ordinaciji (92,93). Uz to, velika prednost ove metode mjerenja je mogućnost dijagnosticiranja maskirane hipertenzije i hipertenzije bijele kute te utvrđivanje vrijednosti tlaka u svakodnevnim situacijama. S druge strane, glavni nedostaci ove metode su visoka cijena i nelagoda za bolesnika. U tom vidu, korisna zamjenska metoda je kućno mjerenje tlaka, koje iako ne nudi noćne vrijednosti tlaka i vrijednosti pri tjelesnoj aktivnosti, također može pomoći u dijagnozi maskirane hipertenzije i hipertenzije bijele kute.

## 1.2. Epidemiologija esencijalne hipertenzije

Arterijska hipertenzija predstavlja vodeći globalni čimbenik rizika za smrtnost i morbiditet. Prema izvješću Svjetske zdravstvene organizacije broj odraslih osoba koji boluje od hipertenzije se udvostručio u posljednjih 30 godina i ovom trenutku oko 1,3 milijarde ljudi u svijetu boluje od hipertenzije (94). Zabrinjavajuć je podatak što čak oko 580 milijuna od njih ne zna da boluje od hipertenzije, a čak 720 milijuna ne liječi hipertenziju. Štoviše, manje od 25 % žena, odnosno 20 % muškaraca s arterijskom hipertenzijom se adekvatno liječi od iste. Problem liječenja hipertenzije posebice se ističe u zemljama trećeg svijeta pa postoji izrazita diskrepanca između postotka liječenih osoba s hipertenzijom između tih zemalja i zemalja Zapada i Azijskih tigrova (95,96). Primjerice, u Ruandi, Keniji i Mozambiku se od hipertenzije liječi samo 11 % posto svih bolesnika s hipertenzijom, a u Južnoj Koreji čak 77 %. Zemlje u kojima hipertenzija zahvaća najmanji dio populacije su Švicarska, Eritreja i Peru. S druge strane, zemlje u kojima hipertenzija zahvaća najveći dio populacije su Paragvaj, Mađarska i Poljska (94). Hrvatska se nalazi na visokom osmom mjestu po prevalenciji hipertenzije u odrasloj populaciji (51 %) (94). Prema procjenama krovnih zdravstvenih organizacija, više od 15 % svih smrti u svijetu može se pripisati hipertenziji (oko 9,4 milijuna ljudi godišnje) (97).

Prema posljednjem izvješću o smrtnosti prema listi odabranih uzroka smrti u 2021. koje je u ožujku 2023. izdao Hrvatski zavod za javno zdravstvo (HZJZ), u Republici Hrvatskoj su u 2021. godini 23184 osobe (37 %) preminule kao posljedica kardiovaskularnih bolesti, čineći time najčešći uzrok smrti, unatoč tome što je udio smrti relativno pao u odnosu na 2020. godinu kad su kardiovaskularne bolesti dovele do 22817 smrti (40 %) (98). Među inim, vodeći uzrok kardiovaskularne smrti bila je ishemijska bolest srca (7893 osobe), koju su slijedili cerebrovaskularna bolest (5018 osoba) i akutni infarkt miokarda (3010 osoba). Iako izvješćem nije specifično naveden utjecaj hipertenzije na pojavnost kardiovaskularnih uzroka smrti, s obzirom na poznat utjecaj hipertenzije na razvoj ovih bolesti, za zaključiti je da je najviše ljudi

upravo umrlo kao posljedica hipertenzije. Unatoč prisutnosti trenda smanjenja smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti, u usporedbi s drugim europskim zemljama Hrvatska još uvijek spada među zemlje koje imaju veće stope smrtnosti od prosjeka Europske unije (EU). Naime, prosječna stopa smrtnosti za Hrvatsku iznosi 572,8/100000, a za zemlje EU27 367,6/100000. Korak naprijed u ovom vidu napravljen je prihvaćanjem Europskog plana za kardiovaskularno zdravlje kojem je cilj smanjiti broj preuranjenih smrti za jednu trećinu do 2030. godine (99).

### 1.3. Patofiziologija esencijalne hipertenzije

Unatoč mnoštvu prikupljenih podataka i brojnim pokušajima da se utvrdi točan uzrok i mehanizam esencijalne hipertenzije, još uvijek ne postoji jednostrano i potpuno objašnjenje zašto dolazi do arterijske hipertenzije i na koji se način održavaju visoke razine tlaka (100). Ipak, sudeći po dostupnim podacima, čini se da do esencijalne hipertenzije dovodi interakcija genetskih i bihevioralnih čimbenika (101). Pri raspravi o patofiziologiji esencijalne hipertenzije valja imati na umu da unatoč činjenici što nema jedinstvene etiopatogenetske „slike“ o esencijalnoj hipertenziji, promatranjem graničnih slučajeva možemo složiti pojedine fragmente o patofiziološkim mehanizmima u pozadini iste, a koji mogu imati terapijsko-prognostičke implikacije. Primjerice, govoreći o genetskim determinantama, epidemiološke studije upućuju da je podudarnost u pojavnosti hipertenzije veća u jednojajčanih nego u dvojajčanih blizanaca, veća u obiteljima nego među osobama koje nisu u srodstvu te veća među biološkom, nego posvojenom braćom i sestrama (102,103). Iako je genetskim čimbenicima pripisano čak 70 % slučajeva esencijalne hipertenzije, GWAS studije (engl. *genome-wide association studies*) utvrdile su osam lokusa povezanih s hipertenzijom, ali s ukupnom količinom učinka od oko 1 % (104). Očiti jaz utvrđen između procijenjene i promatrane uloge genoma, poznat i kao *missing heritability*, mogao bi biti objašnjen epigenetskim čimbenicima,



koji podrazumijevaju nasljeđivanje obrazaca ekspresije gena koji ne ovise striktno o razlikama u sekvenci DNK (105).

S druge strane, bihevioralni čimbenici također mogu imati značajan učinak na krvni tlak, akutnim i kroničnim mehanizmima. Primjerice, pušenje prolazno dovodi do povišenja arterijskog tlaka za 10 do 20 mmHg, što dovodi do povećanih prosječnih dnevnih tlakova u habitualnih pušača, a pušenje je također i neovisan rizični faktor za razvoj ateroskleroze (106). Utjecaj alkohola na arterijski tlak prati oblik J-krivulje (107). Naime, osobe koje umjereno konzumiraju alkoholna pića imaju niže tlakove od osoba koje uopće ne piju alkohol, ali ljudi koji prekomjerno piju alkohol (tri i više alkoholnih pića u danu) imaju više vrijednosti tlakova od obje navedene skupine (107). Utjecaj kofeina na arterijski tlak često je pogrešno percipiran u popularnoj kulturi, jer unatoč činjenici da kofein prolazno i minimalno povišuje krvni tlak, dugoročna konzumacija kave ne samo da je sigurna, već je i povezana s povoljnim kardiovaskularnim ishodima (108). Jedna od važnih bihevioralnih odrednica je i fizička aktivnost, a redovito provođenje iste značajno smanjuje arterijski tlak i uvjetuje bolju prognozu u bolesnika s hipertenzijom (109). Konačno, unos soli i prekomjerni unos kalorija su dvije najvažnije bihevioralne odrednice u patofiziologiji esencijalne hipertenzije. Primjerice, pokazano je na različitim populacijama da postoji snažna korelacija između indeksa tjelesne mase (ITM) i prevalencije hipertenzije, a tomu u prilog govori i činjenica da je čak 50 % te populacije pretilo (110). S druge strane, utjecaj prekomjernog unosa soli na razvoj esencijalne hipertenzije jedna je od glavnih i najuvjerljivijih teorija o patofiziologiji iste (111).

### ***1.3.1. Hemodinamski podtipovi esencijalne hipertenzije***

Tri su osnovna hemodinamska podtipa esencijalne hipertenzije: izolirana sistolička hipertenzija u mlađoj populaciji, dijastolička hipertenzija u odrasloj dobi te izolirana sistolička hipertenzija starije dobi (112).

Izolirana sistolička hipertenzija u mlađoj populaciji (od 17 do 25 godina) tipično se javlja puno češće u mladih muškaraca nego u mladih žena. Ključni patofiziološki mehanizmi u pozadini su povećanje minutnog volumena te povećanje krutosti aorte, a čini se da oba navedena mehanizma reflektiraju pojačanu aktivnost SŽS-a (112). Recentni podaci upućuju na to da je ova populacija pod povećanim rizikom od razvoja dugoročne dijastoličke hipertenzije, a time i gorih kardiovaskularnih ishoda (112).

Dijastolička hipertenzija u odrasloj dobi tipično se dijagnosticira između 30. i 50. godine i predstavlja uzorak „klasične hipertenzije“. Osim dijastoličkih vrijednosti arterijskog tlaka, također su često povišene i vrijednosti sistoličkog tlaka. Ovaj podtip hipertenzije također je češći u muškaraca, posebno pretilih. Temeljni hemodinamski problem je povišenje ukupnog otpora u sistemske cirkulaciji udruženog s neprimjereno „normalnim“ minutnim volumenom srca. Periferni otpor povećan je kao posljedica vazokonstrukcije na razini rezistentnih arteriola, koja je rezultat autoregulacijske reakcije glatkih mišića krvnih žila na povećanje volumena plazme (zbog nesposobnosti bubrega da izlučuje natrij) i povećanja neurohormonalne aktivacije (113).

Kako osobe stare, ponovno je sve češća pojavnost izolirane sistoličke hipertenzije (114). Štoviše, populacijski gledano, u razvijenim zemljama sistolički arterijski tlak kontinuirano raste s godinama, dok dijastolički tlak otprilike raste do 55. godine života, nakon čega kontinuirano pada. Smatra se da navedeno reflektira porast krutosti aorte (akumulacija kolagena i kalcija u stijenci aorte) i brži povratak reflektiranog pulsno vala s periferije, povećavajući sistolički tlak u aorti. Zanimljivo je da porast arterijske krutosti s godinama, koji obično smatramo „normalnim“, nije prisutan u populacijama izoliranim od urbanog stila života (pr. časne sestre Karmelićanke), predstavljajući tako još jedan „granični slučaj“ kojim nastojimo rasvijetliti patofiziologiju esencijalne hipertenzije (115). Za razliku od ostala dva podtipa, izoliranu sistoličku hipertenziju češće susrećemo u žena. Uz to, valja naglasiti da

izolirana sistolička hipertenzija obično nastaje *de novo*, a ne transformacijom dijastoličke hipertenzije (112).

### **1.3.2. Uloga renalnih mehanizama**

U brojnim eksperimentalnim i ljudskim modelima hipertenzije, temeljni poremećaj je stečeni i/ili nasljedni nedostatak u sposobnosti bubrega da izlučuje prekomjernu količinu natrija koju nameće moderna prehrana s visokim udjelom soli (116). Ta činjenica nije iznenađujuća kada uzmemo u obzir da su ljudi evoluirali u okruženju s niskim udjelom natrija te visokim udjelom kalija (117). Mnogi autori smatraju da je upravo to ključ pandemijskog razmjera esencijalne hipertenzije. U tom vidu, pripadnici Amazonskih plemena (čiji obrasci prehrane odgovaraju pretcima modernog čovjeka) gotovo da uopće ne znaju za esencijalnu hipertenziju. Međutim, kada te iste populacije započnu sa „zapadnjačkim“ tipom prehrane, većina dobije hipertenziju (117). Čini se da su se evolucijski bubrezi razvili da čuvaju natrij (jer ga je u prehrani bilo malo), a da odstranjuju kalij (kojeg je bilo relativno puno). Ova saznanja imaju i relevantne terapijske implikacije. Naime, projekcije upućuju na to da bi ukoliko bismo smanjenjem na industrijskoj razini smanjili prosječni dnevni unos soli na 3 g, bilo 44 do 92 tisuće smrti manje te 50 do 100 tisuća infarkta miokarda manje na razini godine i to samo na području SAD-a (118).

U bolesnika s hipertenzijom krivulja tlačne natriureze resetira se na više razine arterijskog tlaka, a u hipertenziji osjetljivoj na opterećenje solju, krivulja je manje strma, što upućuje na to da će arterijski tlak ovisiti o unosu soli. Hipertenziji ovisnoj o soli posebno su podložne osobe sa smanjenom bubrežnom funkcijom i osobe niske porođajne mase (119).

### **1.3.3. Uloga hormonalnih mehanizama**

Disfunkcija RAAS-a jedna je od temeljnih teorija u patofiziologiji esencijalne hipertenzije (120). Kako aktivacija RAAS-a predstavlja kompenzacijski mehanizam koji se protivi hipovolemiji i hipotenziji, očekivali bismo da će osobe koje unose prekomjerne količine soli i koje imaju veći arterijski tlak imati suprimiran RAAS. Ipak, tomu nije tako, što nas upravo upućuje na ulogu RAAS-a u razvoju hipertenzije. Štoviše, u normotenzivnih osoba, rizik za razvoj hipertenzije raste s plazmatskim razinama aldosterona (121).

Još uvijek nije etabliровано zašto točno dolazi do takve neadekvatne aktivacije, ali je zato dobro utvrđeno da komponente RAAS-a imaju brojne efektorske mehanizme kojima povisuju krvni tlak, ali i potiču razvoj HMOD-a. Primjerice, osim stimulacije ekspresije ENaC-a i povećanja zadržavanja soli i vode, aldosteron putem mineralokortikoidnih receptora sudjeluje u procesu vaskularnog remodeliranja, ali i remodeliranja srca, čime doprinosi razvoju hipertenzijom uzrokovanog zatajenja srca (122). Slično aldosteronu, angiotenzin II također ima brojne negativne efekte koji počivaju na pro-inflamatornom i pro-fibrotičkom djelovanju te povećanju oksidativnog stresa na stanice (123). Osim u posredovanju bubrežnog oštećenja i razvoju srčane disfunkcije, angiotenzin II ima ulogu i u razvoju inzulinske rezistencije (124). Unatoč obećavajućim rezultatima liječenja hipertenzije RAAS blokadom, čini se da bi kardiovaskularni benefiti ACE inhibitora i sartana bili još veći da nema kompenzatorne aktivacije renin-proreninskih receptora (RPR). Naime, inhibicijom RAAS-a dolazi do povećanja prorenina u plazmi za oko 100 puta, a aktivacija spomenutih RPR-ova čini se ima sličan učinak kao aktivacija angiotenzinskih receptora (stimulacija fibroze i upale) (125). Ovaj efekt još je više naglašen pri korištenju aliskirena, direktnog inhibitora renina (126).

#### **1.3.4. Uloga vaskularnih mehanizama**

Mikrovaskularne i makrovaskularne promjene igraju ključnu ulogu u održavanju arterijske hipertenzije (127). Zdravi endotel jedan je od glavnih obrambenih mehanizama tijela protiv hipertenzije (128). Povećanjem stresa na endotel i pojavom disfunkcijom endotela, endotel iz „obrambenog“ fenotipa postaje jedan od najvećih kontributora progresije kardiovaskularne bolesti (128). Endotelna disfunkcija popraćena je aktivacijom pro-inflamatornih, pro-trombotskih i pro-fibrotskih nizvodnih signala koji sudjeluju u procesu remodeliranja krvnih žila, ali i doprinose razvoju HMOD-a. Endotelna disfunkcija, neurohumoralna aktivacija i same povišene vrijednosti tlaka s vremenom dovode do tzv. vaskularnog remodeliranja (127,128). Ovaj proces je različit u krvnim žilama različite veličine (129). Primjerice, u malim krvnim žilama dolazi do eutrofičnog remodeliranja u kojem dolazi do zadebljanja stijenke krvne žile uz smanjenje unutarnjeg promjera, što dovodi do povišenja perifernog otpora. Upravo ovaj mehanizam objašnjava kako hipertenzija može dovesti do trajnog povišenja tlaka, jer inicijalna noksa ne mora uključivati krvne žile, ali nakon određenog vremena, eutrofično remodeliranje će dovesti do trajnog povišenja TPR-a, neovisno o primarnoj noksi. S druge strane, u velikim krvnim žilama dolazi do hipertrofije medije, uz relativno očuvan lumen (hipertrofično remodeliranje), a uz to, kao posljedica povećane ekspresije TGF- $\beta$  dolazi do povećanog nakupljanja kolagena i povećanja arterijske krutosti (129).

#### **1.3.5. Uloga neuralnih mehanizama**

O doprinosu neuralnih mehanizama u razvitku esencijalne hipertenzije posljednjih se godina dosta saznalo implementacijom invazivnih postupaka u liječenju hipertenzije. U početku se činilo da su neuralni mehanizmi ključni u patofiziologiji esencijalne hipertenzije, ali poražavajući rezultati kliničkih studija koje su se temeljile na takvim saznanjima, doveli su

do zaključka da iako prisutna, uloga neuralnih mehanizama u esencijalnoj hipertenziji je mnogo složenija nego se činilo (100).

Glavne intervencije u tom vidu su elektrostimulatori karotidnih baroreceptora i simpatička renalna denervacija. Elektrostimulator karotidnih receptora temelji se na odašiljanju aferentnih signala koje moždano deblo interpretira kao porast arterijskog tlaka, aktivirajući time kompenzacijske mehanizme usmjerene smanjenju tlaka (bradikardija, vazodilatacija, smanjeno otpuštanje renina) (130). Unatoč nedvojbenoj ulozi u kratkoročnoj regulaciji arterijskog tlaka, uloga samih baroreceptora u dugoročnoj regulaciji tlaka je upitna (131). U esencijalnoj se hipertenziji čini da se baroreceptori resetiraju na način da „brane“ više arterijske tlakove (131). Uz to, u slučaju disfunkcije baroreceptora javlja se karakteristična fluktuacija arterijskog tlaka: ortostatska hipotenzija, postprandijalna hipotenzija, ali i pojava hipertenzije u ležećem položaju (132).

Renalna simpatička denervacija se temelji na kateterskoj ablaciji simpatičkih vlakana oko renalne arterije što u teoriji dovodi do dvojakog benefita: 1) smanjenog aferentnog odašiljanja iz bubrega u moždano deblo i posljedične smanjene simpatičke aktivacije; 2) smanjenog eferentnog signaliziranja SŽS-a u bubreg i posljedičnog smanjenog zadržavanja soli i vode te inhibicije bubrežnog lučenja renina (27-29,133). Postoji više teorija zašto navedene intervencije pokazuju (ili ne pokazuju) vrlo različite efekte na tlak u različitim ispitanika, od onih vezanih uz samu intervenciju (npr. neuspješna ablacija) do teorija vezanih uz patofiziologiju (npr. dugotrajna hipertenzija je dovela do sekundarnih promjena na krvnim žilama (29).

Osim u mladih bolesnika s hipertenzijom u kojih često nalazimo povišenu frekvenciju, minutni volumen, povećane razine kateholamina u urinu i plazmi te pojačanu simpatičku aktivaciju, pojačana aktivnost SŽS-a važna je i u patofiziologiji esencijalne hipertenzije u pretilih bolesnika. Smatra se da u toj populaciji pojačana aktivacija SŽS-a predstavlja

svojevrstu kompenzaciju za topljenje masti (134). Uz to, čini se da postoji dvosmjerna uloga između inzulinske rezistencije i pojačane aktivacije SŽS-a, što je ekstenzivno istraživano u okviru razvoja metaboličkog sindroma (135).

#### **1.4. Dijagnostička obrada bolesnika s esencijalnom hipertenzijom**

Temeljna svrha kliničke evaluacije bolesnika s hipertenzijom je utvrđivanje dijagnoze i stupnja hipertenzije. Nadalje, ciljevi dijagnostičke obrade također uključuju pronalazak mogućih sekundarnih uzroka hipertenzije, identifikaciju čimbenika koji potencijalno pridonose razvoju esencijalne hipertenzije poput stila života, lijekova (pr. ciklofosamid) ili obiteljske anamneze, utvrđivanje popratnih kardiovaskularnih čimbenika rizika i konačno, identifikaciju HMOD-a te postojeće kardiovaskularne, cerebrovaskularne ili bubrežne bolesti (1).

##### **1.4.1. Anamneza bolesnika s hipertenzijom**

Svim novootkrivenim bolesnicima s hipertenzijom nužno je uzeti iscrpnu anamnezu s posebnim naglaskom na sljedeće rizične faktore (1):

1. Vrijeme proteklo od prve dijagnoze hipertenzije uzimajući u obzir evidenciju bilo kojeg prethodnog medicinskog pregleda, hospitalizacije, sistematskog pregleda, kućnog mjerenja tlaka;
2. Trenutne, ali i prethodno zabilježene vrijednosti krvnog tlaka;
3. Trenutne i prethodno primjenjene antihipertenzive;
4. Sve druge lijekove, s posebnim naglaskom na lijekove koji se povezuju s povišenim krvnim tlakom (npr. kortikosteroidi, ciklofosamid, antidepresivi, oralni kontraceptivi...);
5. Upotrebu dodataka prehrani koji mogu dovesti do hipertenzije (npr. slatkog korijena koji dovodi do pseudoaldosteronizma);

6. Obiteljsku anamnezu u vidu učestalosti hipertenzije, ali i kardiovaskularnih bolesti, moždanog udara i bolesti bubrega;
7. Procjenu životnog stila, uključujući učestalost tjelesne aktivnosti, dinamiku tjelesne mase, prehrambene navike, pušenje, unos alkohola, upotrebu rekreativnih droga, anamnezu spavanja te seksualnu funkciju;
8. Prisutnost popratnih kardiovaskularnih čimbenika rizika;
9. Prisutnost komorbiditeta;
10. Specifičnu anamnezu koja upućuje na moguću sekundarnu hipertenziju (**Tablica 2**);
11. Povijest prijašnjih trudnoća;
12. Menopauzu i eventualnu primjenu hormonske nadomjesne terapije.

Nadalje, pri kliničkoj obradi bolesnika vrlo je važno procijeniti adherenciju antihipertenzivnim lijekovima i ispitati moguće simptome koji upućuju na razvoj HMOD-a, srčane, periferne arterijske i cerebrovaskularne bolesti te kronične bubrežne bolesti. Primjeri simptoma od interesa u tom vidu uključuju prisutnost anginoznih bolova, perifernih edema, dispneje, povijesti koronarne i karotidne revaskularizacije, klaudikacija, fibrilacije, tranzitornih ishemijskih ataka, preuranjene demencije, senzornih i motornih deficita, sinkopa, poliurije, nokturije i mnogih drugih.

#### ***1.4.2. Klinički pregled i laboratorijska obrada bolesnika s hipertenzijom***

Najvažniji aspekt kliničkog pregleda bolesnika s hipertenzijom svakako je mjerenje arterijskog tlaka uvažavajući već spomenuta pravila. Osim toga, inicijalna procjena tjelesne visine i mase, a po mogućnosti i opsega struka i bokova, također je preporučena kao dio obrade bolesnika s hipertenzijom. Drugi važan aspekt kliničkog pregleda je prepoznavanje znakova oštećenja organa posredovane hipertenzijom koji uključuje (1):



1. Neurološki pregled i procjenu kognitivnog zdravlja;
2. Fundoskopiju (procjena hipertenzivne retinopatije);
3. Palpaciju perifernih arterija (procjena stenoze);
4. Auskultaciju srca i karotida.

Konačno, detaljnim kliničkim pregledom moguće je utvrditi prisutnost arterijske hipertenzije sekundarne etiologije. Primjerice, šum nad dijelom abdomena u projekciji renalne arterije ponekad se čuje u bolesnika sa stenozom renalne arterije. U slučaju koarktacije, ponekad se o istoj može zaključiti na temelju različitih vrijednosti arterijskog tlaka (i snage pulsa) između lijeve i desne ruke ili između ruku i nogu (136). Nadalje, neke endokrine hipertenzije imaju karakteristične fenotipske karakteristike pa se tako Cushingova bolest može prezentirati karakterističnim oznakama poput bivolje grbe, lividnih strija te lica poput mjeseca, a u bolesnika s Gravesovom bolesti moguće je uočiti fizikalne znakove poput egzoftalmusa, crvenila i tremora (137,138).

Uz klinički pregled, integralni dio procjene bolesnika s hipertenzijom uključuje snimanje 12-kanalnog EKG-a i uzimanje uzoraka krvi i urina. Osnovna laboratorijska obrada bolesnika s hipertenzijom prikazana je u **Tablici 5**.

**Tablica 5.** Osnovna laboratorijska obrada bolesnika s hipertenzijom.

Laboratorijska pretraga
Kompletna krvna slika
Glukoza u krvi i HbA <sub>1c</sub>
Ukupni kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, trigliceridi
Elektroliti: natrij i kalij u serumu
Urati u serumu
Parametri jetrene funkcije: AST, ALT, GGT, albumini
Urea i kreatinin u serumu uz procjenu glomerularne filtracije
Analiza sastava urina: mikroskopski pregled sedimenta urina, proteinurija, utvrđivanje omjera albumin:kreatinin

Kratice: HbA<sub>1c</sub>: hemoglobin A1c; LDL: lipoprotein niske gustoće; HDL: lipoprotein visoke gustoće; AST: aspartat transaminaza; ALT: alanin transaminaza; GGT: gama-glutamil transferaza (Preuzeto i prilagođeno prema: Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M i sur.; ESC Scientific Document Group. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. Eur Heart J. 2018;39(33):3021-104)

### 1.5. Liječenje bolesnika s esencijalnom hipertenzijom

Liječenje esencijalne hipertenzije temelji se na primjeni antihipertenzivnih lijekova i promjeni životnog stila bolesnika. Osim toga, posljednjih godina posebnu pozornost je privukla primjena invazivnih intervencija usmjerenih k snižavanju arterijskog tlaka, u prvom redu spomenuta simpatička renalna denervacija i stimulacija karotidnih receptora. Unatoč obećavajućim pivotalnim studijama, noviji podaci upućuju na limitiranu korisnost istih, zbog čega recentne smjernice ne zagovaraju korištenje navedenih intervencija u zbrinjavanju bolesnika s arterijskom hipertenzijom, osim u svrhu provođenja randomiziranih kliničkih ispitivanja (1).

Sukladno razlikama između vodećih stručnih udruženja u definiciji hipertenzije, terapijski ciljevi se također ponešto razlikuju, pa je tako prema ACC/AHA smjernicama preporučena ciljna vrijednost arterijskog tlaka 130/80 mmHg, a prema ESC/ESH 140/90

mmHg, s naglaskom da je u izostanku nuspojava poželjno ciljati vrijednosti od 130/90 mmHg (1,5).

### 1.5.1. Promjene životnih navika

Promjene životnih navika predstavljaju temelj liječenja hipertenzije. Štoviše, u hipertenziji prvog stupnja, za većinu bolesnika prikladno je započeti „liječenje“ hipertenzije isključivo mijenjanjem životnih navika. Glavne promjene životnih navika korištene u hipertenziji uključuju promjenu prehrambenih navika, redukciju tjelesne mase, povećanje tjelesne aktivnosti, prestanak pušenja i redukciju unosa alkohola (1).

Tradicionalni pristup u istraživanju utjecaja prehrane na tlak obično je bio fokusiran na specifične namirnice (npr. Kakav je utjecaj češnjaka na tlak?). Posljednjih se godina takva paradigma promijenila, te je fokus postavljen na utvrđivanje kompletnih obrazaca prehrane koji mogu doprinijeti smanjenju tlaka, ali i poboljšati kardiovaskularne ishode bolesnika s hipertenzijom. DASH (engl. *Dietary Approaches to Stop Hypertension*) i Mediteranska dijeta konzistentno su pokazale najpovoljnije karakteristike u tom vidu (139). Mediteranska dijeta temelji se na malom unosu šećera, mesa i zasićenih masnoća, a relativno većem unosu ribe, grahorica, voća i povrća te maslinovog ulja (140-142). Iako korijene vuče iz zemalja Mediteranskog bazena, ovaj obrazac prehrane iznimno je malo prevalentan na području Hrvatske, usprkos činjenici da je već 6. godinu za redom proglašena najboljom dijetom s aspekta kardiovaskularnog zdravlja (143). Slično Mediteranskoj dijeti, DASH dijetu karakterizira visok unos voća i povrća, ribe, orašastih plodova te hrane bogate kalijem i magnezijem, uz malen unos zasićenih masnoća, crvenog mesa i soli natrijeva klorida (144). Istraživanja pokazuju da DASH i Mediteranska dijeta same mogu smanjiti sistolički tlak za oko 5 mmHg (145,146). Od prehrambenih navika, vrlo je važna upravo redukcija soli, posebno u hipertenziji ovisnoj o soli, a recentne smjernice preporučuju unos soli manji od 5 grama

dnevno (odnosno manje od 2 grama natrija) (1). Skupine koje najviše profitiraju od ovakve redukcije su bolesnici s KBB-om, bolesnici sa šećernom bolesti, Afroamerikanci i starija populacija. S obzirom na to da unos alkohola i tlaka povezuje J-krivulja, smjernice ne preporučaju potpuno ukidanje alkohola, već ograničavanje unosa na 14 jedinica tjedno (1 jedinica = 125 mL vina/250 mL piva/30 mL žestokog pića) (1). Konačno, utjecaj raznih dodataka prehrani, uključujući i kanabinoide, posljednjih je godina ekstenzivno istraživan kao posljedica izrazito povećanog korištenja suplemenata u općoj populaciji (139). Ipak, snaga dokaza za niti jedan suplement trenutno dostupan na tržištu nije dovoljno jaka da se preporuči smjernicama.

Redukcija tjelesne mase predstavlja jedan od najvažnijih ciljeva u zbrinjavanju bolesnika s esencijalnom hipertenzijom (1). Prema velikoj meta-analizi, redukcija tjelesne mase od 5,1 kg dovela je do smanjenja tlaka 4,4/3,6 mmHg (147). Iako je teško utvrditi optimalan ITM, smjernice preporučaju da se ITM održava između 20 i 25 kg/m<sup>2</sup>, a opseg struka manjim od 94 cm za muškarce i manjim od 80 cm za žene (1). Valja naglasiti da u prekomjerno pretilih bolesnika ne treba zazirati od farmakoloških i kirurških intervencija usmjerenih k redukciji tjelesne mase. Ipak, najkorisniji način redukcije tjelesne mase upravo je povećanje tjelesne aktivnosti, budući da tjelovježba akutno dovodi do sniženja tlaka (za vrijeme same tjelovježbe je tlak visok, uz cjelodnevno smanjenje nakon vježbanja), ali i da dugoročno nudi dodatne kardiovaskularne benefite. Dokazi upućuju na to da je u bolesnika s hipertenzijom korisno pet do sedam puta tjedno provoditi dinamičku tjelovježbu umjerenog intenziteta u trajanju od 30 minuta (trčanje, brzo hodanje, plivanje), uz napomenu da postepeno povećanje tjednog volumena treninga na 300 minuta/tjedno nudi dodatni benefit (109,148).

Konačno, iako utjecaj pušenja duhana na sam krvni tlak nije odveć značajan, ukidanje pušenja je jedna od najvažnijih intervencija u bolesnika s hipertenzijom s aspekta sprječavanja

neželjenih kardiovaskularnih ishoda, budući da je sama hipertenzija rizični faktor za razvoj infarkta miokarda, moždanog udara i periferne arterijske bolesti značajniji od pušenja (149).

## **1.5.2. Antihipertenzivna terapija**

### 1.5.2.1 Podjela antihipertenzivnih lijekova

Postoji 5 temeljnih skupina antihipertenzivnih lijekova: ACE inhibitori, blokatori angiotenzinskih receptora (sartani), beta blokatori, blokatori kalcijevih kanala i diuretici. Trenutno ne postoji skupina za koju je dokazan veći kardiovaskularni benefit i/ili redukcija ukupne smrtnosti, zbog čega svih 5 skupina mogu biti korištene u liječenju hipertenzije (1,5). Ipak, ono što valja uzeti u obzir pri propisivanju istih su potencijalne kontraindikacije i nuspojave te specifične karakteristike bolesnika u kojih primjena neke od skupina može pružiti dodatnu korist.

ACE inhibitori i blokatori angiotenzinskih receptora najčešće su propisivani antihipertenzivi, što je rezultat povoljnog sigurnosnog profila i dobro etabliranog utjecaja na kardiovaskularne ishode (150). Nadalje, ove skupine lijekova jedine dokazano smanjuju rizik od razvoja uznapredovale KBB (151). Osim renoprotektivnih učinaka, inhibitori RAAS-a također smanjuju incidenciju atrijske fibrilacije, vjerojatno kao posljedica pozitivnog učinka na remodeliranje srca (152,153). Glavne kontraindikacije za primjenu ACE inhibitora uključuju trudnoću, hereditarni angioedem, hiperkalijemiju i bilateralnu stenozu renalne arterije, a sartani su kontraindicirani u trudnoći, hiperkalijemiji i bilateralnoj stenozu renalne arterije (154,155). Od nuspojava, liječenje ACE inhibitorima često dovodi do kašlja i povisuje šansu za razvoj angioedema i hiperkalijemije (154). Valja naglasiti da se blokatori angiotenzinskih receptora podnose nešto bolje od ACE inhibitora budući da nema kašlja (155). Uz to, za spomenuti je da je kombinacija ova dva lijeka kontraindicirana budući da je povezana

s gorim renalnim ishodima, hipotenzijom i hiperkalijemijom, a bez dodatnog benefita na MACE (156).

Blokatori kalcijevih kanala najčešće se propisuju u fiksnim kombinacijama s ACE inhibitorima, a imaju relativno siguran sigurnosni profil (157). Posebnu ulogu imaju u prevenciji moždanog udara gdje im dobrobit nadilazi utjecaj na tlak, ali valja istaknuti da imaju nešto nižu protekciju u vidu sprečavanja srčanog zatajenja i KBB-a (158,159). Glavne kontraindikacije za primjenu ovih lijekova su uznapredovali sinoatrijski i atrioventrikularni blokovi, značajna bradikardija i teška sistolička disfunkcija srca (ejekcijska frakcija < 40 %), a od nuspojava se često susreću edemi nogu ovisni o dozi (160).

Tiazidni i tiazidima slični diuretici jedni su od najranije korištenih antihipertenziva. Učinkovitost u prevenciji MACE-a dobro je etablirana, a unatoč inicijalnim pretpostavkama o većoj učinkovitosti tiazidima sličnih diuretika, recentni podaci upućuju da tomu nije tako (161,162). Osim prolaznog diuretskog efekta, smatra se da je hipotenzivni učinak ovih lijekova održan vazodilatacijom (163). Sigurnosni profil ovih lijekova je siguran, a od nuspojava u prvom redu ističu se hipokalijemijska metabolička alkalozna, hiponatrijemija, hiperkalcijemija, erektilna disfunkcija, poremećaj urata i hiperglikemija (163). Primjena ovih lijekova stoga je kontraindicirana u bolesnika s gihtom, a relativne kontraindikacije uključuju hipokalijemiju, hiperkalcijemiju, metabolički sindrom i šećernu bolest te trudnoću (164).

Podaci upućuju na to da su beta blokatori inferiorni drugim antihipertenzivima u prevenciji neželjenih kardiovaskularnih ishoda, posebice moždanog udara (165). Ipak, beta blokatori su pronašli svoju primjenu u hipertenziji u specifičnim situacijama poput hipertenzivnih kriza (i.v. esmolol/labetalol), trudnoći i žena fertile dobi koje žele zatrudniti (ACE inhibitori kontraindicirani), atrijskoj fibrilaciji, simptomatskoj angini, nakon preboljenja infarkta miokarda (1,5)... Kontraindikacije za primjenu ovih lijekova uključuju bradikardiju, uznapredovale smetnje provođenja i astmu. Uz to, zbog kronotropne inkompetencije ne

preporučaju se u sportaša, a s obzirom na to da dovode do nakupljanja tjelesne mase i da imaju negativne metaboličke efekte (posebno ako su udruženi s tiazidima), ne preporučaju se ni u bolesnika s metaboličkim sindromom (166).

Među ostalim lijekovima koji se koriste u specifičnim situacijama u liječenju hipertenzije valja istaknuti alfa blokatore koji se koriste u perioperativnoj pripremi bolesnika s feokromocitomom (fenoksibenzamin), alfa 2 agoniste koji se koriste u hipertenzivnim krizama u trudnoći, inhibitore mineralokortikoidnih receptora koji su temelj liječenja rezistentne hipertenzije te direktne vazodilatatore koji se koriste u liječenju preeklampsije i hipertenzivnih kriza (167-170).

#### 1.5.2.2 Algoritmi liječenja hipertenzije i ciljne vrijednosti tlaka

Preporuke vodećih stručnih udruženja suglasne su oko uvođenja terapije antihipertenzivima u bolesnika s hipertenzijom drugog i trećeg stupnja te u bolesnika s hipertenzijom prvog stupnja u bolesnika s visokim kardiovaskularnim rizikom (1,5). S druge strane, manje je usklađenosti u vezi preporuka bolesnicima s hipertenzijom prvog stupnja, bolesnicima s niskim kardiovaskularnim rizikom i bolesnicima starijim od 60 godina. Glavni uzrok ove neizvjesnosti leži u činjenici da su niskorizični bolesnici s visoko normalnim krvnim tlakom ili hipertenzijom 1. stupnja rijetko uključeni u randomizirana klinička ispitivanja, a da su takva ispitivanja među populacijom starijih bolesnika uvijek regrutirala bolesnike najmanje 2. stupnja hipertenzije. Posljednjih godina se akumulirala značajna količina podataka koja adresira ovaj problem (171-176). Na temelju tih podataka, radna skupina ESC-a zaključila je da je razumno ponuditi liječenje antihipertenzivima svim bolesnicima s hipertenzijom prvog stupnja neovisno o kardiovaskularnom riziku (ukoliko ne dođe do smanjenja promjenama životnog stila). S druge strane, bolesnicima s visoko-normalnim vrijednostima tlaka treba savjetovati higijensko-dijetetske mjere usmjerene redukciji tlaka, a primjeni antihipertenziva

treba se prikloniti ukoliko vrijednosti arterijskog tlaka ostaju perzistentno visoke unatoč intervencijama u vidu životnog stila ili u bolesnika s visokim kardiovaskularnim rizikom. Konačno, za bolesnike starije od 80 godina smatra se prikladnim uključiti terapiju ukoliko su vrijednosti arterijskog tlaka veće od 160/90 mmHg (1).

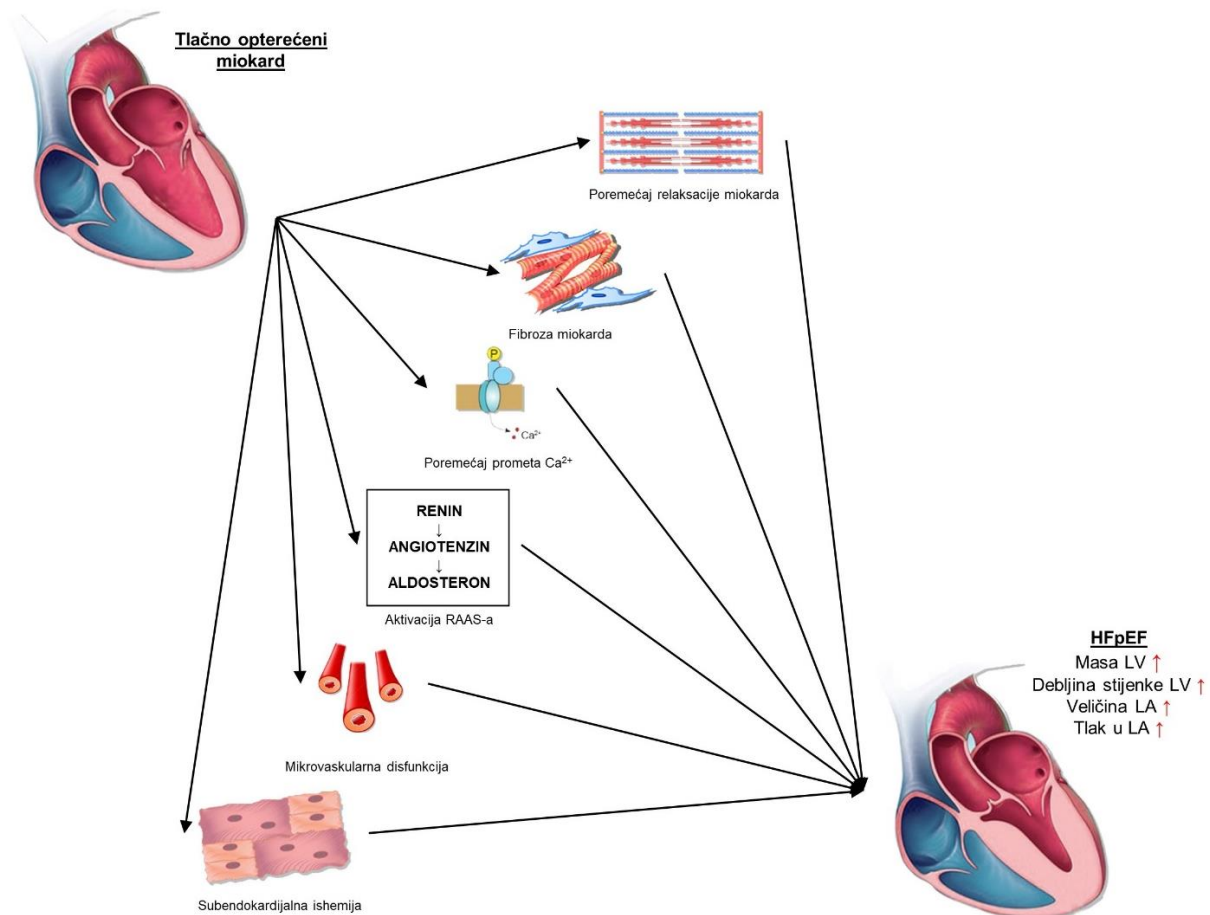
Konačne ciljne vrijednosti sistoličkog tlaka za većinu bolesnika u izostanku nuspojava trebale bi biti niže od 130 mmHg, ali ne niže od 120 mmHg, a dijastoličkog tlaka manje od 80 mmHg. S druge strane, u bolesnika starijih od 65 godina i bolesnika s KBB-om preporučeno je održavati sistolički tlak u rasponu od 130-139 mmHg.

Najnovije smjernice također preporučaju započeti antihipertenzivnu terapiju kombinacijom dva antihipertenziva, a ne monoterapijom (1,177,178). Preporučena inicijalna kombinacija uključuje ACE inhibitor/sartan i blokator kalcijevih kanala/diuretik, a poželjno je koristiti lijekove u fiksnoj kombinaciji u jednoj tableti zbog postizanja bolje adherencije. Iznimka od ovog pravila su bolesnici s vrijednostima krvnog tlaka bliskima ciljnim vrijednostima (posebno mladi) i vrlo stari, fragilni bolesnici u kojima uvođenje dualne terapije nosi sa sobom i rizik od nuspojava. U slučaju neuspjeha kombinacije dva antihipertenziva pri maksimalnim dozama, preporučeno je uključiti treći antihipertenziv. Konačno, u slučaju rezistentne hipertenzije preporuča se daljnja obrada te uvođenje blokatora mineralokortikoidnih receptora (1).



## 1.6. Posljedice arterijske hipertenzije i prognoza bolesnika s hipertenzijom

Arterijska hipertenzija ima brojne negativne posljedice na organizam, primarno na kardiovaskularni sustav i bubrege, dok je utjecaj hipertenzije na srce višesmjernan (179). Za početak, hipertenzija dovodi do povećanja tlačnog opterećenja na srce, koje generira veću sistoličku napetost, a time povisuje potrošnju kisika u miokardu čineći ga povećano sklonim razvoju ishemije (180). Kao obrambeni mehanizam, u tlačno opterećenom srcu dolazi do povećane sinteze proteina i paralelne sarkomerogeneze, što dovodi do koncentrične hipertrofije miokarda (zadebljana klijetka uz smanjeni volumen) (180). Sama hipertrofija povezana je s narušenjem dijastoličke disfunkcije zbog konkomitantnog poremećaja prometa unutarstaničnog kalcija i činjenice da hipertrofija nije adekvatno popraćena vaskulogenezom. Uz to, povećano tlačno opterećenje miokarda potiče ekspresiju pro-fibrotskih i pro-inflamatornih staničnih putova koji dugoročno vode u fibrozu i mikrovaskularnu disfunkciju te time doprinose razvoju dijastoličke disfunkcije (181). Mikrovaskularna disfunkcija u hipertenzivnom srcu karakterizirana je normalnim protokom u mirovanju, ali uz značajno smanjenu koronarnu rezervu (182). Oštećenju tlačno opterećenog miokarda dodatno pridonose i komponente RAAS-a (primarno angiotenzin II i aldosteron), što objašnjava kardiovaskularne benefite ACE inhibitora i sartana neovisne o vrijednostima krvnog tlaka (150,155). Svi navedeni mehanizmi objašnjavaju zašto je upravo hipertenzija glavni uzrok srčanog zatajenja s očuvanom ejeckijskom frakcijom (engl. *heart failure with preserved ejection fraction*, HFpEF) (**Slika 2**). Uz to, valja naglasiti da hipertenzija predstavlja i neovisni rizični čimbenik za razvoj fibrilacije atrijske, a također je i važna u patofiziologiji razvoja disekcije aorte (179).



**Slika 2.** Patofiziološki mehanizmi kojim dugotrajno tlačno opterećenje u sklopu arterijske hipertenzije dovodi do zatajenja srca. Kratice: HFpEF: zatajenje srca s očuvanom ejijskom frakcijom (engl. *heart failure with preserved ejection fraction*); LV: lijevi ventrikl; LA: lijevi atrij; RAAS: renin-angiotenzin-aldosteronski sustav. (originalna ilustracija autora)

Nadalje, hipertenzija je važan uzrok oštećenja samih arterija, što djelomično objašnjava mehanizam održavanja visokog tlaka neovisno o uklanjanju uzroka, ukoliko dovoljno vremena prođe od indeksnog povišenja tlaka (127,129). Spomenutom kombinacijom endotelne disfunkcije, neurohumoralne aktivacije i samih povišenih vrijednosti tlaka, u arterijama dolazi do vaskularnog remodeliranja (127,129). U malim krvnim žilama to dovodi do smanjenja dijametra, što je jedan od mehanizama u podlozi patofiziologije KBB-a u bolesnika s hipertenzijom, ali i koronarne i periferne arterijske bolesti. S druge strane, u velikim krvnim žilama kao posljedica povećane ekspresije TGF- $\beta$  dolazi do povećanog nakupljanja kolagena, ali i hipertrofije medije, što zajedno vodi povećanju arterijske krutosti. Uz to, ovakve arterije

su pod povećanim rizikom od razvoja disekcije i aneurizme, a sukladno tomu, hipertenzija je dobro etabliran čimbenik rizika za oba navedena stanja (127,129).

Šećerna bolest i hipertenzija dva su najčešća uzroka KBB-a (183). Valja naglasiti da iako čak i sama hipertenzija dugoročno može dovesti do KBB-a, prethodno oštećenje nefrona narušava autoregulcijski sustav bubrega, zbog čega su takvi bolesnici pod puno većim rizikom za razvoj KBB-a (184). Patofiziološki mehanizmi koji objašnjavaju narušavanje renalne funkcije u sklopu arterijske hipertenzije su brojni, a uključuju već spomenute vaskularne promjene, glomerularno hipertenziju i prateću glomeruloskleroza, tubularnu atrofiju i intersticijsku fibrozu (184). Za jednostavnije pamćenje patofizioloških posljedica dugotrajne arterijske hipertenzije korisno je zapamtiti izreku starih kliničara da je hipertenzija „Bolest velikog srca i malih bubrega“.

## 1.7. Katestatin

### 1.7.1. Temeljna biologija katestatina

Inicijalno izoliran od strane Mahate i sur., katestatin, produkt prekursora hormona kromogranina A (ChgA), posljednjih je godina privukao značajnu pozornost zbog svojih pleiotropnih kardiovaskularnih učinaka (185). ChgA je kodiran ljudskim CgA genom (CHGA), koji se nalazi na kromosomu 14, a iz kojeg se translatira protein dug 457 aminokiselina (186). ChgA eksprimira nekoliko mjesta proteolitičkog cijepanja (8-10 dvobazičnih ostataka), omogućujući time stvaranje nekoliko peptida različitih fizioloških funkcija (187). Produkti proteolitičkog cijepanja ChgA uključuju vazostatin (ChgA<sup>1-76</sup>), pankreastatin (ChgA<sup>250-301</sup>), katestatin (ChgA<sup>352-372</sup>) i serpinin (ChgA<sup>411-436</sup>) (185). Zajedno s drugim topljivim sekretornim proteinima koji se pohranjuju i zajedno otpuštaju s katekolaminima u vezikulama, ChgA ostvaruje značajnu modulatornu ulogu u adrenergičkom sustavu (188). Osim što se izlučuje iz neuroendokrinih tkiva i živčanih završetaka, ChgA je također široko raspoređen u sekretornim granulama kože, osjetilnim organima, ali i u miokardu (18). Unutar miokarda ChgA ostvaruje izravno negativno inotropno i luzotropno djelovanje, a uz to se i cijepa na katestatin koji ima dodatne učinke na funkciju miokarda, što sve zajedno predstavlja dokaz neuroendokrine regulacije funkcije miokarda (190).

Lučenje katestatina započinje sekrecijom ChgA uslijed stimulacije aksona simpatičkih vlakana ili kromafinih stanica (185). Potom, izvanstanična posttranslacijska proteolitička obrada putem pro-proteinskih konvertaza rezultira otpuštanjem nekoliko spomenutih bioaktivnih polipeptida, uključujući katestatin. Glavna uloga katestatina je reverzibilni i nekompetitivni antagonizam neuronskih nikotinskih kolinergičkih receptora (nAChR), što postiže okluzijom izvanstaničnog otvora pore kanala (191). Točnije, osim kateholamina, katestatin također inhibira oslobađanje neuropeptida Y (NPY), adenozin trifosfata (ATP), kromogranina i mnogih drugih, što implicira da je katestatin snažan regulator neuropeptida

unutar simpatičkog-kromafinog sustava (192). Iako antagonizam nAChR-a inicijalno inhibira simpatičku aktivnost, istraživanja zapravo upućuju da takav oblik inhibicije sprječava desenzitizaciju nAChR-om posredovanog otpuštanja kateholamina i da time katestatin može doprinijeti održavanju simpatičkog odgovora u stresnim situacijama (193,194). Ovaj mehanizam mogao bi biti značajan u vidu uloge katestatina u patofiziologiji hipertenzije (100).

Osim nAChR-a, pokazalo se da postoje još brojna vezna mjesta za katestatin u organizmu, što rezultira aktivacijom raznih putova prijenosa signala i posljedično omogućuje katestatinu da eksplicira mnoštvo različitih funkcija. Studije na animalnim modelima upućuju na to da katestatin može stimulirati otpuštanje histamina mehanizmima neovisnim o receptoru, iskazujući tako prolazni pozitivni inotropni učinak praćen produljenim negativnim inotropnim učinkom i vazodilatacijom (192,195-197). Pretklinički podaci također su pokazali da katestatin može vezati  $\beta_2$ - i  $\beta_3$ -, ali ne i  $\beta_1$ -adrenergičke receptore, proizvodeći time negativni inotropni i pozitivni inotropni učinak putem ovisnim o dušikovom oksidu (196). U skladu s tim, nedavna studija pokazala je da katestatin ublažava učinke norepinefrina i drugih mitogenih signala na  $\beta_1$ - i  $\beta_2$ -adrenergičke receptore, pružajući tako dokaz izravnog modulacijskog učinka katestatina na adrenergičku transmisiju na razini samih adrenergičkih receptora (198). Konačno, čini se da je vazodilatacijska uloga katestatina dijelom posredovana blokadom receptora endotelina-1 (ET-1R), budući da se pokazalo kako katestatin dovodi do vazodilatacije koronarnih krvnih žila štakora u kojima je prethodno uzrokovana ET-1-posredovana vazokonstrikcija (199). Valja naglasiti da na razini populacije postoji više varijanti katestatina, što može rezultirati promjenom fizičke interakcije s različitim nizvodnim molekulama uključenim u signalne putove posredovane katestatinom (200). Primjerice, pokazalo se da učinkovitost u inhibiciji otpuštanja kateholamina ovisi o opsegu do kojeg varijanta katestatina može zatvoriti kationske pore nAChR-a (200-202). Ipak, kliničko-



### 1.7.2. Uloga katestatina u regulaciji kardiovaskularnog sustava

Akumulirani podaci upućuju na to da je katestatin uključen u regulaciju kardiovaskularnog sustava mnogobrojnim središnjim i perifernim mehanizmima (203). U SŽS-u katestatin može eksprimirati i simpatoekscitatorne i prokolinergetičke učinke, ovisno o području moždine u kojem se eksplicira (185). Primjerice, injekcija katestatina u ključno mjesto za kontrolu krvnog tlaka u moždanom deblu štakora – rostralnu ventrolateralnu medulu (RVLM) – rezultira aktivacijom simpatoekscitatornih bulbosposinalnih neurona, povećanom senzitivnosti baroreceptora te slabljenjem kemosenzitivnosti i somatosimpatičkog refleksa s posljedičnim povišenjem krvnog tlaka (204). S druge strane, injekcija katestatina u kaudalnu ventrolateralnu medulu (CVLM) štakora, sastavljenu od GABAergičnih interneurona koji inhibiraju neurone u RVLM, dovodi do smanjene barosenzitivnosti i slabljenja perifernog kemorefleksa te posljedične hipotenzije (205). Sukladno tomu, odvojeno istraživanje pokazalo je da injekcija katestatina u amigdalnu, koja se također sastoji od inhibitornih neurona RVLM-a, rezultira sniženjem arterijskog tlaka (206). Zbirno, pretkliničke studije upućuju na to da katestatin djeluje kao ekscitatorni peptid u SŽS-u (za razliku od inhibicijskog djelovanja na periferiji) i sugerira važnu ulogu istog u središnjoj kardio-respiratornoj kontroli (203). U skladu s tim, čini se da je jedan od načina upletenosti katestatina u patofiziologiju arterijske hipertenzije resetiranje osjetljivosti visokotlačnih baroreceptora. Primjerice, katestatin je ublažio refleksnu tahikardiju uzrokovanu hipotenzijom izazvanom natrijevim nitroprusidom, ali i refleksnu bradikardiju uzrokovanu hipertenzijom izazvanom fenilefrinom u *Chga*-KO mišjem modelu (207). Na tom tragu, važno je spomenuti da dokazi upućuju na to da je vazodilatacija izazvana histaminom uvelike odgovorna za vazodilatacijske učinke katestatina, budući da je vazodilatacija izazvana katestatinom ostala održana čak i nakon adrenergetičke ( $\alpha$  i  $\beta$ ) blokade (208). Čini se da katestatin također utječe na varijabilnost srčane frekvencije (engl. *Heart rate variability*, HRV), pouzdanog indikatora interakcije SŽS-a i parasimpatičkog

živčanog sustava. Naime, HRV indeksi normalizirani su nakon liječenja katestatinom u studiji provedenoj na hipertenzivnim i hiperadrenergičkim *Chga*-KO miševima (209). Sukladno tomu, Rao i sur. pokazali su da pojedinci s Gly364Ser varijantom katestatina imaju povećani srčani parasimpatički indeks i niži srčani simpatički indeks, što implicira da ova varijanta katestatina rezultira značajnim promjenama autonomne aktivnosti u ljudi (210). Konačno, utvrđeno je da je katestatin uključen u inflamatorne putove koji su u podlozi razvoja kardiovaskularnih bolesti. Primjerice, već je spomenuto da katestatin stimulira lučenje histamina iz mastocita, a Zhang i sur. su uspjeli pokazati da katestatin prodire u neutrofile i potiče oslobađanje nekoliko potentnih proteina, uključujući lipokalin povezan s neutrofilnom želatinazom (engl. *neutrophil gelatinase associated lipocalin*, NGAL) (211). NGAL je u tom vidu relevantan budući da se pokazalo da može poboljšati postinfarktno cijeljenje srca i ishode time što usmjerava polarizaciju makrofaga prema reparativnom fenotipu (211-213).

Zaključno, čini se da su kardiovaskularni učinci katestatina heterogeni i pleiotropni, a uključuju: supresiju beta-adrenergičke aktivacije (putem koje djeluje na negativan inotropan, luzitropan i kronotropan način), izravni vazodilatacijski učinak aktivacijom mastocita, stimulaciju angiogeneze i proliferacije vaskularnih glatkih mišićnih stanica, smanjenje trombogenosti endotelnih stanica te konačno, suzbijanje ateroskleroze i upale.

### **1.7.3. Uloga katestatina u kardiovaskularnim bolestima**

S obzirom na to da je rano utvrđena uloga katestatina kao endogenog inhibitora sekrecije kateholamina, pretpostavljeno je da će katestatin imati ulogu u hipertenziji posredovanoj povećanim tonusom SŽS-a. Rane pretkliničke studije pokazale su da *Chga*-KO miševi eksprimiraju hiperadrenergični i hipertenzivni fenotip koji se normalizira primjenom katestatina (214). Nadalje, pokazalo se da je varijanta katestatina CST-Gly364Ser povezana s povećanim rizikom razvoja hipertenzije (215). Štoviše, pokazalo se da nositelji alela 364Ser

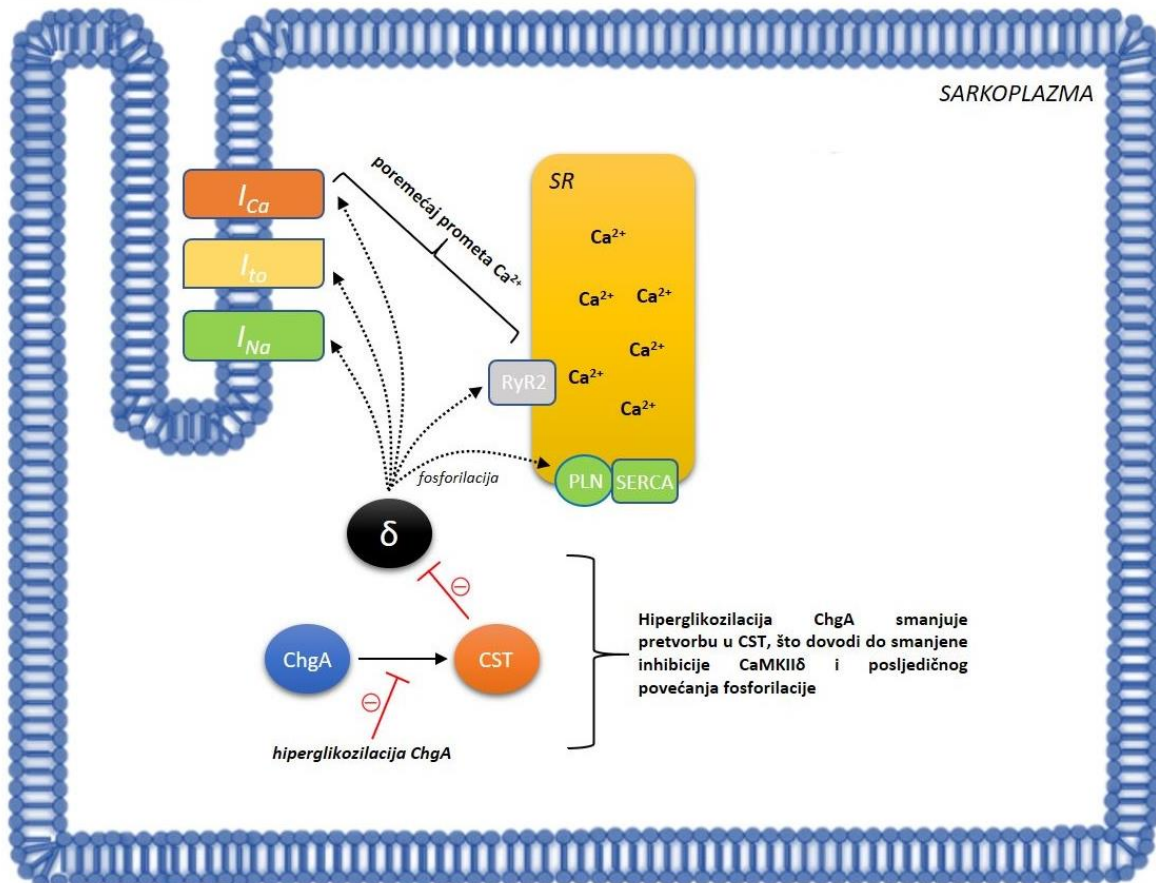


imaju u prosjeku veće sistoličke ( $\approx 8$  mmHg) i dijastoličke ( $\approx 6$  mmHg) arterijske tlakove. Iako je više studija pokazalo da su serumske razine ChgA veće u bolesnika s hipertenzijom, studije koje su istraživale serumske razine katestatina u bolesnika s hipertenzijom rezultirale su vrlo oprečnim zaključcima, što ujedno predstavlja i glavni problem adresiran u okviru ove disertacije (216). S obzirom na to da je posljednjih godina utvrđena neizmjerena važnost SŽS-a u patofiziologiji srčanog zatajenja, nije začuđujuće što su ChgA i njegovi fragmenti, uključujući katestatin, također uključeni u patofiziologiju ove bolesti (217,218). Prema pretpostavljenom mehanizmu, u srčanom zatajenju hiperglikozilirani ChgA ne može se adekvatno razložiti na katestatin, što dovodi do smanjene inhibicije CaMKII $\delta$  i CaMKII $\delta$ -posredovane fosforilacije srčanih proteina. Kao rezultat povećane fosforilacije, dolazi do poremećaja prometa kalcija u kardiomiocitima i time do narušenja rada srca. Pretpostavljeni mehanizam prikazan je na **Slici 4** (219,220).

Uz to, nalazi imunohistokemijske biopsije pokazuju da se ChgA ko-lokalizira s natriuretskim peptidima u dilatiranoj i hipertrofičnoj lijevoj klijetki te da razine ChgA koreliraju s tlakom lijeve klijetke na kraju dijastole (220). Sukladno *in vitro* dokazima, kliničke studije su utvrdile povišene razine ChgA u perifernoj krvi bolesnika s kroničnim srčanim zatajenjem, dilatacijskom kardiomiopatijom/hipertrofičnom kardiomiopatijom te bolesnika s ishemijskom kardiomiopatijom (190,221-226). Ipak, najveća studija koja je evaluirala prognostičku vrijednost ChgA u kroničnom srčanom zatajenju polučila je razočaravajuće rezultate, budući da razine ChgA u plazmi u bolesnika s kroničnim srčanim zatajenjem nisu pružile nikakav dodatni prognostički benefit u odnosu na kliničke znakove, rutinsku biokemijsku analizu i standardne biomarkere zatajenja srca (225). S druge strane, nekoliko je autora istražilo ulogu katestatina kao biomarkera u zatajenju srca. Utvrđeno je da su serumske razine katestatina povećane u bolesnika sa zatajenjem srca te da pozitivno koreliraju sa

značajkama težine istog (227-229). Uz to, više je autora pokazalo prognostičku ulogu katestatin u zatajenju srca, ali i u bolesnika s plućnom embolijom (230-232).

#### KARDIOMIOCIT



**Slika 4.** Pretpostavljeni mehanizam putem kojeg katestatin sudjeluje patofiziologiji zatajenja srca. Kratice: CaMKII $\delta$  ( $\delta$ ): multifunkcionalna  $Ca^{2+}$ /kalmodulin-ovisna protein kinaza II delta; ChgA: kromogranin A; CST: katestatin; PLN: fosfolamban; RYR2: rijanodinski receptor 2; SERCA: sarko/endoplazmatski retikulum  $Ca^{2+}$ -ATPaza; SR: sarkoplazmatski retikulum. (Preuzeto i prilagođeno prema: Bozic J, Kumric M, Ticinovic Kurir T, Urlic H, Martinovic D, Vilovic M i sur. Catestatin as a Biomarker of Cardiovascular Diseases: A Clinical Perspective. Biomedicines. 2021;9(12):1757)

Pri raspravi o uključenosti katestatina u patofiziologiju kardiovaskularnih bolesti nužno je spomenuti kardioprotektivne učinke istog. Penna i sur. prvi su na modelu kardiomiocita odraslih štakora izloženih ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi pokazali da katestatin ima izravne kardioprotektivne učinke (233). Točnije, katestatin je povećao stopu vitalnosti stanica za 65 %, snizio tlakove punjenja lijeve klijetke i značajno poboljšao oporavak lijeve klijetke nakon ishemije (233). Bassino i sur. doprinijeli su daljnjem razumijevanju kardioprotektivnih učinaka

katestatina pokazavši izravne zaštitne učinke na kardiomiocite štakora stimulacijom putova fosfoinozimid 3-kinaze, protein kinaze B (PI3K/Akt) i glikogen sintaze kinaze-3 beta (GSK3 $\beta$ ), što je dovelo do očuvanja potencijala mitohondrijske membrane (234). Nadalje, anti-apoptotski učinci katestatina postignuti su aktivacijom muskarinskog acetilkolinskog receptora tipa 2 u kardiomiocitima izloženih ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi, budući da je spomenuta aktivacija dovela do amplifikacije aktiviranih izvanstaničnih signalom reguliranih kinaza 1/2 (ERK1/2) i PI3K/Akt putova, a time i do inhibicije apoptoze (235).

Štoviše, Chu i sur. su pokazali da katestatin sprječava apoptozu kardiomiocita izazvanu oksidativnim stresom u ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi putem aktivacije  $\beta$ 2 receptora i regulacije signalizacije kroz put kinaze spašavanja reperfuzijske ozljede (engl. *reperfusion injury salvage kinase*, RISK) (236). Konačno, primjena katestatina u uvjetima eksperimentalno inducirane ishemijsko-reperfuzijske ozljede dovela je do poboljšanja hemodinamike i smanjenja veličine infarkta, a genotipska studija potvrdila je da varijante supstitucije aminokiselina unutar regije katestatina rezultiraju različitom veličinom infarkta u štakorskom modelu ishemijsko-reperfuzijske ozljede (236,237).

## 1.8. Kanabidiol (CBD)

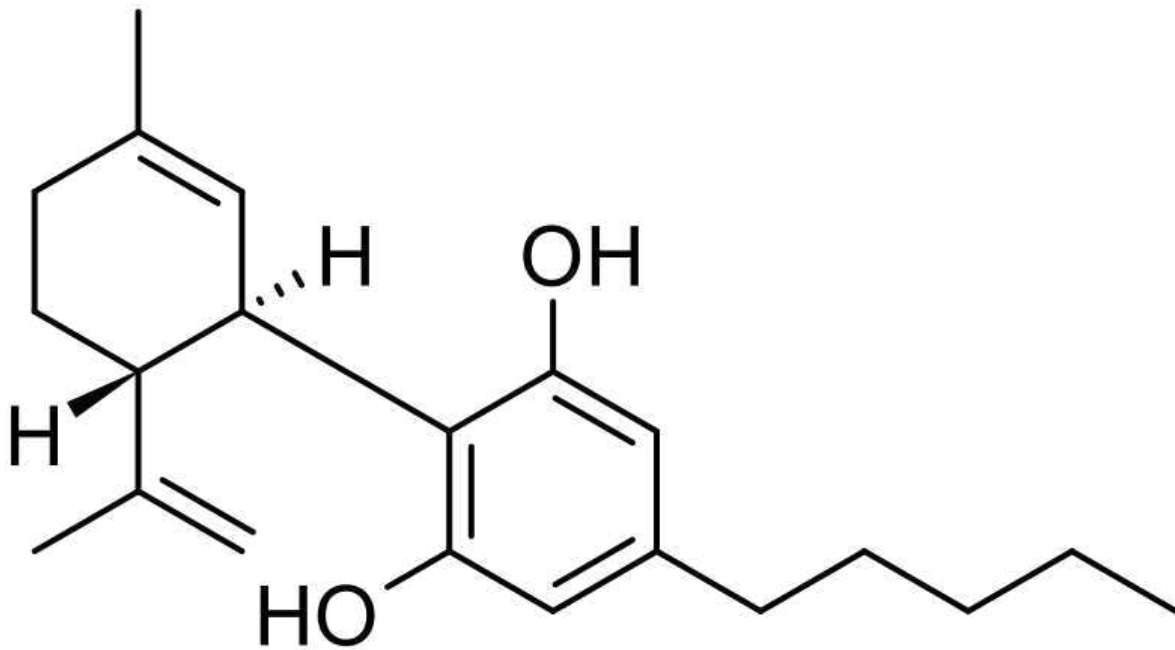
### 1.8.1. Struktura i biosinteza CBD-a

*Cannabis sativa* L. biljka je koja se od pamtivijeka koristi u kulturološkim obredima te kao prirodni lijek, a ujedno je i najčešće korištena droga Zapadnog svijeta (238). Sama biljka sadrži preko 700 različitih sastojaka, od čega su od najvećeg interesa kanabinoidi, točnije fitokanabinoidi, budući da kanabinoide (tzv. endokanabinoide) mogu sintetizirati i životinje i ljudi (239). Najistražvaniji fitokanabinoidi su  $\Delta^9$ -tetrahidrokannabinol (THC) i CBD. Postoji nekoliko važnih razlika između THC-a i CBD-a (240). Za početak, THC je glavni psihoaktivni, ali i intoksicirajući sastojak (stvara osjećaj euforije, relaksacije, ali i psihomotornu i kognitivnu disfunkciju) *C. sativa*, zbog čega se ova biljka i našla na meti zlouporabe u vidu rekreacijskih droga (marihuana i hašiš) (239). Iako se u literaturi učestalo navodi da je CBD lišen psihoaktivnih učinaka, to zapravo nije točno, budući da se pokazalo da CBD može modulirati simptome nekolicine neuropsihijatrijskih oboljenja (241). Stoga, brojni autori zagovaraju da je naziv „neintoksicirajući“ prikladniji. U tom vidu, valja naglasiti da za razliku od CBD-a, THC dovodi do „kanabinoidne tetradе“, serije psihološko-bihevioralnih simptoma aktivacije CB<sub>1</sub> receptora na modelu glodavca: hipolokomocije, hipotermije, katepsije i analgezije (242). Uz to, brojni negativni kardiovaskularni učinci marihuane poput refleksne tahikardije i akutnih koronarnih incidenata pripisuju se upravo THC-u, a ne CBD-u (243). Pretpostavlja se da je navedena diskrepanca u fiziološkim učincima posljedica činjenice da THC i CBD imaju različit afinitet za vezivanje na kanabinoidne receptore, a i također pokazuju različitu preferenciju prema aktivaciji drugih receptora te stimulaciji lučenja kanabimimetika (240). Konačno, od iznimne je važnosti činjenica da THC i CBD mogu međudjelovati, stoga istovremena administracija može dovesti do nepredvidivih učinaka (244). Naime, CBD može atenuirati ili potencirati učinke THC-a, što ovisi o dozama te omjeru koncentracija CBD-a i THC-a (240). Osim fitokanabinoida, naveli smo da ljudski organizam sam može sintetizirati

endokanabinoide koji onda mogu polučiti razne kardiovaskularne učinke, a pokazalo se da su neka djelovanja fitokanabinoida upravo posredovana moduliranjem funkcije endokanabinoida (245).

CBD su prvi iz kanabisa izolirali Adams i sur. u Ujedinjenom Kraljevstvu, a iz hašiša Jacob i sur. u SAD-u 40-ih godina prošlog stoljeća (246,247). Ipak, trebalo je proći više od 20 godina prije nego li su Mechoulam i Schvo odredili kemijsku strukturu CBD-a te još četiri godine da se utvrdi apsolutna konfiguracija istog (248,249). Biosinteza i skladištenje CBD-a, ali i drugih fitokanabinoida odvija se u žljezdanim trihomima prisutnim većinski na ženskim cvjetovima. Uz to, manje količine fitokanabinoida pronalaze se u sjemenkama, korijenju, lišću, stabljikama i peludi. Osim o vrsti tkiva, koncentracije CBD-a u *C. sativa* ovise o sorti, uvjetima rasta, fazi rasta, vremenu berbe te uvjetima skladištenja zbog čega su koncentracije istog u raznim pripravcima konoplje vrlo varijabilne (250,251).

CBD je dimer koji se sastoji od fenolne i terpenke komponente (**Slika 5**). Biosinteza CBD-a počinje sintezom dva prekursorska spoja — geranil pirofosfata (GPP) u 2-metileritritol 4-fosfatnom (MEP) putu i olivotoleinske kiseline (engl. *olivetoleic acid*, OA) u poliketidnom putu (240). Fuzijom GPP i OA nastaje kanabigerolna kiselina (engl. *cannabigerolic acid*, CBGA) katalizirana odgovarajućom CBGA sintazom. CBGA se smatra središnjim prekursorskim spojem svih fitokanabinoide. Potom, sintaza kanabidiolne kiseline pretvara CBGA u kanabidiolnu kiselinu (engl. *cannabidiolic acid*, CBDA). Konačno, CBDA je kiselina osjetljiva na svjetlost i toplinu pa se neenzimskom dekarboksilacijom pretvara u neutralni oblik, tj. CBD (252,253).



**Slika 5.** Kemijska struktura kanabidiola. (Preuzeto i prilagođeno prema: Mechoulam R, Shvo Y. Hashish I. The structure of cannabidiol. *Tetrahedron*. 1963;19(12):2073-8)

### 1.8.2. Farmakokinetika CBD-a

Postoji mnoštvo različitih načina primjene CBD-a, a oralna ingestija (kapsule, ulja, hrana i piće obogaćeno CBD-om) i inhalacija (pušenje, vaporizacija i nebulizacija) predstavljaju najčešće putove (240). Bioraspoloživost CBD-a uvelike varira ovisno o načinu primjene, npr. za inhalacijski put procjenjuje se da je oko 30 %, uz postizanje maksimalnih koncentracija 3-10 minuta nakon konzumiranja. S druge strane, oralnim se putem maksimalne koncentracije postižu nakon jedan do šest sati nakon uzimanja, uz bioraspoloživost manju od 20 %, kao posljedica metabolizma prvog prolaza (254,255). Neki autori sugerirali su da oralni put administracije može dovesti do transformacije CBD-a u THC u kiselom želučanom okruženju na temelju pretkliničkih dokaza (256,257). Međutim, budući da se pokazalo da CBD ne uzrokuje nikakve psihološke, psihomotorne, kognitivne ili fiziološke učinke tipične za THC te činjenici da THC nije pronađen u ljudskoj krvi uslijed primjene vrlo visokih oralnih doza CBD-a, čini se da se opisana konverzija ne događa *in vivo* u ljudi. Diskrepanca između kliničkih i pretkliničkih dokaza mogla bi se objasniti činjenicom da želučani sokovi ne

reflektiraju u potpunosti stvarne uvjete u želucu (258,259). CBD se krvlju transportira većinski vezan na proteine, a oko 10 % CBD-a veže se za eritrocite. Distribucija CBD-a u organe koji su dobro opskrbljeni krvlju, poput mozga, srca, pluća i jetre je relativno brza. Volumen distribucije CBD-a iznosi oko 32 L/kg, a zbog visoke lipofilnosti može se nakupljati u masnom tkivu pri kroničnom doziranju (254,260).

CBD se iz tijela eliminira metabolizmom i/ili izlučivanjem. Naime, CBD se izlučuje u nepromijenjenom stanju ili obliku metabolita putem urina i fecesa (254,261). Različiti autori navode različita vremena poluživota CBD-a, ovisno o razlikama u dozi i načinu primjene, a može varirati od jednog sata pa sve do pet dana (255,261). Biotransformacija CBD-a sastoji se od dvije faze. Prva faza odvija se uglavnom u jetri, gdje CBD prolazi kroz transformacije koje uključuju izoenzime citokroma P450 (CYP). U studiji s ljudskim rekombinantnim CYP-om pokazano je da CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP1A1, CYP1A2, CYP3A4 i CYP3A5 mogu metabolizirati CBD, uz napomenu da se čini kako CYP3A4 i CYP2C19 imaju dominantnu ulogu u mikrosomima jetre (262). Nadalje, metabolički profili CBD-a razlikuju se ovisno o vrsti, a do sada je u ljudi identificirano oko 40 različitih metabolita faze I. Glavne među njima čine derivati 7-karboksi-kanabidiola (7-COOH-CBD). Važno je naglasiti da je farmakološka aktivnost metabolita faze I različita, pa tako primjerice 7-hidroksi-kanabidiol (7-OH-CBD) inhibira *reuptake* andanamida, za razliku od 7-COOH-CBD. CBD, ali i njegovi oksidirani metaboliti faze I podliježu glukuronidaciji, glavnoj reakciji faze II (261).

Osim što je supstrat CYP izoenzima, CBD također može utjecati na aktivnost CYP-ova. U tom vidu, dokazano je da je CBD inhibitor CYP1A1, CYP1A2, CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 CYP1B1, CYP2C19, CYP2C9 i CYP2D6 (263). S druge strane, pokazano je na modelima miševa da kronično doziranje CBD-a može potaknuti ekspresiju nekih CYP izoenzima kao što su CYP3A i CYP2B10, dok je na modelu ljudskih hepatocita pokazano da CBD inducira ekspresiju CYP1A1. Stoga, postoji mogućnost interakcije CBD-a s drugim

lijekovima koji se istovremeno primjenjuju. Primjer takve reakcije opisan je između antagonista vitamina K varfarina i CBD-a u formulaciji Epidiolex® pripravka za liječenje epilepsije (261,264,265).

### **1.8.3. Farmakodinamika CBD-a**

Glavninu svojeg djelovanja kanabinoidi ostvaruju putem interakcije s CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub>, metabotropnim receptorima povezani s Gi/o proteinima. Stimulacija navedenih receptora dovodi do inhibicije adenilat ciklaze i stimulacije protein kinaza aktiviranih mitogenom (MAPK) te modulacije kalcijevih i kalijevih kanala (u slučaju CB<sub>1</sub>). Nadalje, učinci CB<sub>1</sub> receptora također mogu biti posredovani Gq i Gs proteinima te neovisno o G proteinu. CB<sub>1</sub> receptore nalazimo uglavnom u SŽS-u, dok su CB<sub>2</sub> većinski lokalizirani u imunološkom sustavu. Valja ipak naglasiti da prisutnost CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> receptora nije ograničena samo na gore navedena područja, već ih nalazimo u cijelom tijelu, a njihova se ekspresija može značajno promijeniti u patološkim stanjima (266-268). Sam CBD ima relativno nizak afinitet za kanabinoidne receptore i ne izaziva učinke tipične za stimulaciju središnjih CB<sub>1</sub> receptora poput prije spomenute kanabinoidne „tetraide“ karakteristične za THC (267,269). Štoviše, CBD pri nanomolnim koncentracijama ima sposobnost antagoniziranja djelovanja agonista CB<sub>1</sub>/CB<sub>2</sub> receptora (270). Nadalje, istraživanja upućuju na to da je CBD inverzni agonist CB<sub>2</sub> i negativni alosterički modulator CB<sub>1</sub> receptora (270,271). Ipak, unatoč nedostatku agonističkih svojstava CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> receptora, neki od učinaka CBD-a su inhibirani uslijed primjene antagonista i inverznih agonista ovih receptora ili nisu prisutni u CB<sub>1</sub> KO miševa što je prema svemu sudeći učinak neizravnog kanabimimetičkog djelovanja CBD-a (272-274). Naime, pokazalo se da CBD povećava koncentraciju endogenih kanabinoida — anandamida i 2-arahidonoilglicerola (2-AG) (272,273,275,276). U pozadini navedenog povećanja koncentracije su, prema dostupnim podacima, smanjena razgradnja i intracelularni *uptake* endokanabinoida (268,277-



279). U fiziološkim uvjetima, čini se da endokanabinoidni sustav nije značajan za regulaciju kardiovaskularnih funkcija (245,280). Ipak, u brojnim se patološkim stanjima opazila pojačana aktivacija endokanabinoidnog sustava (268,280). Spomenuta aktivacija može biti zaštitna, u slučaju vazorelaksacije posredovane endokanabinoidima u bolesnika s arterijskom hipertenzijom, ali također i štetna, kao primjerice u bolesnika sa septičkim šokom ili bolesnika s portalnom hipertenzijom (268,280).

Osim CB receptora, čini se da je mnoštvo farmakoloških učinaka posljedica djelovanja neovisnog o istim. CBD ima agonističko djelovanje prema sljedećim receptorima (240):

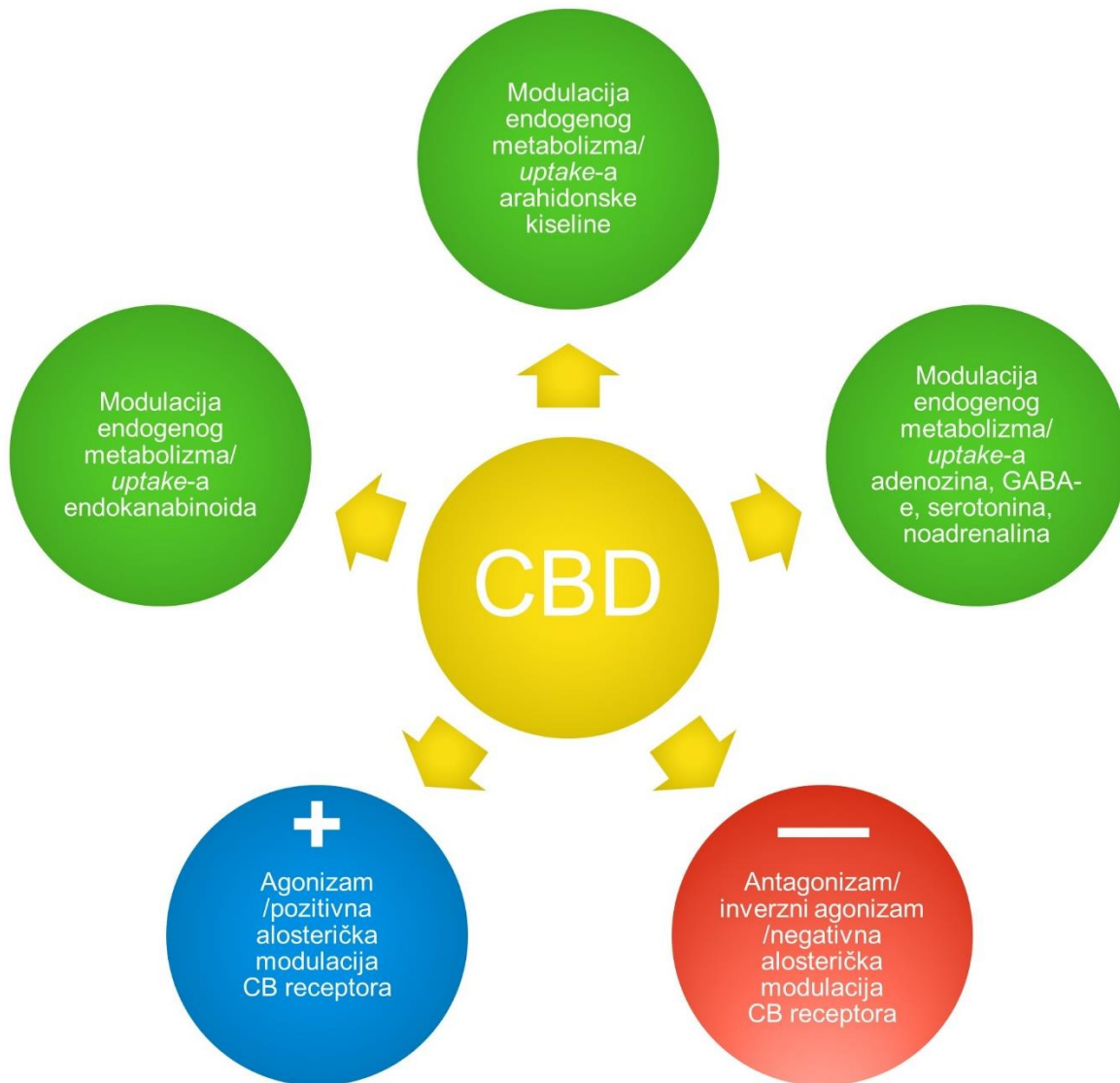
1. TRPA1 (engl. *transient receptor potential ankyrin subfamily member 1*);
2. TRPV1–4 (engl. *transient receptor potential vanilloid subfamily members 1–4*);
3. Receptor  $\gamma$  aktiviran proliferatorom peroksisoma (PPAR $\gamma$ );
4. Receptor spregnut s G-protein siročem (GPR18) – CBD djeluje kao djelomični agonist, ali antagonizira učinke THC-a;
5. Serotoninski 5-HT<sub>1A</sub> i 5-HT<sub>2A</sub> receptori (djelomični agonizam);
6. Pozitivan alosterički modulator:
  - a.  $\alpha$ 1-,  $\alpha$ 1 $\beta$ - i  $\alpha$ 3-glicinskih receptora;
  - b.  $\mu$ - i  $\delta$ -opiodnih receptora;
  - c.  $\gamma$ -aminomaslačne kiseline kiselinski receptor tipa A (GABAA).

Nasuprot tome, CBD pokazuje antagonističku aktivnost prema (11,13,17,21):

1. Receptoru siročiću GPR55 (prema nekima smatran i kao „CB<sub>3</sub>“ receptor);
2. Pretpostavljenom receptoru za abnormalni kanabidiol (Abn-CBD), sintetski regioizomer CBD-a;
3. TRPM8 (engl. *transient receptor potential melastatin subfamily member 8*);
4. Negativni alosterički modulator:
  - a. serotoninskog 5-HT<sub>3</sub> receptora;

- b.  $\alpha$ 1-adrenergičkog receptora;
  - c. dopaminskog D<sub>2</sub> receptora.
5. Inverzni agonist za receptore siročad (GPR3, GPR6 i GPR12).

Osim izravnog izlaganja navedenim receptorima, dio učinaka CBD-a posljedica je neizravnog povećanja koncentracije biološki aktivnih spojeva. Osim gore navedenog modulacijskog učinka na endokanabinoide, CBD može spriječiti *reuptake* adenzina, timidina, glutamata, serotonina, GABA-e, dopamina i noradrenalina. Nadalje, CBD utječe na metabolizam arahidonske kiseline utječući na fosfolipazu A<sub>2</sub>, 5- i 15-lipooksigenazu te izoenzime ciklooksigenaze. S obzirom na to da CBD može i stimulirati i inhibirati molekule iz navedenog puta, proizvodnja prostaglandina E može biti i povećana i smanjena uslijed primjene CBD-a (263,266). Budući da su metabolički putovi arahidonske kiseline i endokanabinoida blisko povezani (arahidonska kiselina nastaje razgradnjom endokanabinoida), CBD može utjecati na stvaranje velike skupine medijatora — derivata arahidonske kiseline i endokanabinoida (268). Konačno, unatoč brojnim mehanizmima koji se povezuju s CBD-om, valja naglasiti da mnogi navedeni mehanizmi nisu dokazani *in vivo*, stoga je vrlo teško uspostaviti mehanicističku vezu između primjene CBD-a i pleiotrofnih učinaka koji mu se pripisuju. Sažetak pretpostavljenih mehanizama CBD-a prikazan je na **Slici 6**.



**Slika 6.** Pregled pretpostavljenih molekularnih mehanizama putem kojih CBD ostvaruje svoje farmakološke učinke. Plava boja upućuje na stimulirajuće efekte CBD-a, crvena boja na inhibirajuće efekte, dok zelena označava modulaciju endogenog metabolizma i/ili *uptake*-a navedenih molekula. Kratice: CBD: kanabidiol. (originalna ilustracija autora)

#### 1.8.4. Pretpostavljeni kardiovaskularni učinci CBD-a

Kompleksna i pleiotropna priroda učinaka CBD-a na organizam otvara mogućnost višesmjernog, a ponekad i multifazičnog utjecaja ove molekule na kardiovaskularnu funkciju. U izoliranim žilama, kanabinoidi većinski dovode do vazodilatacije, prema svemu sudeći kao posljedica aktivacije CB<sub>1</sub>, CB<sub>2</sub>, GPR55, 5-HT<sub>1A</sub>, TRPV1 i PPAR, premda su malobrojne studije pokazale da kanabinoidi mogu dovesti i do vazokonstrikcije (240). Osim o vrsti receptora, čini se da odgovor kanabinoida može ovisiti i o lokalizaciji receptora. Primjerice,

stimulacija centralnih CB<sub>1</sub> receptora dovodi do povećanja arterijskog tlaka, dok stimulacija perifernih CB<sub>1</sub> receptora, smještenih na završecima pre- i/ili postganglijskih simpatičkih neurona, dovodi do sniženja tlaka (281).

Vazodilatacijski učinak CBD-a vjerojatno je „najdosljedniji“ učinak ovog spoja na kardiovaskularni sustav, a dokazan je na izoliranim krvnim žilama ljudi i životinja u fiziološkim i patološkim uvjetima (282-284). Mehanizam djelovanja CBD-a na glatke mišiće krvnih žila je složen, nepotpuno razjašnjen i ovisi o ispitivanom vaskularnom koritu, ali ono što se čini sigurnim je da ne uključuje kanabinoidne receptore, osim u slučaju izoliranih humanih mezenteričnih arterija, gdje je dokazana ovisnost djelovanja o CB<sub>1</sub> receptorima (282-284). Vrijedno je napomenuti i da CBD dovodi do vremenski ovisne vazodilatacije putem aktivacije PPAR- $\gamma$  (282-284). Ipak, unatoč brojnim potencijalnim „metama“ u vidu široke palete receptora, čini se da su učinci CBD-a na hemodinamske parametre poput srčane frekvencije i krvnog tlaka u najboljem slučaju umjereni. Štoviše, meta-analiza pretkliničkih studija koju su proveli Sultan i sur. pokazala je da akutno doziranje CBD-a nema značajan efekt na tlak, niti srčanu frekvenciju u kontrolnim uvjetima te da kronično doziranje ne utječe na srčanu frekvenciju (285). Ipak, u istoj je meta-analizi dokazano da primjena CBD-a značajno smanjuje povećanje tlaka i frekvencije uzrokovano stresom.

Osim činjenice da se u patološkim stanjima mijenja uloga endokanabinoida, dostupni podaci upućuju na to da patološka stanja također mogu modificirati djelovanje egzogeno unesenih kanabinoida, uključujući CBD (240). Štoviše, utjecaj CBD-a na kardiovaskularni sustav može se eksprimirati modulirajućim učinkom na imunološke procese ili redoks-ravnotežu koja se odvija putem kanabinoidnih i ne-kanabinoidnih receptora (240). Naime, poznato je da CBD posjeduje protuupalna i antioksidativna svojstva, što zapravo predstavlja moguće objašnjenje dugoročnih benefita CBD-a na kardiovaskularno zdravlje. Značajan broj autora istražio je ulogu fito i endokanabinoida u arterijskoj hipertenziji na raznim animalnim

modelima (245,280). Čini se da je sama hipertenzija povezana s pojačanom ekspresijom endokanabinoida. Osim redukcije tlaka, endokanabinoidi su također pokazali modulirajući učinak na oksidativni stres i upalu na modelu hipertenzije (245,268,280,286,287). Stoga, moguće je da su učinci CBD-a u hipertenziji posredovani promjenom endokanabinoida. Do sada su provedena istraživanja primjene kanabinoida na dva modela hipertenzije u štakora: štakora sa spontanom hipertenzijom (model primarne hipertenzije) i hipertenzije izazvane solju deoksikortikosteron acetata (model sekundarne hipertenzije) (282,288,289). Studije na izoliranim malim mezenteričnim arterijama pokazale su suprotne učinke CBD-a u ova dva modela. U prvom modelu CBD dovodi do slabije, a u drugom do naglašene vazodilatacije (282). Suprotni učinci vjerojatno reflektiraju različite patogenetske mehanizme i promjene u endokanabinoidnom sustavu između dva navedena modela (280). Osim toga, primijećene su i određene razlike u mehanizmu vazodilatacijskog djelovanja CBD-a među modelima (282). Analogno tomu, vazodilatacijski učinak CBD-a u izoliranim plućnim arterijama smanjen je u bolesnika s hipertenzijom (282). Međutim, nije primijećena promjena u odgovoru vaskulature na CBD u izoliranim mezenterijalnim arterijama hipertenzivnih bolesnika (283). Uslijed dvotjedne primjene CBD-a na štakorskim modelima hipertenzije, nije primijećen značajan učinak na krvni tlak i otkucaje srca unatoč tomu što je primijećeno smanjenje markera oksidativnog stresa u plazmi i u srcu ovih životinja (289).

Brojne pretkliničke studije pokušale su razlučiti kardioprotektivne efekte CBD-a. Na štakorskim i zečjim modelima infarkta miokarda pokazano je da administracija CBD-a prije podvezivanja koronarnih arterija i neposredno prije reperfuzije smanjuje veličinu infarkta, poboljšava perfuziju zahvaćenog područja, smanjuje otpuštanje troponina iz infarciranog miokarda, smanjuje apoptozu kardiomiocita, smanjuje leukocitnu infiltraciju miokarda te dovodi do smanjenja incidencije ventrikularnih aritmija (290-293). Postoji više objašnjenja anti-aritmogenog učinka CBD-a. Walsh i sur. smatraju da je navedeni fenomen posredovan

inhibicijom otpuštanja aritmogenih tvari iz trombocita (291). S druge strane, Gonca i sur. pokazali su da je antiaritmijski učinak CBD-a u infarktu ovisan o adenozijskim receptorima (290).

Osim na modelima infarkta, CBD je pokazao kardioprotektivne učinke u srcu oštećenom doksorubicinom. Naime, primjena CBD-a tijekom četiri tjedna reducirala je opseg detrimentalnih doksorubicinom izazvanih histopatoloških promjena u štakorskom srcu i dovela je do redukcije serumskih markera oštećenja miokarda (294). Autori su nastojali objasniti opserviranu kardioprotekciju povećanjem survivina, reduciranog oblika glutationa, cinka i seleno te smanjenom ekspresijom Nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) puta, inducibilne NO sintetaze, kaspaze-3 i smanjenim razinama faktorom nekroze tumora- $\alpha$  (engl. *tumour necrosis factor- $\alpha$* , TNF- $\alpha$ ) i srčanog malondialdehida (294). U studiji Haa i sur. petodnevna administracija CBD-a također je atenuirala srčanu disfunkciju izazvanu doksorubicinom uz smanjenje serumskih razina biomarkera srčanog oštećenja. Autori su pokazali da je suplementacija CBD-om značajno smanjila oksidativni stres i staničnu smrt te da je ista dovela do poboljšanja mitohondrijske funkcije (295).

Na mišjim i štakorskim modelima moždanog udara, primjena CBD-a prije i/ili nakon ishemije dovela je do smanjenja volumena infarkta te atenuacije neuroloških i neurobioloških sekvela (296-301). Uz to, pokazano je da CBD značajno povećava cerebralni protok krvi na mišjem modelu moždanog udara što je u skladu s prije spomenutom meta-analizom koja je demonstrirala isto (296,302). Čini se da je utjecaj CBD-a na volumen infarkta i protok krvi kroz mozak barem posredovan 5-HT<sub>1A</sub> receptorima i da ne ovisi o kanabinoidnim receptorima i TRPV1 (296,298,302). Dodatno, opetovano doziranje CBD-om (tijekom 14 dana u ovoj studiji) prije okluzije nije otkrilo razvoj tolerancije na neuroprotektivna svojstva istog, a zanimljivo je da se CBD pokazao korisnim čak i kada se primijeni nakon duljeg vremenskog razdoblja nakon cerebralne ishemije (296,301). Postoji više mehanizama koji bi mogli objasniti

neuroprotektivno djelovanje CBD-a primijećeno u životinjskim modelima moždanog udara. Primjerice uslijed doziranja CBD-om dolazi do smanjene ekscitotoksičnosti, glijalne aktivacije te apoptoze (298-301,303). Uz to, CBD dovodi do redukcije neuroupale izazvane moždanim udarom smanjujući ekspresiju upalnih čimbenika i neutrofila (296,298,299). Ipak, valja naglasiti da neki učinci CBD-a prate zvonoliku doza-odgovor krivulju. Naime, prevencija elektroencefalografskog spljoštenja je bila najveća pri dozi CBD-a od 5 mg/kg (1,25-20 mg/kg), a najveće smanjenje volumena infarkta opservirano je pri dozi od 1 mg/kg (0,1-10 mg/kg) (304).

Nadalje, CBD se smatra obećavajućim neuroprotektivnim čimbenikom u novorođenčadi s neonatalom hipoksično-ishemijskom encefalopatijom (HIE) uzrokovanom asfiksijom. Većina dokaza o neuroprotektivnom djelovanju CBD-a u HIE temelji se na pretkliničkim studijama provedenim na novorođenim svinjama (305-311). Glavni učinci CBD-a u takvim modelima uključuju ublažavanje smanjene moždane aktivnosti, oštećenja metabolizma neurona, nekroze i apoptoze neurona, mikroglijalne aktivacije, neuroinflamacije te smanjenje oksidativnog stresa u mozgu (306-311). Osim toga, CBD bi mogao smanjiti pad krvnog tlaka i atenuirati upalna oštećenja pluća povezana s ozljedom izazvanom HIE-om (306-311). Važno je napomenuti da CBD pokazuje širi terapijski vremenski prozor nego što je navedeno za hipotermiju i druge neuroprotektivne tretmane (312). Slični učinci CBD-a također su otkriveni na mišjim i štakorskim modelima neonatalnog HIE-a (312-314). Međutim, valja naglasiti da je više autora pokazalo izostanak neuroprotektivnih svojstava CBD-a u eksperimentalnim modelima neonatalnog HIE (315).

Čini se da utjecaj CBD-a na kardiovaskularni sustav u ljudi ne ovisi samo o dozi i trajanju primjene, već i o načinu primjene i formulaciji CBD-a (240). U našoj prijašnjoj studiji, oralni CBD u dozi od 90 mg nije utjecao na krvni tlak, frekvenciju ili cerebralnu perfuziju, ali ista doza CBD-a inkapsulirana kao TurboCBD™ (patentirana formulacija koja povećava

bioraspoloživost CBD-a) smanjila je dijastolički arterijski tlak i srednji arterijski tlak te povećala cerebralnu perfuziju (265). TurboCBD™ formulacija je sadržavala 45 mg ili 90 mg CBD-a, u 120 mg ili 240 mg ulja konoplje, 600 mg ili 1200 mg američkog ginsenga i 240 mg odnosno 480 mg ginko bilobe. U studijama na koji se temelji ova disertacija korištena je DehydraTECH™2.0 CBD formulacija dizajnirana za povećanje bioraspoloživosti CBD-a, posebno s obzirom na isporuku u moždana tkiva, što bi time moglo omogućiti veću učinkovitost na mehanizme neurogene hipertenzije koji djeluju u ranim fazama hipertenzije (100).

Zaključno, akumulirani podaci iz studija na ljudima i životinjama sugeriraju da bi CBD mogao biti povezan s poboljšanjem kardiovaskularnog zdravlja, posebice s obzirom na smanjenje krvnog tlaka i poboljšanu funkciju endotela (240,281,282). Ipak, nedostaju randomizirane studije koje bi poduprle ove predodžbe, osobito u rizičnim populacijama poput bolesnika s hipertenzijom.



## **2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA**

---

**Glavni cilj istraživanja:**

Glavni cilj istraživanja bio je usporediti serumske koncentracije katestatina između bolesnika s esencijalnom hipertenzijom i zdravih kontrola te utvrditi povezanost dinamike serumskih koncentracija katestatina i arterijskog tlaka uslijed petotjedne oralne administracije CBD-a.

**Sporedni ciljevi istraživanja su:**

1. Ispitati povezanost serumskih koncentracija katestatina s prosječnim 24-satnim arterijskim tlakom u bolesnika s esencijalnom hipertenzijom.
2. Ispitati povezanost serumskih koncentracija katestatina sa značajkama povećane arterijske krutosti u bolesnika s esencijalnom hipertenzijom.
3. Ispitati povezanost dinamike arterijskog tlaka i serumskih koncentracija katestatina uslijed oralne suplementacije CBD-om u bolesnika s esencijalnom hipertenzijom.

**Hipoteze istraživanja su:**

1. Serumske koncentracije katestatina bit će veće u bolesnika koji boluju od esencijalne hipertenzije nego u zdravih kontrola istih dobno-spolnih i antropoloških karakteristika.
2. Serumske koncentracije katestatina bit će veće u bolesnika s neliječenom hipertenzijom u odnosu na bolesnike koji boluju od hipertenzije, a liječe se antihipertenzivima.
3. Petotjedna oralna primjena CBD-a, ali ne i placebo, rezultirat će smanjenjem serumskih koncentracija katestatina u bolesnika s esencijalnom hipertenzijom.
4. Početne serumske koncentracije katestatina korelirat će s padom srednjeg arterijskog tlaka uslijed petotjedne oralne primjene CBD-a u bolesnika s hipertenzijom.

### **3. ISPITANICI I POSTUPCI**

---

Istraživanje je osmišljeno i provedeno na Katedri za patofiziologiju te na Zavodu za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu (Klasa: 003-08/21-03/0003; Urbroj: 2181-198-03-04-21-0091; Split, 15. prosinca 2021.) te je provedeno u skladu s etičkim principima Helsinške deklaracije iz 2013. godine. Svi ispitanici su prije uključivanja u istraživanje informirani o postupcima i ciljevima istraživanja te su potpisali informirani pristanak.

Protokol istraživanja je prije uključivanja prvog ispitanika u studiju registriran u Registru za klinička istraživanja ClinicalTrials.gov pod brojem NCT05346562 (6. travnja 2022.), a studija je registrirana pod akronimom i nazivom HYPER-H21-4.

Dio istraživanja financirano je od strane Lexaria Bioscience Corp., Kanada. Svi autori imali su potpuni pristup svim podacima dobivenim u studiji te preuzimaju punu odgovornost za cjelovitost podataka i točnost analize podataka. Lexaria Bioscience Corp. Nije imala nikakav utjecaj na rezultate ispitivanja.

Prvi dio istraživanja dizajniran je kao presječna studija, dok je drugi dio dizajniran kao randomizirano, dvostruko slijepo, križno ispitivanje.

### **3.1. Ispitanici**

U prvo istraživanje uključeno je 72 bolesnika dobi od 40 do 70 godina starosti s dijagnosticiranom esencijalnom hipertenzijom i 72 zdrave kontrole istih dobno-spolnih i antropometrijskih karakteristika. U drugo istraživanje uključeno je 54 ispitanika u dobi od 40 do 70 godina starosti s dijagnosticiranom esencijalnom hipertenzijom. Ispitanici su regrutirani putem mreže liječnika obiteljske medicine na području Splitsko-dalmatinske županije.

**Kriteriji uključenja za prvu studiju bili su\*:**

1. hipertenzija 1. ili 2. stupnja (prema važećim smjernicama Europskog kardiološkog društva (engl. *European society of cardiology*, ESC) za zbrinjavanje hipertenzije) koja je ili neliječena ili je liječena ACE inhibitorima, kalcijskim blokatorima i/ili diureticima (1):
  - a. 1. stupanj definiran je kao sistolički tlak 140-160 mmHg i/ili dijastolički tlak 90-99 mmHg;
  - b. 2. stupanj definiran je kao sistolički tlak 160-180 mmHg i/ili dijastolički tlak 100-109 mmHg;
2. indeks tjelesne mase 18,5 – 35,0 kg/m<sup>2</sup>;
3. dobi 40 do 70 godina;
4. tjelovježba kraća od 150 min tjedno.

\*Kriteriji uključenja za drugu studiju bili su isti, osim što su uključeni samo bolesnici s hipertenzijom 1. stupnja (prema važećim ESC/ESH smjernicama) (1).

**Iz studija su sustavno isključeni ispitanici koji su ispunili barem jedan od sljedećih kriterija:**

1. pušenje (uključujući duhan i proizvode na bazi kanabisa);
2. sekundarni oblici hipertenzije;
3. aktivna maligna bolest;
4. bilo koji oblik dokumentirane srčane bolesti;
5. šećerna bolest;
6. kronična bolest bubrega;
7. giht;
8. kronična gastrointestinalna bolest;
9. značajni psihijatrijski poremećaji;

10. dijagnoza ili povijest epilepsije;
11. trudnoća i/ili dojenje;
12. primjena beta blokatora ili drugih antihipertenziva osim navedenih u uključnim kriterijima;
13. bolest jetre, potvrđena na početnoj biokemiji krvi: isključenje ispitanika s  $> 1,5$  gornje granice normale (GGN) za alanin transaminazu (ALT), aspartat transaminazu (AST) ili ukupni bilirubin (TBL)  $>$  GGN na početku određeno lokalnom referentnom populacijskom vrijednosti u Hrvatskoj:
  - a. GGN za ALT 48 IU/L;
  - b. GGN za AST 38 IU/L;
  - c. GGN za TBL 20  $\mu$ mol/L.

### 3.2. Postupci

U obje studije svim uključenim ispitanicima uzeta je iscrpna anamneza, nakon čega su izvršena antropometrijska mjerenja. Za mjerenje visine korišten je visinomjer (Seca, Birmingham, UK), dok je tjelesna masa mjerena bioimpedancijskom vagom Tanita DC-360 S (Tanita, Tokyo, Japan). ITM je izračunat dijeljenjem vrijednosti tjelesne mase (kg) i kvadrata visine ( $m^2$ ). Opseg struka i bokova izmjeren je u standardnim položajima pomoću trake za mjerenje opsega. Naime, opseg struka mjereno je na srednjoj udaljenosti između donjeg ruba posljednjeg rebra te gornjeg ruba grebena ilijačne kosti u izdisaju centimetarskom vrpcom, dok je opseg bokova mjereno na području najšireg promjera glutealne regije. Omjer struka i bokova izračunat je dijeljenjem izmjerenog opsega struka i bokova. Nadalje, od svih su uključenih ispitanika uzete i detaljne informacije o fizičkoj aktivnosti te dnevnom unosu kave, soli i alkohola.

Uz to, svim ispitanicima je krv vađena iz kubitalne vene pomoću sterilne igle, koristeći standardne operativne procedure, a samo vađenje je provodio iskusni medicinski tehničar. Maksimalno je uzeto do 22 mL krvi prilikom svakog vađenja. Dio uzorkovane krvi odmah je analiziran, a dio je uzorka centrifugiran (20 minuta na 2000 okretaja/minuti, na standardnoj temperaturi od 4 °C), alikvotiran i pohranjen na -80°C sa svrhom naknadne analize biomarkera, uključujući i glavni ishod oba istraživanja – serumski katestatin. Ispitanici su također donosili uzorak prvog jutarnjeg urina koji je potom analiziran. Koncentracije katestatina u serumu (Phoenix Pharmaceuticals Inc., Burlingame, CA, SAD) određene su ELISA testom. Prijavljena osjetljivost testa katestatina bila je 0,05 ng/mL, križna reaktivnost s endogenim ljudskim katestatinom bila je 100 % (koeficijenti varijabilnosti unutar testa i među testovima bili su < 10 % odnosno < 15 %), uz linearni raspon 0,05–0,92 ng/mL. Sve uzorke krvi analizirao je iskusni biokemičar koji nije bio svjestan odabira sudionika, koristeći standardne operativne postupke u istom certificiranom institucionalnom biokemijskom laboratoriju.

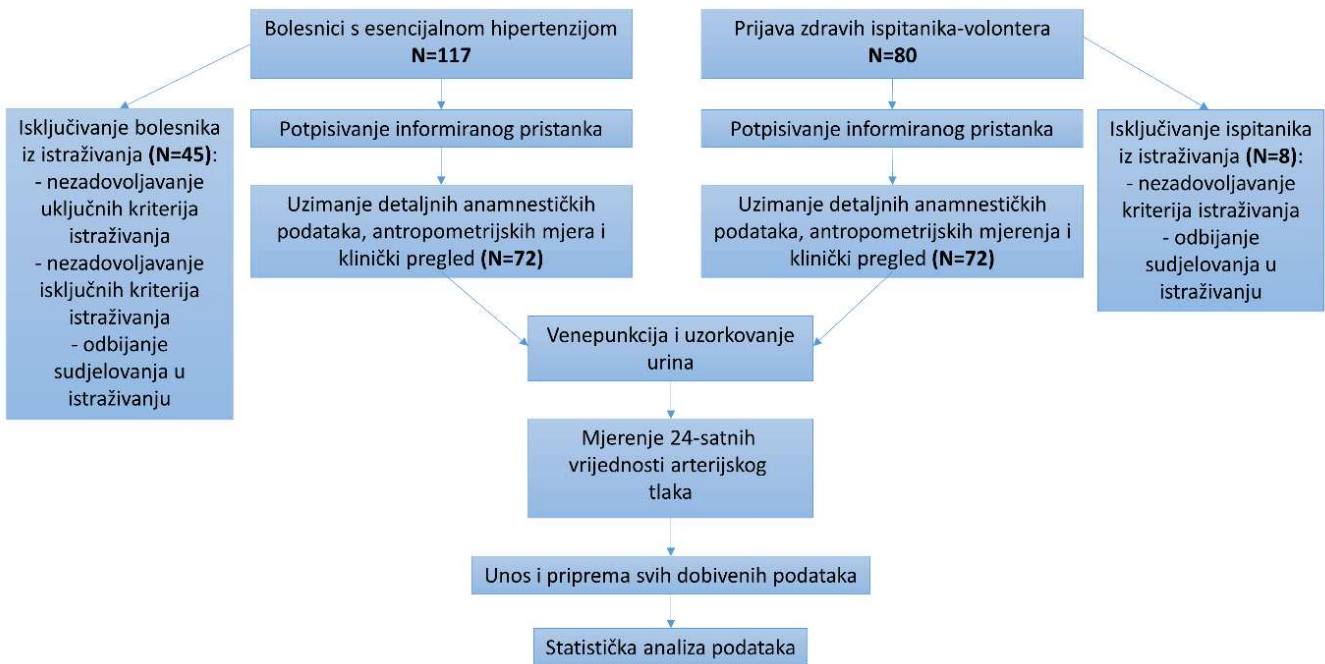
Prikupljene podatke od interesa istraživači studije su tijekom svake posjete bilježili i unosili u poseban istraživački obrazac (iskaznicu ispitanika), a potom su podaci arhivirani i zaštićeni jedinstvenom šifrom sudionika. Za čuvanje podataka korišten je upareni digitalni arhiv koji se sastoji od interne memorije računala i vanjskog tvrdog diska. Laboratorijska knjiga čuvala se na Zavodu za integrativnu fiziologiju, a sirovi podaci dostupni su na zahtjev dopisnog autora. Podaci neće biti javno dostupni jer će se dio skupa podataka koristiti za daljnja istraživanja.

### **3.2.1. Postupci prvog dijela istraživanja**

Ispitanici su upućeni u prostorije Zavoda za integrativnu fiziologiju u jutarnjim satima nakon prekonocnog posta. Po uzimanju anamneze, mjerenju antropometrijskih značajki i uzimanja uzorka krvi i urina, svim ispitanicima postavljen je uređaj za kontinuirano mjerenje



arterijskog tlaka Schiller BR-102 plus PWA (Schiller AG, Baar, Switzerland) (**Slika 7**). Uređaj je bio podešen na način da vrši mjerenja svakih 30 minuta u razdoblju od 8 do 23 sata, odnosno svakih 60 minuta u razdoblju od 23 do 8 sati. Sudionici su zamoljeni da drže ruku mirno i u razini srca u trenutku kada uređaj počne očitavati. Osim toga, svi su pacijenti zamoljeni da ispune dnevnik tjelesne aktivnosti. Prema važećim smjericama, da bi kontinuirano mjerenje arterijskog tlaka bilo smatrano valjanim, potrebno je najmanje 70 % upotrebljivih snimaka arterijskog tlaka (1). Očitavanja arterijskog tlaka s uređaja za kontinuirano mjerenje arterijskog tlaka uređena su pomoću modificirane verzije Casadeijeve metode, a analizu su provela dva neovisna istraživača koji nisu bili svjesni rasporeda pacijenata (hipertenzija ili kontrola) (316). Osim ambulantnih vrijednosti krvnog tlaka, spomenuti je uređaj također mjerio značajke arterijske krutosti. Konkretno, izračunati su brzina pulsog vala (engl. *pluse wave velocity*, PWV), središnji indeks augmentacije pri 75 otkucaja po minuti (engl. *central augmentation index at 75 bpm*, cAIx-75) i periferni otpor (engl. *peripheral resistance*, pRes). Konačno, kardiovaskularni rizik ispitanika utvrđen je procjenom tkivnih razina završnih produkata glikacije koristeći AGE Reader (DiagnOptics Technologies BV, Groningen, Nizozemska).

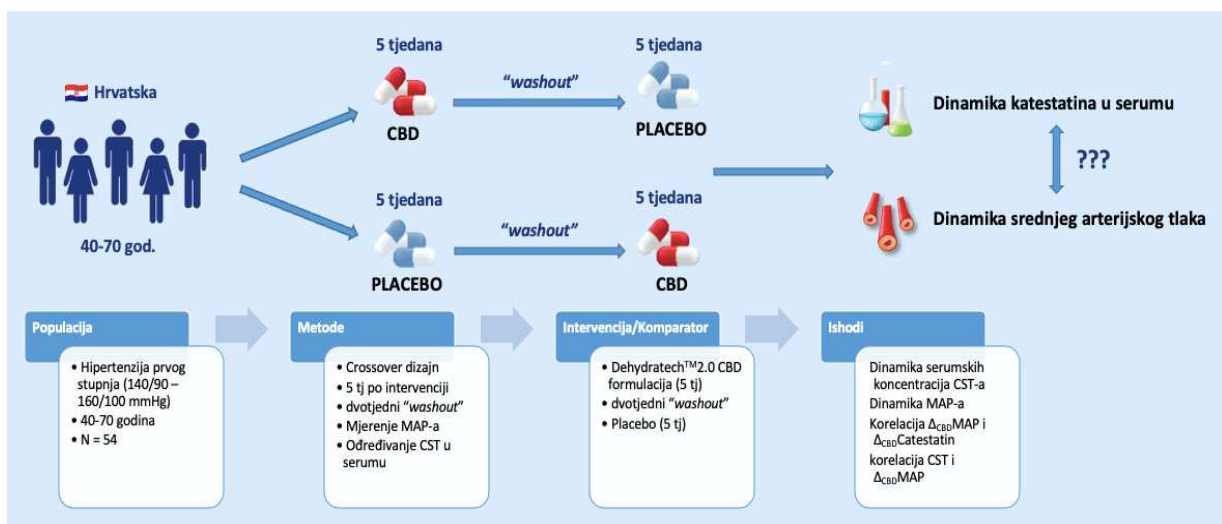


Slika 7. Protokol prvog dijela istraživanja.

### 3.2.2. Postupci drugog dijela istraživanja

Po uključanju u studiju, a koristeći web-uslugu istraživačkog randomizatora (<https://www.randomizer.org>, pristupljeno posljednji put 7. travnja 2022.), ispitanici su razvrstani u jedan od dva navedene režima doziranja u omjeru 1:1 – Placebo/DehydraTECH™2.0 CBD (AB sekvenca) ili DehydraTECH™2.0 CBD/Placebo (BA sekvenca) (Slika 8).

Sudionici raspoređeni u prvu sekvencu (Sekvenca BA: CBD (Intervencija B), zatim Placebo (Intervencija A)) primali su CBD u sljedećoj dozi: 225 do 300 mg (ovisno o spolu i tjelesnoj masi sudionika) podijeljeno tri puta dnevno tijekom prva 2,5 tjedna; 375 do 450 mg podijeljeno u tri puta dnevno tijekom sljedeća 2,5 tjedna. Nakon dvotjednog „washout-a“, sudionici su primali placebo tijekom 5 tjedana. Pacijenti raspoređeni u drugu sekvencu (Sekvenca AB: Placebo (Intervencija A), zatim CBD (Intervencija B)), primali su placebo 5 tjedana, nakon čega je uslijedila 5-tjedna primjena CBD-a u istom režimu kao i pacijentima u prvoj skupini. Detaljan raspored doziranja naveden je u **Tablici 6**.



**Slika 8.** Protokol drugog dijela istraživanja s glavnim ishodima. Kratice: CBD: kanabidiol; MAP: srednji arterijski tlak (engl. *mean arterial pressure*); CST: katestatin.

Proizvodni proces obavljen je korištenjem usluga ugovornog proizvođača, a sam proces proveden je u skladu s načelima dobre prakse proizvodnje (engl. *Good Manufacturing Practices*, GMP) u Sjedinjenim Američkim Državama. Formulacija DehydraTECH™2.0 CBD sastoji se od patentirane mješavine dugolančanog trigliceridnog ulja bogatog masnim kiselinama i pročišćenog destilatnog ulja kanabidiola bez tetrahidrokanabinola, zajedno s praškastim sastojcima organskog supstrata i drugim organskim sastojcima koji su uključeni za poboljšanje crijevne apsorpcije. Formulacija DehydraTECH™2.0 CBD pripravljena je u obliku praška i punjena je u veganske gel kapsule veličine 00 s ciljnom jačinom po kapsuli od 75 mg CBD-a, što je naknadno neovisno potvrđeno tekućinskom kromatografijom visoke učinkovitosti (engl. *High-performance liquid chromatography*, HPLC) nakon testiranja kontrole kvalitete. DehydraTECH™2.0 CBD formulacija korištena u ovoj studiji također je bila podvrgnuta patentiranoj metodologiji obrade putem dehidracije tvrtke Lexaria Bioscience Corp., a sve s ciljem povećanja bioraspoloživosti CBD-a i poboljšanja učinkovitosti istog. Placebo formulacije pakirane su u identične veganske gel kapsule veličine 00 u svrhu zasljepljivanja, a punjenje se sastojalo od praškastog sastojka organskog supstrata bez bilo kakve aktivne tvari CBD-a, što je također potvrđeno HPLC testiranjem. U svrhu potvrde adherencije CBD formulaciji u ovoj studiji, osim dnevnika doziranja mjerene su koncentracije CBD-a i njegovih metabolita (7-OH-CBD-a i 7-COOH-CBD-a) u plazmi i urinu.

**Tablica 6.** Detaljan raspored doziranja.

Intervencija	Period doziranja 1 (2,5 tjedna)	Period doziranja 2 (2,5 tjedna)
DehydraTECH™2.0 CBD	$\leq 75$ kg: <i>CBD, 225 mg/dan</i>	$< 100$ kg: <i>CBD, 375 mg/dan</i>
	75 mg ujutro (1 kapsula)	75 mg ujutro (1 kapsula)
	75 mg popodne (1 kapsula)	150 mg popodne (2 kapsule)
	75 mg navečer (1 kapsula)	150 mg navečer (2 kapsule)
	$> 75$ kg: <i>CBD, 300 mg/dan</i>	$\geq 100$ kg: <i>CBD, 450 mg/dan</i>
	75 mg ujutro (1 kapsula)	150 mg ujutro (2 kapsule)
	75 mg popodne (1 kapsula)	150 mg popodne (2 kapsule)
	150 mg navečer (2 kapsule)	150 mg navečer (2 kapsule)
Placebo	Placebo, broj kapsula usklađen s aktivnim tretmanom na temelju tjelesne mase	Placebo, broj kapsula usklađen s aktivnim tretmanom na temelju tjelesne mase

Kratice: CBD: kanabidiol

Kako bi se osigurala adekvatna adherencija, svaki je ispitanik upućen da popunjava dnevnik doziranja koji je na kraju pregledan od strane istraživača. U slučaju preskočene doze, ispitanicima je savjetovano da popiju dozu s idućom, ali da se prije toga konzultiraju s istraživačem.

Iako su dostupni podaci upućivali na minimalni rizik od nuspojava ovog dodatka prehrani, istraživački tim je pripremio protokol postupanja u slučaju pojave iste. Naime, ispitanicima je rečeno da se u slučaju sumnje na nuspojavu obvezno jave na dežurni telefon jednog od istraživača. Uz to, glavni istraživač studije, zajedno s dva istraživača studije s odobrenjem liječničke komore za obnašanje dužnosti liječnika, kontinuirano su nadzirali provođenje, podatke i sigurnost studije, uključujući praćenje i prikazivanje nuspojava. Nuspojave su bile procijenjene u skladu sa zajedničkim terminološkim kriterijima za nuspojave

(engl. *Common Terminology Criteria for Adverse Events*, CTCAE) verzija 5.0, a štetni događaji su ocjenjivani na temelju vjerojatnosti da su povezani s intervencijom.

Arterijski tlak mjereno je tijekom svakog od 6 posjeta Zavodu u skladu s važećim smjernicama za mjerenje krvnog tlaka (1), koristeći WatchBP Home A (Microlife AG, Swiss Corporation, Widnau, Švicarska). Arterijski tlak mjereno je u sjedećem položaju 3 puta tijekom svake posjete te je zabilježena srednja vrijednost. S druge strane, uzorci krvi za mjerenje katestatina izuzeti su iz kubitalne vene pomoću sterilne igle za jednokratnu upotrebu u 4 različite vremenske točke (na početku odgovarajućih perioda doziranja (CBD ili Placebo) i na kraju svakog perioda doziranja) ne bi li se uspostavila dinamika serumskih koncentracija katestatina u ovisnosti o tipu intervencije.

Prikupljene podatke od interesa istraživači studije su tijekom svakog posjeta bilježili i unosili u poseban istraživački obrazac (iskaznicu ispitanika), a potom su podaci arhivirani i zaštićeni jedinstvenom šifrom sudionika. Za čuvanje podataka korišten je upareni digitalni arhiv sastavljen od interne memorije računala i vanjskog tvrdog diska. Laboratorijska knjiga čuvana je na Zavodu za integrativnu fiziologiju. Po završetku istraživanja, podaci nisu postali javno dostupni jer će se dio podataka koristiti za daljnja istraživanja.

### **3.3. Statistička analiza podataka**

Podaci iz obje studije analizirani su pomoću softvera MedCalc (verzija 20.113, MedCalc Software BV, Ostend, Belgija) i Prism 8 za Windows® (verzija 8.01, GraphPad, La Jolla, CA, SAD). Kategorični podaci prikazani su kao apsolutni brojevi (N) i postotci (%), dok su kontinuirani podaci prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija (SD) ili medijan (interkvartilni raspon). Promjene u srednjem arterijskom tlaku prikazane su kao aritmetička sredina  $\pm$  SEM i odgovarajući 95 % interval pouzdanosti. Normalnost distribucije procijenjena je Kolmogorov–Smirnovljevim testom. Za analizu kategoričkih varijabli korišten je hi-kvadrat

( $\chi^2$ ) test. Osnovni podaci između glavnih interesnih skupina (bolesnici s hipertenzijom i zdrave kontrole) uspoređeni su ili studentovim t-testom ili Mann-Whitney U testom, ovisno o raspodjeli podataka. Nadalje, kako bismo utvrdili je li razlika u koncentracijama katestatina u serumu između liječene i neliječene skupine neovisna, upotrijebili smo neparametrijsku ANCOVA-u (Quade metoda). Kako bi se procijenila povezanost između prosječnog sistoličkog tlaka i razine katestatina, pacijenti su podijeljeni u tri različite skupine. Skupine su se temeljile na tercilama koncentracija katestatina, a vrijednosti tlaka su potom uspoređene koristeći jednosmjernu ANOVA-u s *post hoc* Tukey testom. Sukladno, jednosmjerna ANOVA je korištena za utvrđivanje razlike serumskih koncentracija katestatina s obzirom na kardiovaskularni rizik procijenjen AGE Readerom. Konačno, multipla linearna regresijska analiza korištena je za određivanje relativne važnosti nezavisnih varijabli (dob i ITM) u predviđanju koncentracije katestatina u serumu. Za detekciju multikolinearnosti u analizi linearne regresije korišten je faktor inflacije varijance (VIF). Kako bi se utvrdilo postoji li dinamika koncentracije katestatina u serumu tijekom svakog razdoblja, korišten je Friedmanov test s *post hoc* Conoverovim testom. Fluktuacije u MAP-u procijenjene su korištenjem *repeated measure* ANOVA. Uveli smo varijablu  $\Delta_{\text{CBD}}\text{Catestatin}$ , koja je definirana kao razlika između koncentracije katestatina u serumu na kraju razdoblja doziranja CBD-om i koncentracije katestatina na početku razdoblja doziranja CBD-om. U skladu s tim, također smo uveli  $\Delta_{\text{CBD}}\text{MAP}$ , varijablu koja je definirana kao razlika između MAP-a na kraju doziranja CBD-om i MAP-a na početku razdoblja doziranja CBD-a. Kako bismo ispitali korelaciju između koncentracije katestatina u serumu i MAP-a u svakoj pojedinoj vremenskoj točki, kao i korelaciju između katestatina,  $\Delta_{\text{CBD}}\text{Catestatina}$  i  $\Delta_{\text{CBD}}\text{MAP}$ , MAP-a, PWV-a i PRes-a upotrijebili smo Spearmanovu analizu korelacije po rang. Sukladno tomu, Spearmanovu analizu korelacije po rang koristili smo za utvrđivanje povezanosti između  $\Delta_{\text{CBD}}\text{MAP}$  i koncentracije CBD-a u plazmi. U ovoj analizi zabilježene su vrijednosti  $r$  korelacijskog

koeficijenta ( $\rho$ ) i dvostrane značajnosti ( $p$ ). Značajnost je postavljena na  $p < 0,05$  za sve usporedbe.

### **Izračun veličine uzorka**

Veličinu uzorka za prvu studiju izračunali smo pomoću statističkog programa MedCalc (MedCalc Software, Ostend, Belgium, verzija 20.113) na temelju pilot studije od 10 bolesnika s hipertenzijom i 10 zdravih kontrola. Za procjenu veličine uzorka koristili smo glavni ishod, odnosno serumske koncentracije katestatina. Koristeći test komparacije dviju srednjih vrijednosti za neovisne uzorke (Studentov t-test) prosječnih koncentracija katestatina u serumu između bolesnika s esencijalnom hipertenzijom i zdravih kontrola, izračunate pogreške tipa I od 0,05, i snage istraživanja od 90 %, izračunato je da je potrebno uključiti barem 34 ispitanika po skupini.

Veličinu uzorka za drugu studiju izračunali smo koristeći statistički program MedCalc (MedCalc Software, Ostend, Belgija, verzija 20.113) na temelju pilot studije od 10 bolesnika s hipertenzijom. Za procjenu veličine uzorka koristili smo glavni ishod, dinamiku serumskih koncentracija katestatina. Na temelju usporedbe prosječnih koncentracija katestatina u serumu na početku i na kraju perioda doziranja, uz pogrešku tipa I od 0,05, i snagu istraživanja od 90 %, izračunato je da je potrebno uključiti barem 44 ispitanika.



## **4. REZULTATI**

---

#### 4.1. Rezultati prvog dijela istraživanja

U istraživanje je bilo uključeno ukupno 72 bolesnika s dijagnosticiranom esencijalnom hipertenzijom i 72 kontrolna ispitanika bez značajne razlike u dobi između skupina ( $P = 0,652$ ). Promatrajući osnovne antropometrijske karakteristike ispitanika, poput indeksa tjelesne mase i omjera opsega struka-bokova, nije utvrđeno značajnih razlika u niti jednoj od istraživanih varijabli. Nadalje, nije bilo značajne razlike u učestalosti dislipidemije između skupina ( $P = 0,388$ ) ni u pojedinim frakcijama kolesterola, ali su ukupne količine kolesterola i triglicerida u krvi bile veće u bolesnika s hipertenzijom ( $P = 0,045$  i  $P = 0,014$ ). Konačno, značajke arterijske krutosti i vrijednosti 24-satnog tlaka bile su značajno veće u bolesnika s hipertenzijom ( $P < 0,001$  za sve usporedbe). Ostale osnovne karakteristike ispitanika prikazane su u **Tablici 7**.

**Tablica 7.** Osnovna obilježja ispitivane skupine prvog dijela istraživanja.

Parametar	Kontrolna skupina (n = 72)	Hipertenzivna skupina (n = 72)	P*
Dob, godine	57,2 ± 9,2	54,6 ± 8,8	0,652
Muški spol, n (%)	41 (56,9%)	45 (62,5%)	0,498
Indeks tjelesne mase, kg/m <sup>2</sup>	26,6 ± 2,8	27,2 ± 2,6	0,772
Omjer opsega struka i bokova	0,95 ± 0,31	0,98 ± 0,36	0,879
Dislipidemija, n (%)	43 (59,7%)	48 (66,7%)	0,388
Obiteljska anamneza KVB, n (%)	35 (48,6%)	30 (41,7%)	0,402
Vrijeme od dijagnoze, godine	N/P	4 (2 – 6)	N/P
24-satni arterijski tlak			
SBP, mmHg	121,7 ± 9,2	134,7 ± 13,0	<0,001
DBP, mmHg	78,4 ± 6,8	84,3 ± 10,3	<0,001
MAP, mmHg	91,5 ± 6,9	104,5 ± 10,8	<0,001
PWV, m/s	6,37 ± 1,43	8,05 ± 1,17	<0,001
Oštećenje ciljnih organa <sup>1</sup> , n (%)	2 (2,8%)	4 (5,6%)	0,681
Glukoza na tašte, mmol/L	5,1 ± 0,7	5,2 ± 0,6	0,083
Ukupni kolesterol, mmol/L	5,24 ± 1,19	5,61 ± 0,97	0,045
LDL-C, mmol/L	3,27 ± 1,07	3,43 ± 0,86	0,315
HDL-C, mmol/L	1,41 ± 0,32	1,51 ± 0,45	0,151
Trigliceridi, mmol/L	1,22 ± 0,63	1,54 ± 0,90	0,014

<sup>1</sup>Prema smjernicama ESC/EHA, brzina pulsog vala > 10 m/s smatra se oštećenjem ciljnih organa. Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija ili cijeli broj (postotak). Kratice: SBP: sistolički arterijski tlak (engl. *systolic blood pressure*); DBP: dijastolički arterijski tlak (engl. *diastolic blood pressure*); MAP: srednji arterijski tlak (engl. *mean arterial pressure*); LDL-C: lipoprotein niske gustoće; HDL-C: lipoprotein visoke gustoće; KVB: kardiovaskularne bolesti; N/P: nije primjenjivo; PWV: brzina pulsog vala (engl. *pulse wave velocity*) \* t-test za nezavisne uzorke ili hi-kvadrat test

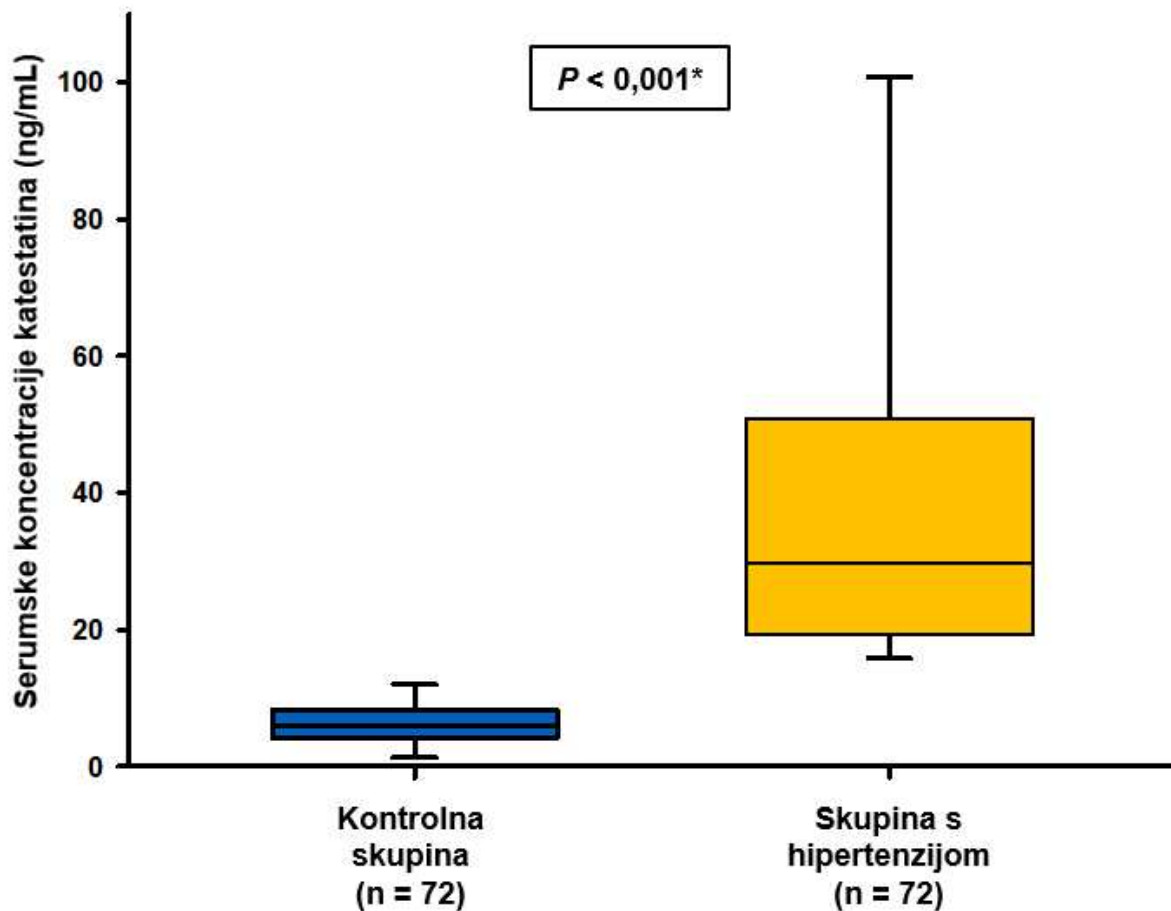
Usporedba ambulantnih vrijednosti arterijskog tlaka između liječene i neliječene skupine bolesnika s hipertenzijom prikazana je u **Tablici 8**. Neliječena skupina bolesnika imala je značajno kraće vrijeme od postavljanja dijagnoze hipertenzije ( $P < 0,001$ ). Nije bilo statistički značajnih razlika u odnosu na ostale prikazane varijable.

**Tablica 8.** Usporedba 24-satnih vrijednosti arterijskog tlaka i značajki povećane arterijske između liječenih i neliječenih bolesnika s esencijalnom hipertenzijom.

Parametar	Neliječena skupina (n = 38)	Liječena skupina (n = 34)	P*
Prosječni SBP, mmHg	135,4 ± 13,5	133,9 ± 12,6	0,632*
Prosječni DBP, mmHg	85,9 ± 11,0	82,3 ± 9,0	0,144*
Prosječni MAP, mmHg	105,8 ± 11,5	102,9 ± 9,9	0,265*
Dnevni SBP, mmHg	140,6 ± 13,1	137,8 ± 12,3	0,368*
Dnevni DBP, mmHg	90,4 ± 10,9	85,9 ± 8,7	0,264*
Dnevni MAP, mmHg	110,6 ± 11,0	106,6 ± 9,5	0,113*
Noćni SBP, mmHg	126,9 ± 17,2	127,5 ± 15,4	0,884*
Noćni DBP, mmHg	78,5 ± 13,9	76,3 ± 11,1	0,482*
Noćni MAP, mmHg	97,9 ± 14,7	96,9 ± 12,3	0,772*
Dipper, n (%)	22 (58%)	16 (47%)	0,361**
Vrijeme od dijagnoze, godine	3 (2 – 4)	5 (4,3 – 7,8)	<0,001***
Stupanj hipertenzije			
Blagi, n (%)	29 (76,3%)	30 (88,2%)	0,192**
Umjereni, n (%)	9 (23,7%)	4 (11,8%)	0,083
Pulse wave velocity, m/s	7,98 ± 1,22	8,13 ± 1,13	0,604*
Periferni otpor, dyn·s·cm <sup>-5</sup>	1,44 ± 0,11	1,42 ± 0,13	0,488*
cAIx@75bpm, %	30,1 ± 6,3	28,7 ± 7,9	0,424*

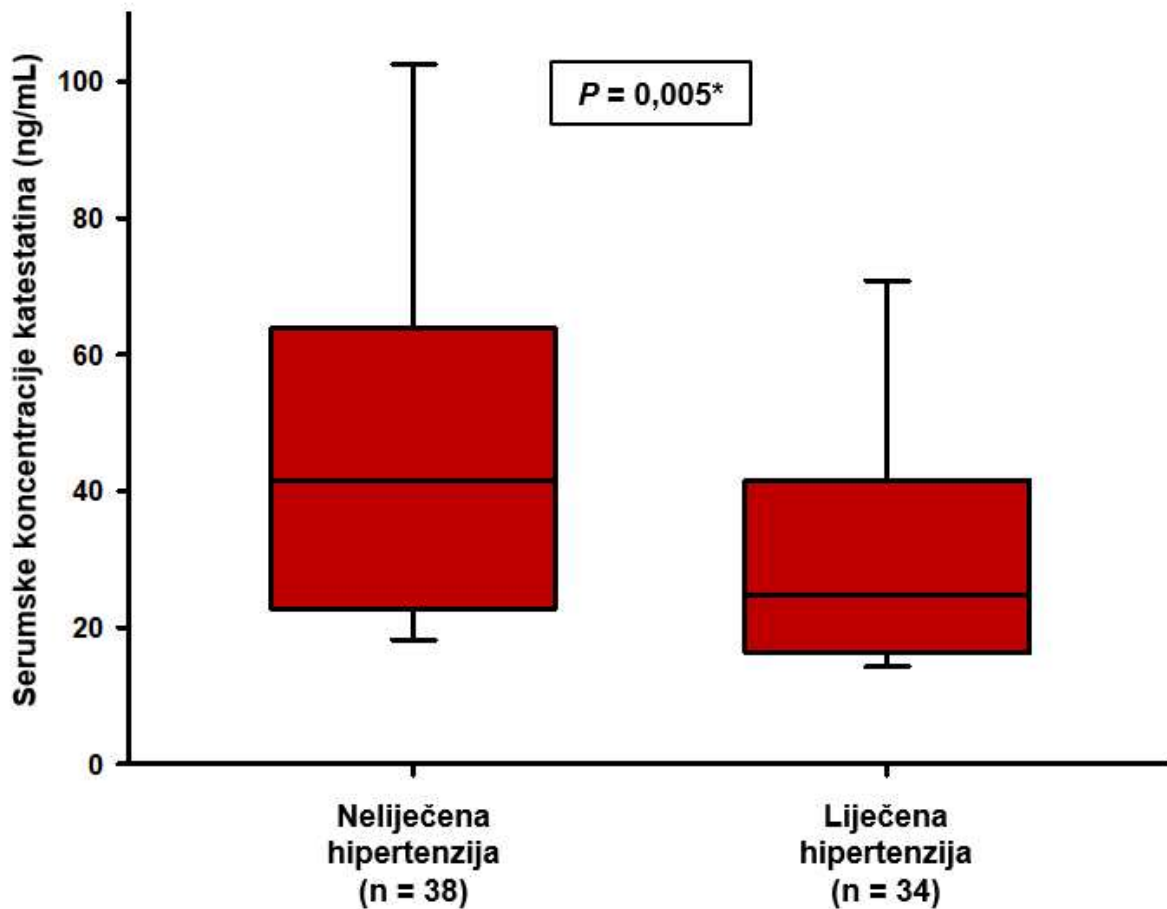
Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija ili cijeli broj (postotak). Kratice: SBP: sistolički arterijski tlak (engl. *systolic blood pressure*); DBP: dijastolički arterijski tlak (engl. *diastolic blood pressure*); MAP: srednji arterijski tlak; cAIx@75bpm: središnji indeks povećanja pri 75 otkucaja u minuti; PWV: brzina pulsnog vala (engl. *pulse wave velocity*). \*Studentov t-test \*\* $\chi^2$  test \*\*\*Mann-Whitney U test

U bolesnika s esencijalnom hipertenzijom, koncentracije katestatina u serumu bile su značajno veće u usporedbi sa zdravim kontrolama (29,70 (19,33 – 49,48) ng/mL vs. 5,83 (4,21 – 8,29) ng/mL,  $P < 0,001$ ) (Slika 9).



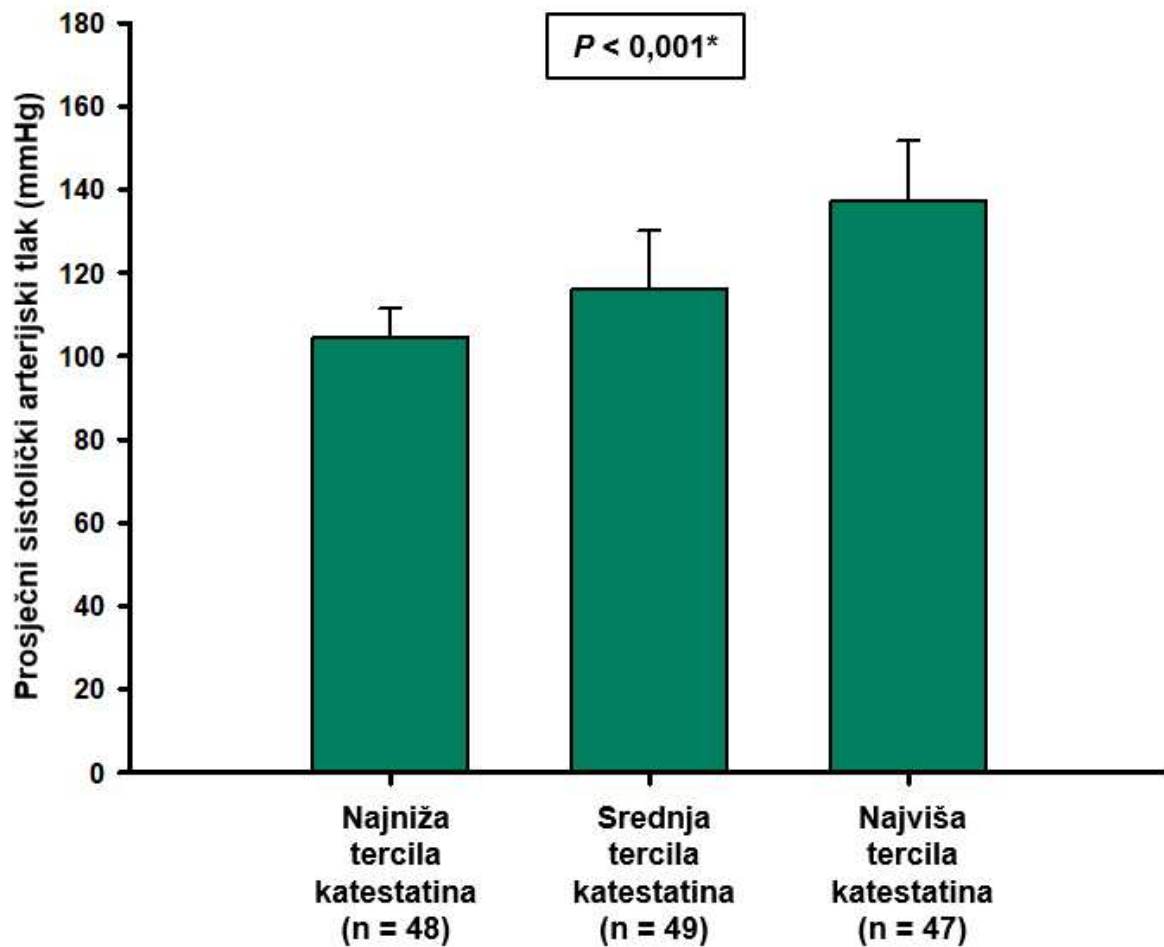
**Slika 9.** Usporedba koncentracija katestatina između bolesnika s esencijalnom hipertenzijom i zdravih kontrola. Podatci su prikazani kao medijan i interkvartilni raspon. \*Mann-Whitney U test

Neliječena podskupina bolesnika imala je značajno više razine katestatina u serumu u odnosu na bolesnike liječene antihipertenzivima (41,61 (22,85 – 63,83) ng/mL vs. 24,77 (16,41 – 40,21) ng/mL,  $P = 0,005$ ) (**Slika 10**). Važno je naglasiti da je rezultat ostao značajan čak i neovisno o srednjem arterijskom tlaku ( $F = 5,222$ ,  $P = 0,008$ ).



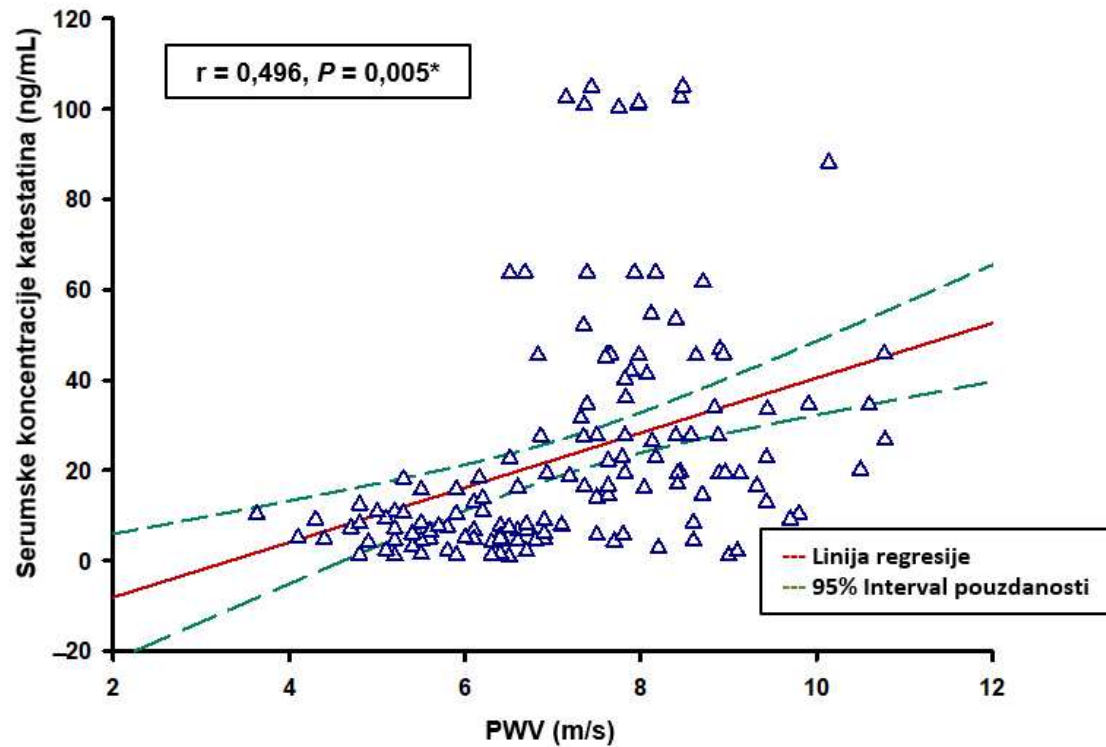
**Slika 10.** Usporedba koncentracije katestatina između liječenih i neliječenih bolesnika s esencijalnom hipertenzijom. Podatci su prikazani kao medijan i interkvartilni raspon. \*Mann-Whitney U test

Kako bi se istražila povezanost između katestatina i 24-satnih vrijednosti arterijskog tlaka, kreirali smo tri različite skupine prema tercilama koncentracija katestatina. Najniže razine prosječnog sistoličkog tlaka uočene su u tercili s najnižim razinama katestatina, značajno više u drugoj tercili, a najviše u tercili s najvišim razinama katestatina ( $104,4 \pm 7,1$  vs.  $111,7 \pm 10,7$  vs.  $128,1 \pm 13,5$  mmHg,  $P < 0,001$ ) (**Slika 11**). Nadalje, utvrđena je pozitivna korelacija između 24-satnog srednjeg arterijskog tlaka i katestatina ( $r = 0,409$ ,  $P < 0,001$ ), a multipla linearna regresijska analiza pokazala je da su razine katestatina u serumu zadržale značajnu povezanost s 24-satnim srednjim arterijskim tlakom ( $\beta \pm$  standardna pogreška,  $0,8123 \pm 0,3037$ ,  $P = 0,009$ ) nakon prilagodba modela za dob i ITM.

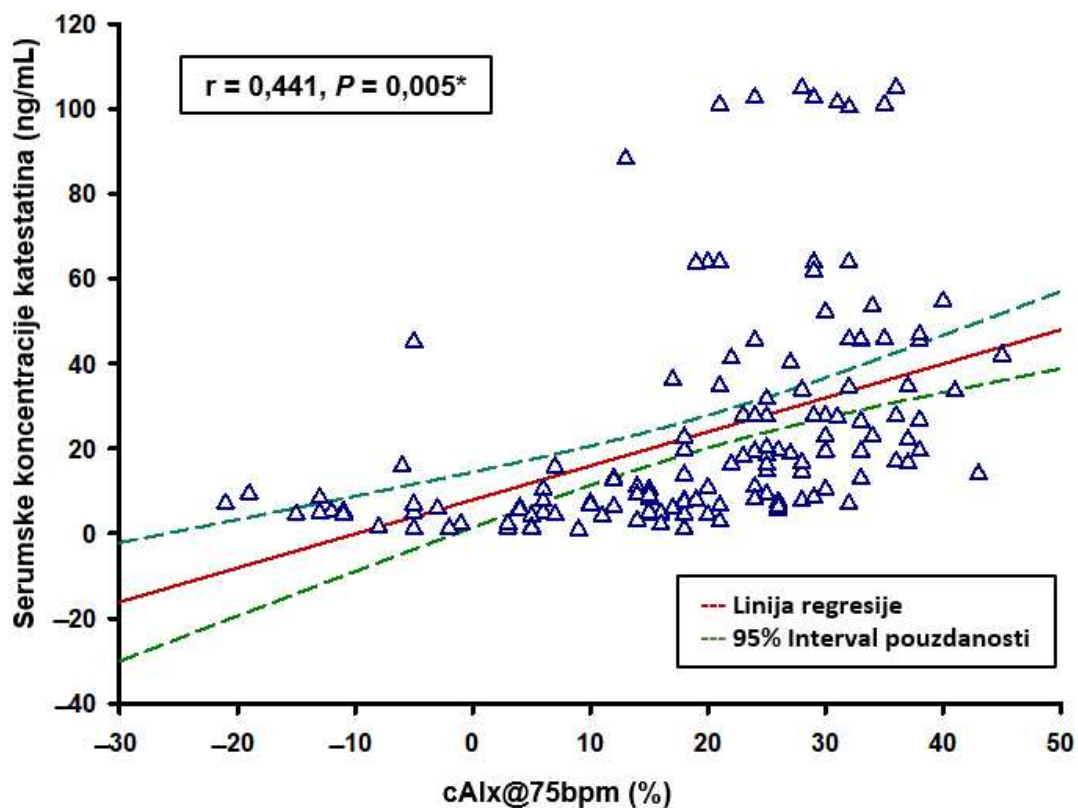


**Slika 11.** Usporedba 24-satnih vrijednosti sistoličkog arterijskog tlaka između grupa podijeljenih prema tercilama serumskih koncentracija katestatina. Podatci su prikazani kao aritmetička sredina  $\pm$  standardna devijacija. \**One-way ANOVA s post hoc Tukey-jevim test*

Konačno, istražili smo povezanost između katestatina i značajki povećane arterijske krutosti. Razine katestatina u serumu pozitivno su korelirale s PWV ( $r = 0,496$ ,  $P < 0,001$ ) i cAIx-75 ( $r = 0,441$ ,  $P < 0,001$ ), ali ne i s perifernim otporom ( $r = 0,187$ ,  $P = 0,123$ ) ili (Slike 12-14).

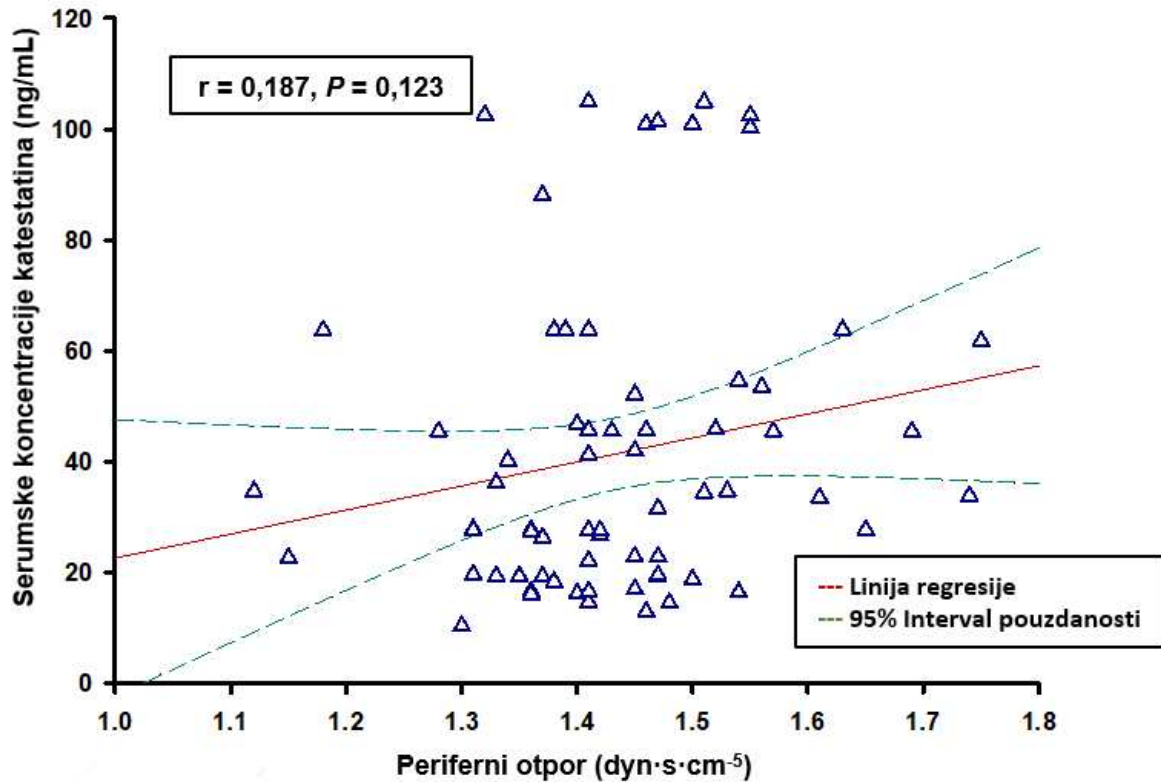


**Slika 12.** Analiza korelacija između koncentracija katestatina u serumu i PWV-a. Kratice: PWV: brzina pulsog vala (engl. *pluse wave velocity*). \*Spearmanova korelacijska analiza



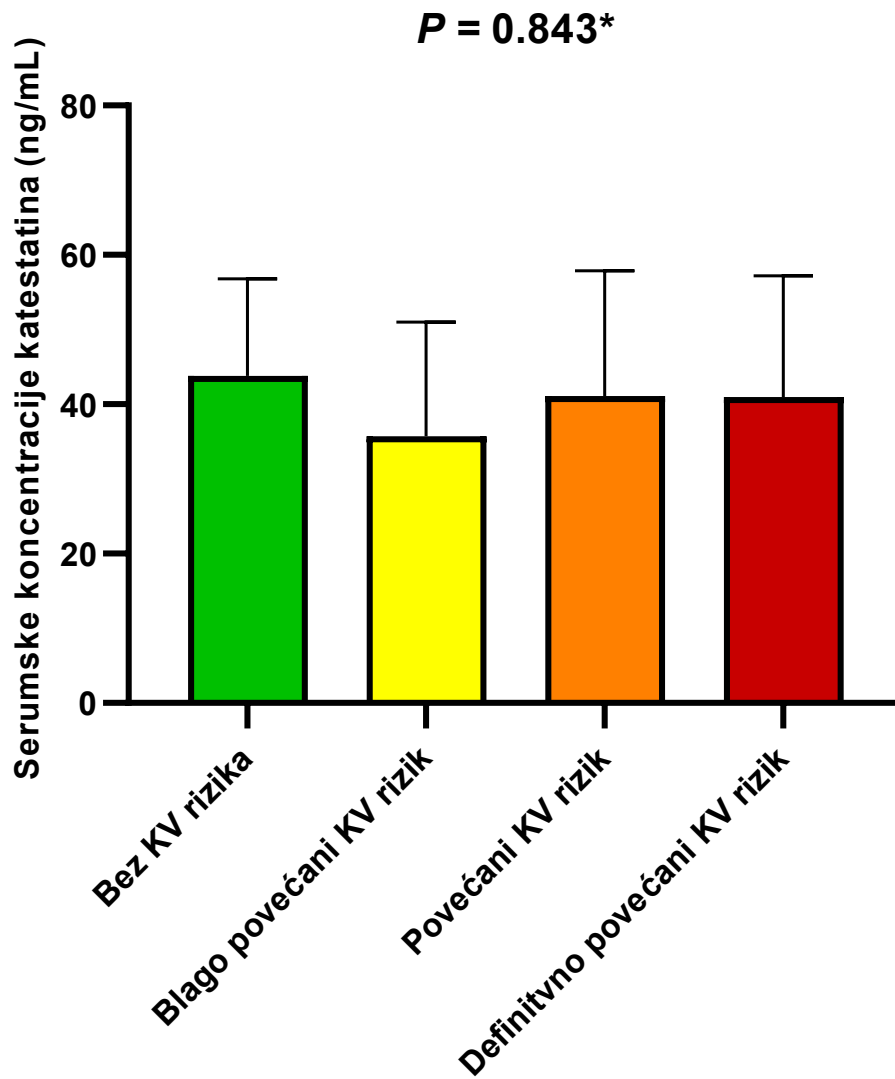
**Slika 13.** Analiza korelacija između koncentracija katestatina u serumu i cAIx-75. Kratice: cAIx-75: središnji indeks augmentacije pulsa pri 75 otkucaja u minuti (engl. *central augmentation index at 75 bpm*). \*Spearmanova korelacijska analiza





**Slika 14.** Analiza korelacija između koncentracija katestatina u serumu i perifernog otpora.  
\*Spearmanova korelacijska analiza

Analiza završnih produkata glikacije mjerena AGE Readerom pokazala je da serumske koncentracije katestatina ne ovise o kardiovaskularnom riziku procijenjenom navedenom metodom ( $P = 0.843$ ) (**Slika 15**).



**Slika 15.** Usporedba serumskih koncentracija katestatina između grupa podijeljenih prema KV riziku utvrđenom koristeći AGE Reader. Podatci su prikazani kao aritmetička sredina  $\pm$  standardna devijacija. Kratice: KV: kardiovaskularni. \**One way ANOVA s post hoc Tukey-jevim test*

## 4.2. Rezultati drugog dijela istraživanja

U ovu analizu bila su uključena ukupno 54 bolesnika s primarnim oblikom hipertenzije. Analizom su bila obuhvaćena 33 ispitanika muškog spola i 21 ispitanica ženskog spola. Prosječna dob ispitanika bila je  $55,3 \pm 7,0$  godina, dok je srednji arterijski tlak iznosio  $103,2 \pm 10,0$  mmHg. Najveći dio ispitanika liječen je isključivo ACE inhibitorima (48,3 %), a značajan dio ispitanika nije nikada uzimao antihipertenzivnu terapiju (46,3 %), unatoč tomu što je prosječno vrijeme od dijagnoze bilo 4 godine. Osnovne karakteristike od interesa s početka studije detaljno su prikazane u **Tablici 9**.

**Tablica 9.** Osnovna obilježja ispitivane skupine drugog dijela istraživanja.

Parametar	Ispitanici s hipertenzijom (n=54)
Dob, godine	55,3 ± 7,0
Muški spol, n (%)	33 (61,1%)
Obiteljska anamneza KVB, n (%)	24 (44,4%)
Vrijeme od dijagnoze, godine	4 (2-6)
Indeks tjelesne mase, kg/m <sup>2</sup>	28,5 ± 3,4
Omjer opsega struka i bokova	0,95 ± 0,08
Ukupni kolesterol, mmol/L	5,6 ± 1,0
LDL-C, mmol/L	3,4 ± 0,9
HDL-C, mmol/L	1,5 ± 0,4
Trigliceridi, mmol/L	1,6 ± 0,9
Aspartat transaminaza, U/L	25,4 ± 9,2
Alanin transaminaza, U/L	27,5 ± 14,8
Gama-glutamil transferaza, U/L	18 (13-28)
Kreatinin, μmol/L	76,2 ± 14,9
Bilirubin, μmol/L	9,1 ± 3,8
HbA1c, %	5,7 ± 0,4
Terapija	
ACE inhibitor	14 (48,3%)
ACE inhibitor + blokator kalcijских kanala	11 (37,9%)
ACE inhibitor + tiazidni diuretik	4 (13,8%)
Bez terapije	25 (46,3%)
Početni tlak	
SBP, mmHg	133,4 ± 12,5
DBP, mmHg	83,0 ± 10,9
MAP, mmHg	103,2 ± 10,0

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija, medijan (interkvartilni raspon) ili cijeli broj (postotak). Kratice: SBP: sistolički arterijski tlak (engl. *systolic blood pressure*); DBP: dijastolički arterijski tlak (engl. *diastolic blood pressure*); MAP: srednji arterijski tlak (engl. *mean arterial pressure*); LDL-C: lipoprotein niske gustoće; HDL-C: lipoprotein visoke gustoće; KVB: kardiovaskularne bolesti.

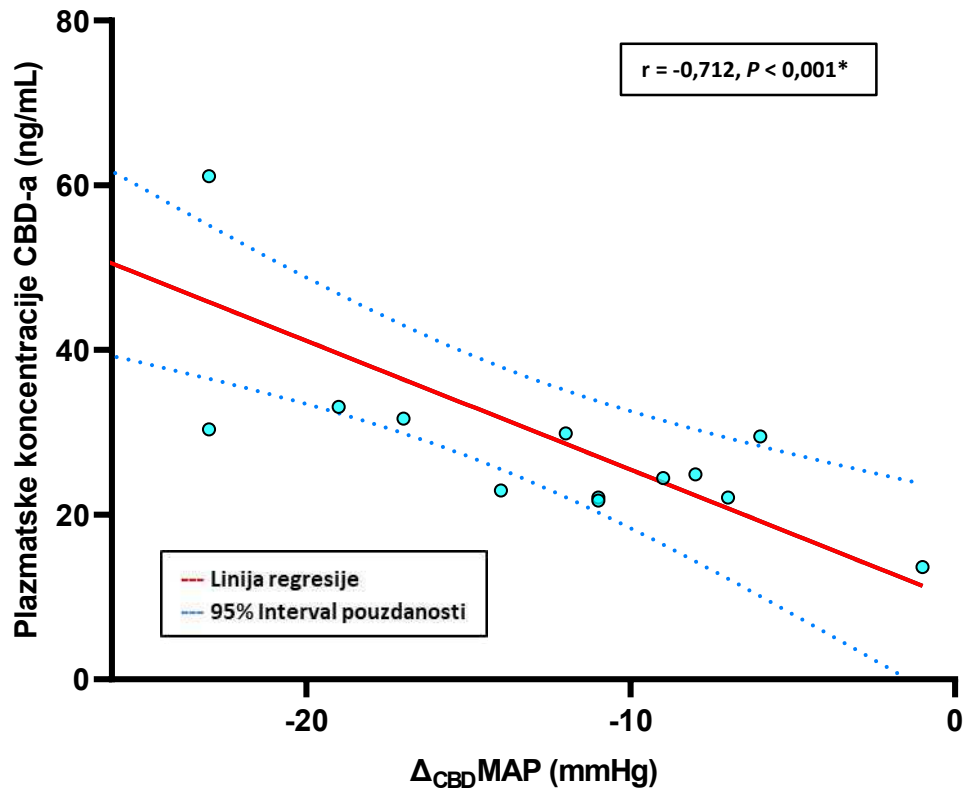
Adherencija korištenoj formulaciji CBD-a potvrđena je analizom CBD-a i njegovih metabolita u krvi i urinu (7-OH-CBD i 7-COOH-CBD) u 15 nasumično odabranih ispitanika. Naime, uslijed petotjednog doziranja CBD-om došlo je do značajnog povećanja koncentracije CBD-a, 7-OH-CBD-a i 7-COOH-CBD-a (**Tablica 10**).

**Tablica 10.** Usporedba koncentracija CBD-a i njegovih metabolita u krvi i urinu uslijed petotjednog doziranja CBD-om.

Uzorak	Parametar	Prije doziranja CBD-om	Nakon 5 tjedana oralne suplementacije CBD-om	P*
Plazma (ng/mL)	CBD	0 (0)	43.1 (33.3)	0,001*
	7-OH-CBD	0 (0)	30.01 (28.19)	0,001*
	7-COOH-CBD	0 (0)	1589.77 (2786.08)	0,001*
Urin (ng/mL)	CBD	0 (0)	0 (0)	N/P
	7-OH-CBD	0 (0)	0 (7.43)	0,264*
	7-COOH-CBD	0 (0)	9.06 (9.813)	0,113*

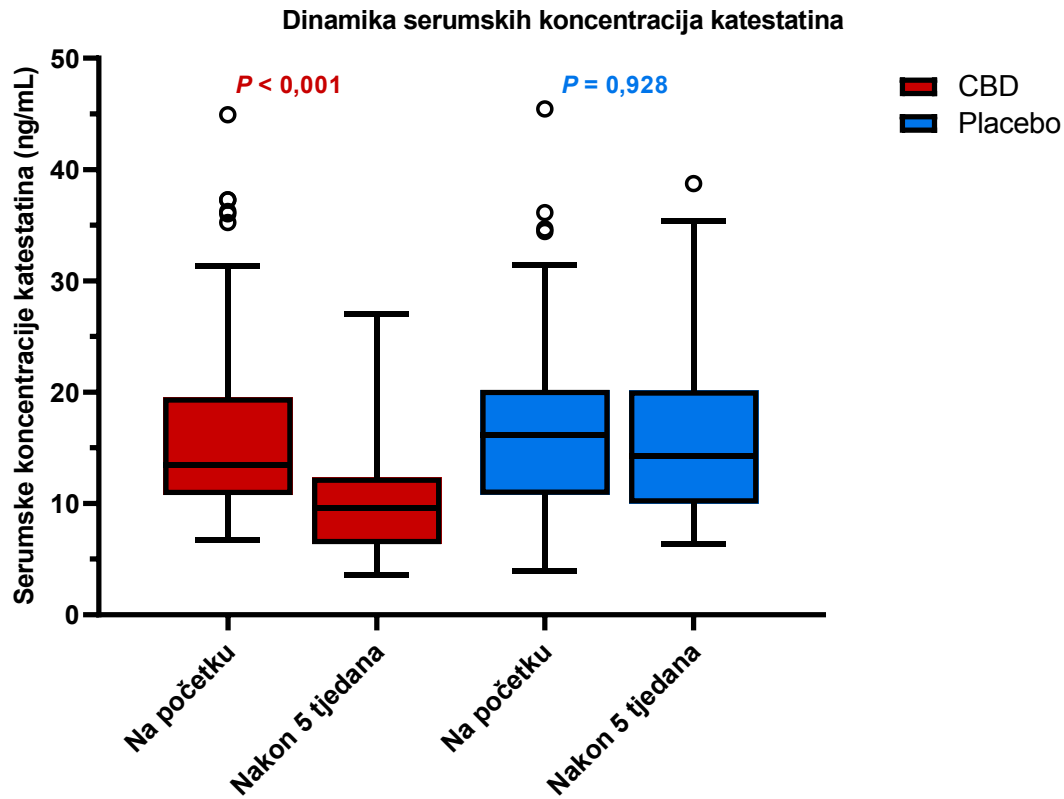
Podatci su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon). Kratice: N/P: nije primjenjivo; CBD: kanabidiol \*Wilcoxon test

Nadalje, na istom nasumično odabranom uzorku od 15 bolesnika utvrđena je negativna korelacija između promjene srednjeg arterijskog tlaka za vrijeme perioda doziranja CBD-om ( $\Delta_{\text{CBDMAP}}$ ) ( $r = -0,712$ ,  $P < 0,001$ ) (**Slika 16**).

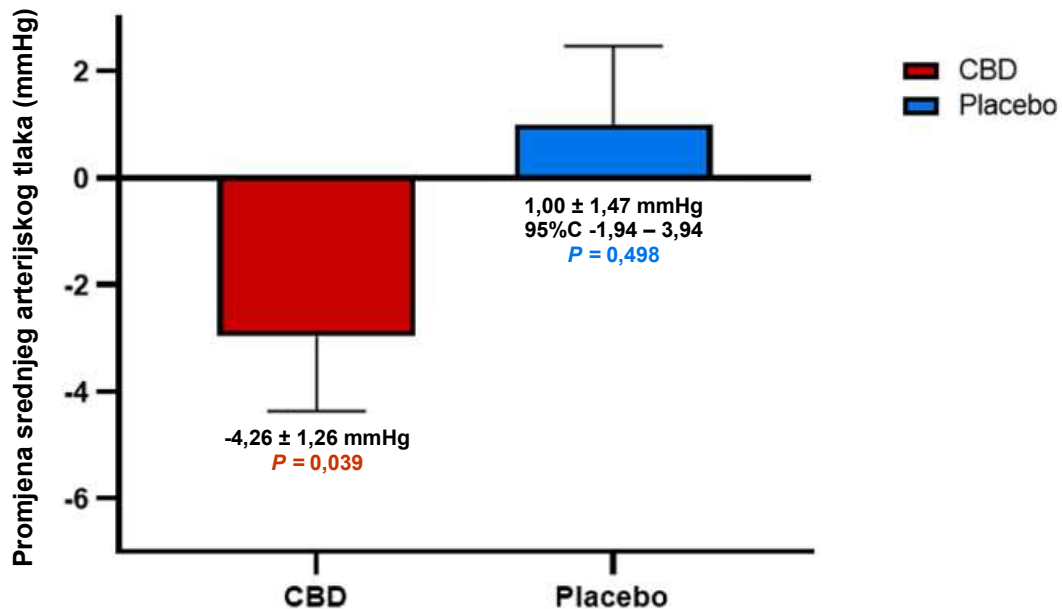


**Slika 16.** Korelacija između plazmatskih koncentracija CBD-a i  $\Delta_{\text{CBD}}\text{MAP}$ . a) na početku placebo perioda; b) na početku CBD perioda. Kratice: KV: kardiovaskularni; \*Spearmanova korelacijska analiza

Petotjedna primjena CBD formulacije značajno je reducirala koncentraciju katestatina u serumu u usporedbi s početnom vrijednošću (13,50 (10,85 – 19,05) vs. 9,65 (6,37 – 12,26) ng/mL,  $P < 0,001$ ) (**Slika 17**). S druge strane, uslijed placebo intervencije takva dinamika nije primijećena (16,11 (10,82 – 19,78) vs. 14,31 (10,07 – 19,90) ng/mL,  $P = 0,928$ ) (**Slika 17**). Sukladno tome, srednji arterijski tlak pao je za  $4,26 \pm 1,26$  mmHg nakon petotjednog razdoblja doziranja CBD-a ( $P = 0,039$ ), ali ne i uslijed placebo intervencije ( $P = 0,498$ ) (**Slika 18**). Promjena koncentracije katestatina u serumu i smanjenje srednjeg arterijskog tlaka nisu ovisili o redosljedu doziranja CBD-a (AB sekvenca vs. BA sekvenca).

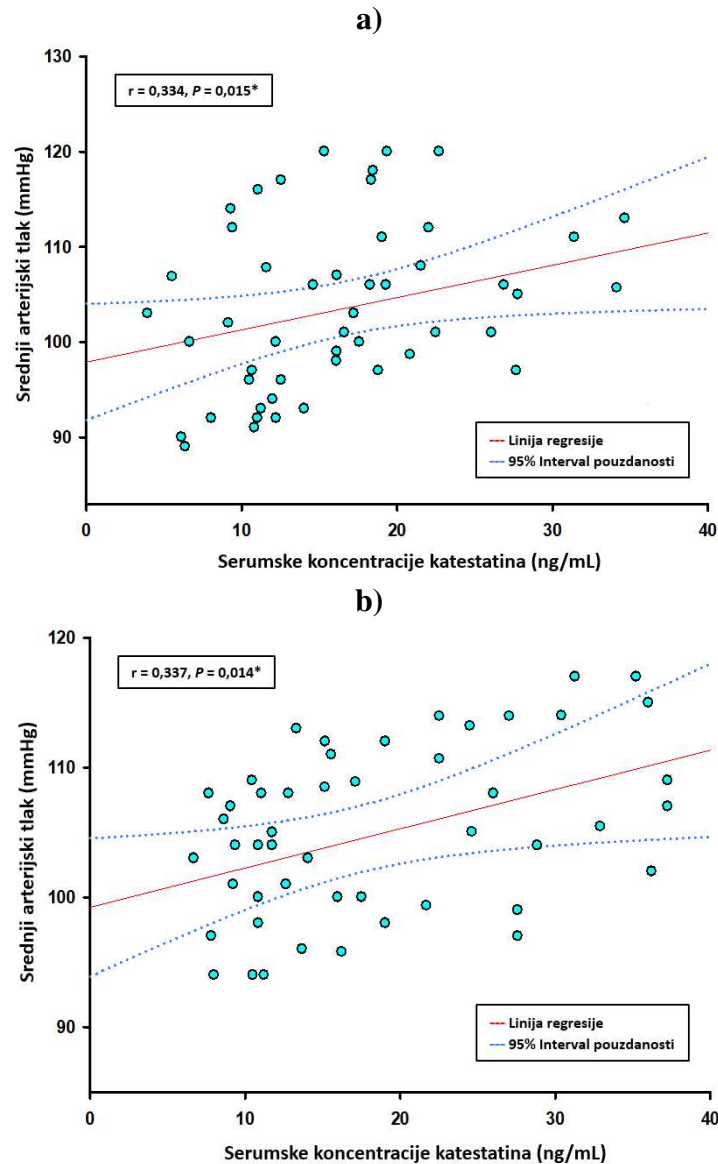


**Slika 17.** Učinak petotjedne primjene CBD-a na razine katestatina u serumu. Podatci su prikazani kao medijan i IQR. \*Friedmanov test s *post hoc* Wilcoxonovim testom



**Slika 18.** Učinak petotjedne primjene CBD-a na srednji arterijski tlak. Podatci su prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  SEM i 95 % interval pouzdanosti. Podatci su analizirani koristeći *repeated measure* ANOVA.

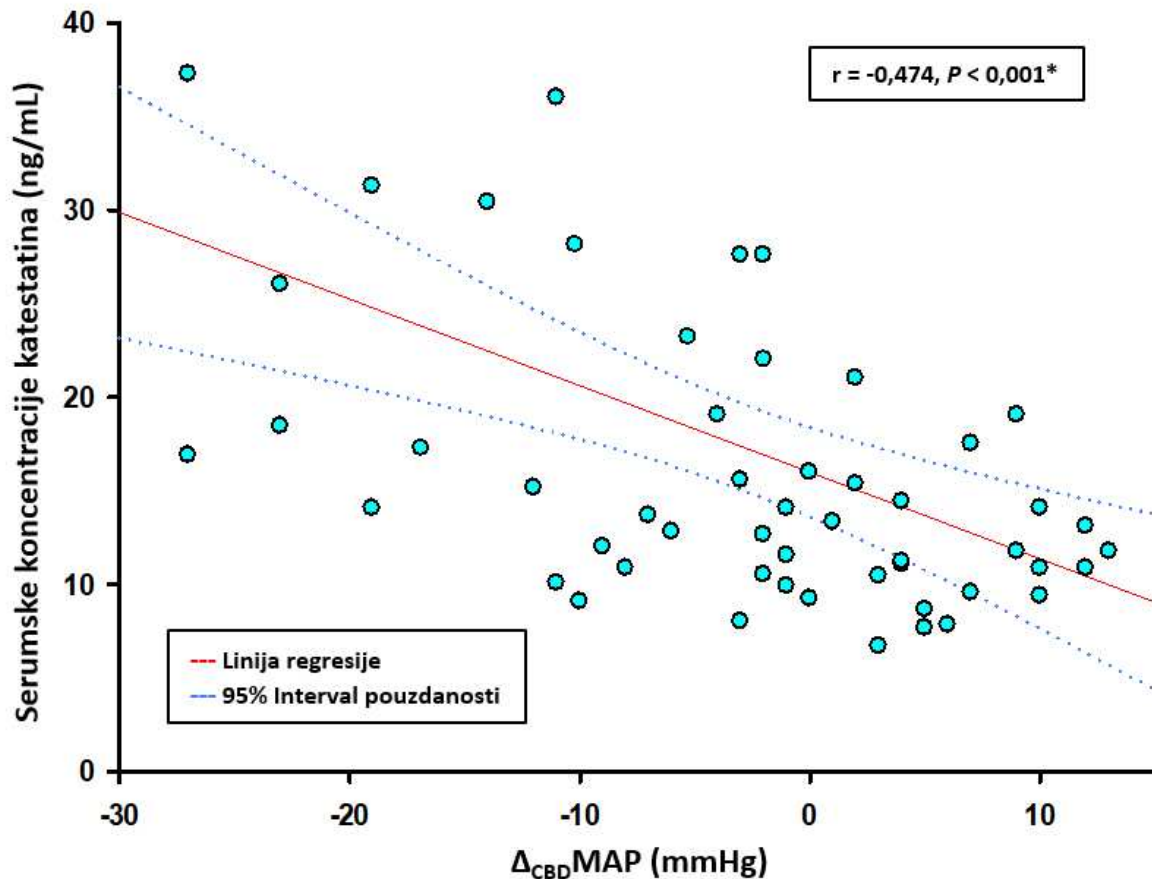
Nadalje, serumske razine katestatina pozitivno su korelirale sa srednjim arterijskim tlakom na početku oba perioda doziranja ( $r=0.334$ ,  $P=0.015$  za Placebo period i  $r=0.337$ ,  $P=0.014$  za CBD period) (Slike 19a i 19b).



**Slika 19.** Korelacija između koncentracije katestatina u serumu i srednjeg arterijskog tlaka. a) na početku placebo perioda; b) na početku CBD perioda. \*Spearmanova korelacijska analiza

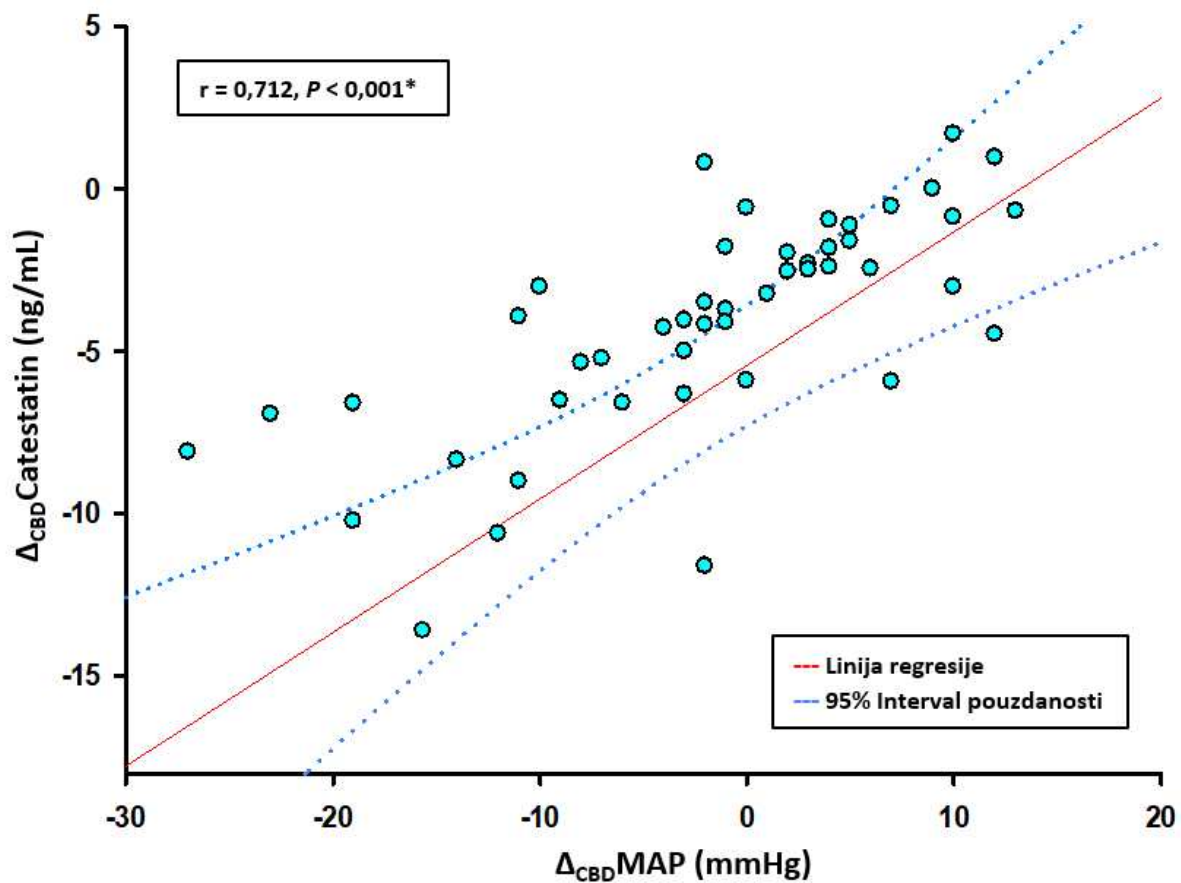
Štoviše, razine katestatina u serumu na početku razdoblja liječenja pokazale su negativnu korelaciju s promjenom  $\Delta_{\text{CBD}}\text{MAP}$ , definiranom kao razlika između srednjeg arterijskog tlaka na kraju petotjedne primjene CBD-a i istog tlaka na početku ( $r = -0.474$ ,  $P < 0.001$ ) (Slika 20).





**Slika 20.** Korelacija između koncentracija katestatina u serumu na početku CBD razdoblja i  $\Delta_{\text{CBD}}\text{MAP}$ . Kratice: MAP: srednji arterijski tlak. \*Spearmanova korelacijska analiza

Sukladno tomu, multipla linearna regresijska analiza utvrdila je da  $\Delta_{\text{CBD}}\text{MAP}$  korelira s katestatinom na početku perioda doziranja bez obzira na dob, ITM i status liječenja (prethodno antihipertenzivno liječenje) ( $\beta \pm \text{SE}$ ,  $-0,52 \pm 0,13$ ,  $P < 0,001$ ). Konačno,  $\Delta_{\text{CBD}}\text{Catestatin}$ , definiran kao razlika između koncentracije katestatina u serumu na kraju petotjedne primjene CBD-a i početne vrijednosti katestatina, pokazao je jaku pozitivnu korelaciju s  $\Delta_{\text{CBD}}\text{MAP}$  ( $r = 0,712$ ,  $P < 0,001$ ) (**Slika 21**).



**Slika 21.** Korelacija između  $\Delta_{\text{CBD}} \text{Catestatina}$  i  $\Delta_{\text{CBD}} \text{MAP}$ . Kratice: MAP: srednji arterijski tlak.  
\*Spearmanova korelacijska analiza

## **5. RASPRAVA**

---

Rezultati provedenog istraživanja ukazuju na to da su serumske koncentracije katestatina veće u odnosu na zdrave kontrole istih dobno-spolnih i antropometrijskih karakteristika. Među populacijom hipertoničara, razine katestatina bile su veće u bolesnika koji nisu liječeni antihipertenzivima, u odnosu na bolesnike liječene antihipertenzivima. Uz to, uočena je pozitivna korelacija između serumskih koncentracija katestatina, vrijednosti prosječnog 24 satnog tlaka i značajki povećane arterijske krutosti. Rezultati drugog dijela istraživanja pokazali su da petotjedna primjena CBD-a, ali ne i placebo, rezultira smanjenjem serumskih koncentracija katestatina u bolesnika s esencijalnom hipertenzijom. Nadalje, početne serumske koncentracije katestatina korelirale su s padom srednjeg arterijskog tlaka uslijed petotjedne oralne primjene CBD-a, a također je uočena pozitivna korelacija između dinamike katestatina i opservirane dinamike srednjeg arterijskog tlaka. Prema našim saznanjima, provedeno istraživanje je prvo u kojem se promatrala dinamika serumskih koncentracija katestatina u ovisnosti o CBD-induciranim promjenama arterijskog tlaka u bolesnika s esencijalnom hipertenzijom. Također, po prvi puta su serumske koncentracije katestatina povezane s vrijednostima prosječnog 24-satnog tlaka. Konačno, pouzdanost rezultata naše studije proizlazi iz činjenice da je adherencija ispitanika koji su uzimali CBD potvrđena mjerenjem CBD-a i njegovih metabolita u plazmi i urinu. Analogno tomu, plazmatske koncentracije CBD-a korelirale su sa smanjenjem tlaka uslijed petotjednog doziranja.

U jednoj od temeljnih studija, O'Connor i sur. izvijestili su da se serumske koncentracije katestatina u hipertenzivnih bolesnika ne razlikuju od koncentracija u normotenzivnih bolesnika (317). Međutim, također su izvijestili i da su razine katestatina bile manje u normotenzivnih bolesnika koji u obiteljskoj anamnezi imaju hipertenziju (engl. *family history+*, FH+) u usporedbi s FH- normotenzivnim bolesnicima, unatoč usporedivim vrijednostima krvnog tlaka između skupina. Vrlo je važno naglasiti da se hipertenzivna skupina

iz ove studije, značajno razlikuje od kontrolne skupine u istoj studiji u više parametara koji su mogli utjecati na serumski katestatin. Najznačajniji od tih su dob, indeks tjelesne mase i koncentracija glukoze u krvi (318,319). Autori su istina proveli multiplu linearnu regresiju ne bi li ispitali značajnost učinka FH na katestatin, ali nije isključeno mogu li te razlike utjecati na koncentracije katestatina u serumu u bolesnika s EH. U kasnijoj studiji, isti su autori pokazali marginalno više koncentracije ChgA, a niže katestatina u skupini bolesnika s hipertenzijom, iako se mora obratiti pozornost na činjenicu da rezultati nisu prilagođeni s obzirom na niti jedan od do sada utvrđenih čimbenika koji mogu utjecati na serumske razine katestatina (320). U okviru prve studije mi smo nastojali prilagoditi ove zbunjujuće faktore time što smo uspostavili kontrolnu skupinu usklađenu prema dobi, spolu, ITM-u, glukozi u krvi, ali i HDL kolesterolu, budući da je korelacija između HDL-a i katestatina prethodno utvrđena (321,322).

Bez obzira na očite nedostatke, studije O'Connora i sur. adresirale su koliko je zapravo složena uloga katestatina u patofiziologiji EH. Naime, pretpostavlja se da se u ranim stadijima hipertenzije, čak i u prehipertenziji (iako treba imati na umu da novije smjernice više ne koriste navedeni pojam), niske koncentracije katestatina u serumu i popratni gubitak njegovih vazodilatacijskih i inhibicijskih učinaka na simpatički živčani sustav bi mogli pridonijeti budućem razvoju EH. S druge strane, kako hipertenzija progredira, razine katestatina mogle bi se povećati kako bi se kompenzacijski inhibiralo prekomjerno izlučivanje kateholamina (323). Schillaci i sur. idu korak dalje i proširuju takve predodžbe tvrdeći da katestatin dugoročno antagonizira desenzibilizaciju nikotinskih kolinergičkih receptora, do koje inače dolazi dugotrajnom izloženošću njegovim agonistima, pa tako čak u konačnici pridonosi patofiziologiji EH (324). Sukladno tvrdnjama Schilaccija i sur., više je studija pokazalo da su serumske razine katestatina i ChgA značajno veće u bolesnika s hipertenzijom, nego u bolesnika bez hipertenzije, i to u različitim populacijama (321,323,325,326). Ipak, valja naglasiti da u našoj studiji nismo pronašli značajnu korelaciju između katestatina i trajanja

hipertenzije, iako je u tom vidu važno naglasiti da smo samo imali podatak vremena od postavljanja dijagnoze hipertenzije, a ne vremena od početka bolesti, što predstavlja značajan zbunjujući faktor u interpretaciji. Naime, poznata je činjenica da se hipertenzija razvija dugi niz godina prije nego li se otkrije. Osim toga, vrijedno je spomenuti da su Tüten i sur. pronašli veće serumske koncentracije katestatina u preeklampsiji, primjeru hipertenzivnog stanja koja se razvija u relativno kratkom roku (325).

Iako bismo prema gore navedenim hipotezama očekivali veće serumske razine katestatina u liječenih pacijenata, uzimajući u obzir i to da je trajanje bolesti kod tih ispitanika bilo duže, naši rezultati ipak su pokazali obrnuto. Dosada su provedene dvije studije u kojima je katestatin uspoređivan s obzirom na primjenu antihipertenziva i niti jedna nije uspjela demonstrirati razliku koju smo mi opservirali (317,323). Više čimbenika moglo bi objasniti odstupanje naših rezultata i dostupne literature. Za početak, u studiji Menga i sur., pacijenti su bili liječeni blokatorima kalcijjskih kanala i/ili diureticima, dok se antihipertenzivno liječenje u našoj studiji uglavnom baziralo na ACE inhibitorima, čija je međuovisnost s aktivnosti simpatičkog živčanog sustava dobra etablirana, za razliku od blokatora kalcijjskih kanala i diuretika (327). Dodatno, vrijedno je spomenuti da vazoprotektivni učinci katestatina uključuju i ACE2 (322). S druge strane, studija O'Connora i sur. imala je relativno malu neliječenu skupinu ( $n = 13$ ), a režimi liječenja hipertenzije sastojali su se od palete različitih antihipertenzivnih lijekova, uključujući beta-adrenergičke antagoniste, alfa1-adrenergičke antagoniste, alfa2-adrenergičke agoniste, antagoniste angiotenzinskih receptora i ACE inhibitore. Nažalost, u ovu studiju nismo uključili sudionike liječene isključivo blokatorima kalcijjskih kanala ili diureticima, a smatramo da bi nam uključivanje takvih sudionika pružilo dodatni uvid, budući da bi rasvijetlilo jesu li promjene posljedica same terapije ACE inhibitorima. Unatoč tomu što su beta blokatori danas rijetko korišteni kao ekskluzivni antihipertenzivi, veliki broj bolesnika s hipertenzijom ih pije zbog drugih indikacija, stoga bi

rezultati bolesnika liječenih tim lijekovima također bili zanimljivi. To u okviru našeg istraživanja nije bilo moguće, s obzirom na to da je jedan od isključnih kriterija za obje studije bila terapija beta blokatorima. Takve ispitanike smo isključili upravo jer smo željeli spriječiti izravan efekt beta blokatora na simpatičku aktivaciju, a time i na serumske koncentracije katestatina. Ipak, u odvojenom istraživanju koje smo proveli na bolesnicima s atrijskom fibrilacijom, utvrdili smo da bolesnici liječeni beta blokatorima (op. a. bisoprolol 2,5 mg ili više) imaju veće serumske razine katestatina u odnosu na bolesnike koje ili nisu liječeni beta blokatorima ili su liječeni minimalnom dozom (bisoprolol 1,25 mg) (328). Na temelju ostalih rezultata zaključeno je da razlika počiva na samim razlikama u težini bolesti između takvih bolesnika. Naime, bolesnici na višim dozama beta blokatora ujedno su i populacija koja zahtijeva stroži „rate control“ pristup.

Podijelivši bolesnike s hipertenzijom u tercile prema razinama katestatina u serumu, primijetili smo da tercile ispitanika s višim koncentracijama katestatina imaju značajno veće 24-satne vrijednosti sistoličkog tlaka. Sukladno tome, utvrđena je pozitivna korelacija između katestatina i 24-satnog srednjeg arterijskog tlaka, a također je i multivarijantnom analizom demonstrirano da je takva korelacija neovisna o dobi i ITM-u. Ovakvi rezultati idu u prilog dostupnim podacima i prethodno navedenim teorijama o ulozi dinamike katestatina u progresiji hipertenzije (325). Ipak, kako su prethodne studije do sada pokazale takvu povezanost samo s uredskim vrijednostima krvnog tlaka te s obzirom da je sada već dobro etablirano da je prosječni 24-satni arterijski tlak pouzdaniji pokazatelj krvnog tlaka, osobito u pogledu razvoja hipertrofije lijeve klijetke i ishoda, ova studija značajno potkrepljuje prethodna zapažanja (329). Ipak, patofiziološka pozadina istog opažanja još uvijek ostaje nepotpuno rasvijetljena. Kao što je već navedeno, nejasno je rastu li razine katestatina u serumu s porastom arterijskog tlaka kao oblik "neuspješnog" kompenzacijskog mehanizma ili povišeni katestatin zapravo doprinosi patofiziologiji hipertenzije održavajući oslobađanje kateholamina. Konkretno,

pretkliničke studije ukazuju na to da katestatin snižava arterijski tlak u akutnom stanju izravnom vazodilatacijom i posredovanjem u središnjim nikotinskim acetilkolinским receptorima i  $\beta$ -adrenoreceptorima koji su uključeni u kardiovaskularnu regulaciju, dok nokaut *ChgA*-gena (na modelu glodavaca) uzrokuje povišenje krvnog tlaka koje se normalizira intraperitonealnom primjenom katestatina (330-334). S druge strane, spomenuli smo kako je utvrđeno da katestatin sprječava nikotinom izazvanu desenzibilizaciju otpuštanja kateholamina, čime se održava otpuštanje kateholamina (335). Autori spomenute studije pretpostavljaju da bi ovaj fenomen mogao biti koristan u suočavanju ljudi sa stresom. Na temelju utvrđenih pretkliničkih podataka, možemo spekulirati da katestatin u početku predstavlja kompenzacijski mehanizam usmjeren na sniženje krvnog tlaka, koji s vremenom dovodi do daljnje progresije hipertenzije, osobito u skupini bolesnika u kojih je pojačana aktivnost simpatičkog živčanog sustava u osnovi patofiziologije EH. Još jedna točka koja zahtijeva pozornost je eklektična priroda katestatina. Točnije, visoke razine katestatina uočene u okviru naše studije vjerojatno nisu rezultat izlučivanja katestatina isključivo iz kromafinih stanica, već odražavaju izlučivanje iz različitih tkiva, poput miokarda, što dodatno ometa tumačenje rezultata.

Rezultati koje smo dobili proučavajući povezanost značajki arterijske krutosti i serumskih koncentracija katestatina iz ove studije u skladu su s dostupnim dokazima. Naime, u našoj prethodnoj studiji provedenoj na populaciji bolesnika s upalnim bolestima crijeva, pokazali smo da je PWV, izmjeren aplanacijskom tonometrijom, u pozitivnoj korelaciji s razinama katestatina u serumu te da je podskupina pacijenata s pozitivnim markerom oštećenja krajnjih organa (PWV > 10 m/s) imala značajno više serumske razine katestatina (336). S patofiziološke točke gledišta, povezanost između PWV-a i katestatina vjerojatno je posredovana povećanom aktivnošću simpatičkog živčanog sustava, zajedničkim mehanizmom koji povezuje visoke razine katestatina i patološko arterijsko remodeliranje, što u konačnici



dovodi do povećanja arterijske krutosti (337-339). Nije utvrđena povezanost serumskih koncentracija katestatina i kardiovaskularnog rizika utvrđenog završnim produktima glikacije (340,341). Ipak, takvi nalazi ne upućuju nužno da serumske koncentracije katestatina nemaju prognostičku važnost za kardiovaskularno zdravlje, posebice uzmemo li u obzir da snaga našeg istraživanja nije bila dovoljna za utvrditi takvu povezanost.

Kao što je diskutirano u uvodu, brojni dokazi upućuju da CBD, ali i drugi sastojci kanabisa također, mogu proizvesti značajne hemodinamske učinke (240,281). Primjerice, rana izvješća o abuzusu marihuane povezala su upotrebu kanabinoida s pojavom ortostatske hipotenzije (342). U nadolazećim godinama brojne su studije istraživale kako kanabinoidi utječu na arterijski tlak i vaskularni tonus, s prilično proturječnim rezultatima. Naime, pretklinički podaci (miševi, svinje, štakori), kako je sažeto u meta-analizi Sultana i sur., impliciraju da primjena CBD-a nema značajnog učinka na arterijski tlak i broj otkucaja srca u kontroliranim uvjetima, ali da smanjuje oba hemodinamska parametra u stresnim uvjetima, istovremeno povećavajući i cerebralni protok krvi (285). Među studijama na ljudima, randomizirano kliničko ispitivanje provedeno na malom broju zdravih dobrovoljaca (n = 26) pokazalo je da CBD značajno smanjuje srednji arterijski tlak u mirovanju nakon akutnog doziranja, ali da ne utječe i na ambulantne vrijednosti krvnog tlaka uslijed 6 dana repetitivnog dnevnog doziranja (343). Ista je studija također pokazala da CBD povoljno djeluje na krutost arterija i da poboljšava dilataciju posredovanu protokom nakon 7 dana ponovljene primjene. S druge strane, randomizirana križna studija pokazala je da je CBD smanjio sistolički krvni tlak kao odgovor na stres poslije vježbanja nakon akutnog i ponovljenog doziranja, dok je zasebna studija pokazala da su ispitanici koji su uzimali CBD imali niži sistolički, ali ne i dijastolički krvni tlak u odgovoru na test hladnim pritiskom (engl. *cold pressor test*) (344,345). Konačno, naša prethodna studija pokazala je da oralni CBD nije utjecao na krvni tlak, ali je primijećena

atenuacija srednjeg arterijskog tlaka kada je CBD primijenjen u sličnoj formulaciji i dozi kao u sadašnjoj studiji (265).

Osvrćući se na patofiziološku podlogu naših opservacija, važno je naglasiti da hemodinamski učinci CBD-a prema svemu sudeći nisu rezultat njegovog agonističkog učinka na CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub>, budući da CBD ima relativno nizak afinitet za te receptore (267,269). Štoviše, CBD je sposoban antagonizirati djelovanje agonista CB<sub>1</sub>/CB<sub>2</sub> receptora pri koncentracijama nižim od onih potrebnih za izazivanje odgovora na CB<sub>1</sub>/CB<sub>2</sub> (nanomolarne u odnosu na mikromolarne koncentracije) (270,271). Dodatni putevi koji bi mogli objasniti hemodinamske učinke CBD-a su brojni, a uključuju povećanje endogenih kanabinoida, anandamida i 2-AG, kao i drugih biološki aktivnih spojeva, poput serotonina, dopamina ili adenozina (240). Vrijedno je spomenuti da CBD također može potaknuti odgovor CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> receptora neizravno, putem inhibicije preuzimanja i razgradnje spomenutih endogenih kanabinoida andanamida i 2-AG (245,280). Ovaj bi mehanizam mogao biti posebno relevantan za učinak CBD-a u bolesnika s hipertenzijom, budući da je ovo stanje povezano s promjenama u endokanabinoidnom sustavu (povećanje andanamida) (245,268,280). Važno je uz to napomenuti da je također pokazano da CBD uzrokuje vazodilataciju ovisnu o endotelu na *in vitro* modelu ljudskih arterija (282-284). Akumulirani podaci upućuju na to da kanabinoidi mogu modulirati aktivnost simpatičkog živčanog sustava višestrukim putovima. Za početak, prekliničke studije sugeriraju da kanabinoidi mogu modulirati funkciju  $\alpha$ 2-adrenoreceptora, mijenjajući time odgovor simpatičkog živčanog sustava (240). S druge strane, CB<sub>1</sub> receptori smješteni na presinaptičkim živčanim završecima imaju sposobnost moduliranja otpuštanja neurotransmitera iz odgovarajućih neurona na način tipičan za heteroreceptore, čime se povećava ili smanjuje neuronska ekscitabilnost, ovisno o neurotransmiteru i pogođenom području (240,270). Nadalje, pokazalo se da CB<sub>1</sub> receptora ima u izobilju na završecima perifernih simpatičkih živaca, gdje moduliraju adrenergičku signalizaciju. U tom smislu,

vrijedno je napomenuti da CB<sub>1</sub> receptori izražavaju značajke „funkcionalnog antagonizma“. Naime, primjena egzogenih kanabinoida i/ili povišenje endogenih razina punog agonista CB<sub>1</sub>, može dovesti do smanjenja CB<sub>1</sub> (270,271). Nažalost, složenost interakcije između CBD-a, endokanabinoida i kanabinoidnih receptora sprječava nas u donošenju nepobitnih zaključaka o mehanizmima kojima dodatak CBD-a utječe na aktivnost simpatikusa.

Korak naprijed u razumijevanju opservirane interakcije upravo bi mogao biti katestatin. Konkretno, pokazali smo da se razine katestatina u serumu smanjuju nakon 5 tjedana suplementacije CBD-om, ali ne i nakon placeba. Na temelju rezultata naše prethodne studije, u kojoj smo pokazali da su bolesnici s neliječenom hipertenzijom imali više koncentracije katestatina u usporedbi s bolesnicima liječenim antihipertenzivima, pretpostavljeno je da opservirano smanjenje odražava smanjenu potrebu za simpatoinhibicijom.

Neovisna korelacija između katestatina na početku razdoblja liječenja i opsega promjene srednjeg arterijskog tlaka ( $\Delta_{\text{CBD}}\text{MAP}$ ) uslijed liječenja CBD-om, sugerira da bi više razine katestatina mogle predvidjeti veće smanjenje krvnog tlaka. Možemo pretpostaviti da ovo nije rezultat samo CBD-a, već i samog pada krvnog tlaka, što bi mogao biti zanimljiv koncept za buduće studije o antihipertenzivnim lijekovima, budući da biomarkeri odgovora na antihipertenzivno liječenje u ovom trenutku praktički ne postoje. Ovu hipotezu dodatno podupire snažna korelacija uočena između opsega promjene u srednjem arterijskom tlaku i istodobne promjene u razinama katestatina u serumu uslijed 5 tjedana oralne suplementacije CBD-om. Na temelju svega navedenog, zbirno možemo zaključiti da oralna suplementacija CBD-om dovodi do smanjenja srednjeg arterijskog tlaka, a da katestatin služi kao biomarker koji previđa smanjenje istog.

Provedena istraživanja imala su nekoliko ograničenja koje valja istaknuti. Za početak, studija je provedena u samo jednom centru, na populaciji bolesnika iz ograničenog bazena ljudi (Srednja Dalmacija), a uz to, bolesnici s teškim oblikom hipertenzije i bolesnici liječeni beta

blokatorima također nisu bili uključeni. Stoga, upitno je jesu li rezultati ovih istraživanja primjenjivi na cijelu populaciju. Nadalje, prva studija bila je presječnog dizajna, stoga ne možemo potvrditi kauzalnost rezultatima, već samo povezanost. Ipak, druga studija dizajnirana je kao randomizirani kontrolirani pokus, što ide u prilog da se zbilja radilo o kauzalnosti, a ne povezanosti i u okviru prve studije. Konačno, budući da je samo jedna formulacija CBD-a, DehydraTECH™2.0 CBD, bila korištena, pitanje je jesu li zaključci temeljeni na ovoj formulaciju primjenjivi na sve formulacije CBD-a.

## **6. ZAKLJUČCI**

---

1. Serumske koncentracije katestatina veće su u bolesnika koji boluju od esencijalne hipertenzije nego u zdravih kontrola istih dobno-spolnih i antropoloških karakteristika.
2. Serumske koncentracije katestatina veće su u bolesnika s neliječenom hipertenzijom u odnosu na bolesnike koji boluju od hipertenzije, a liječe se antihipertenzivima.
3. Serumske koncentracije katestatina pozitivno koreliraju s vrijednostima prosječnog 24-satnog arterijskog tlaka.
4. Serumske koncentracije katestatina pozitivno koreliraju sa značajkama povećane arterijske krutosti.
5. Petotjedna oralna primjena CBD-a, ali ne i placebo rezultira smanjenjem serumskih koncentracija katestatina u bolesnika s esencijalnom hipertenzijom.
6. Početne serumske koncentracije katestatina koreliraju s padom srednjeg arterijskog tlaka uslijed petotjedne oralne primjene CBD-a u bolesnika s hipertenzijom.
7. Promjene serumskih koncentracije katestatina uslijed petotjedne oralne primjene CBD-a koreliraju s padom srednjeg arterijskog tlaka tijekom istog perioda u bolesnika s hipertenzijom.

Arterijska hipertenzija predstavlja najznačajniji kardiovaskularni rizični faktor koji ujedno predstavlja i najčešći uzrok smrti u svijetu. S obzirom na to da liječenje hipertenzije nije zadovoljavajuće u velikom broju slučajeva, korištenje dodataka prehrani moglo bi pozitivno utjecati na zbrinjavanje ove mnogobrojne populacije.

CBD, primjer netoksičnog kanabinoida, je u prijašnjim studijama pokazao da ima brojne protektivne učinke na kardiovaskularni sustav u vidu smanjenja arterijskog tlaka i poboljšanja endotelne funkcije. Dobivenim rezultatima istraživanja vjerujemo da smo doprinijeli boljem razumijevanju pozadine kardiovaskularnih benefita CBD-a. Rezultati istraživanja mogu pomoći kako bi se poboljšali ukupni ishodi liječenja bolesnika s esencijalnom hipertenzijom, budući da osim antihipertenzivnih lijekova, u liječenju ove bolesti značajnu ulogu ima i prilagodba životnih navika.

U okviru ove disertacije pokušali smo objasniti opisanu redukciju arterijskog tlaka s promjenama u serumskim razinama katestatina, etabliranog inhibitora simpatičkog živčanog sustava koji je također pokazao razne kardioprotektivne učinke u prijašnjim studijama. Uz to, s obzirom na to da uloga katestatina, ali i SŽS-a, u razvoju esencijalne hipertenzije nije u potpunosti jasna, ovom smo disertacijom nastojali doprinijeli daljnjem rasvjetljavanju ovog problema.

**7. SAŽETAK**

---



**Uvod:** Posljednjih je godina uloga disfunkcije simpatičkog živčanog sustava u esencijalnoj hipertenziji (EH) privukla posebnu pozornost. Unatoč tome što je uključenost katestatina, etabliranog inhibitora simpatičke aktivnosti, u patogenezu EH već sada neosporna, kliničke studije o katestatinu u EH još uvijek nisu brojne. Nadalje, više je autora pokazalo da kanabidiol (CBD), neopijajući sastojak kanabisa, ima različite pozitivne učinke na regulaciju kardiovaskularnog sustava. Stoga, cilj ovog istraživanja bio je usporediti serumske koncentracije katestatina između bolesnika s EH i zdravih kontrola te utvrditi povezanost dinamike serumskih koncentracija katestatina i arterijskog tlaka uslijed petotjedne oralne administracije CBD-a.

**Ispitanici i postupci:** U presječno istraživanje uključeno je ukupno 72 ispitanika s EH, uz 72 kontrolna ispitanika. U randomiziranu križnu studiju uključeno je 54 ispitanika s EH, a ispitanici su 5 tjedana primali CBD, a 5 tjedana placebo. Svi uključeni sudionici bili su podvrgnuti uzimanju detaljne medicinske anamneze i dnevnih navika, kontinuiranom mjerenju arterijskog tlaka te uzorkovanju krvi za biokemijsku analizu.

**Rezultati:** U bolesnika s EH koncentracije katestatina u serumu bile su značajno više u usporedbi sa zdravim kontrolama (29,70 (19,33 – 49,48) ng/mL vs. 5,83 (4,21 – 8,29) ng/mL,  $P < 0,001$ ). Neliječeni bolesnici imali su značajno više koncentracije katestatina u serumu od bolesnika liječenih antihipertenzivima (41,61 (22,85 – 63,83) ng/mL vs. 24,77 (16,41 – 40,21) ng/mL,  $P = 0,005$ ). Petotjedna primjena CBD-a, ali ne i placeba, smanjila je koncentraciju katestatina u serumu u usporedbi s početnom vrijednošću (13,50 (10,85 – 19,05) vs. 9,65 (6,37 – 12,26) ng/mL,  $P < 0,001$ ). Razine katestatina u serumu na početku razdoblja negativno su korelirale sa smanjenjem srednjeg arterijskog tlaka ( $r = -0,474$ ,  $P < 0,001$ ).

**Zaključak:** Istraživanje je pokazalo da je koncentracija katestatina u serumu povećana u EH, pretežno u neliječenoj podskupini, i da povezanost katestatin s 24-satnim vrijednostima krvnog tlaka i značajkama arterijske krutosti govori o ulozi ovog peptida u EH.

**8. SUMMARY**

---

**TITLE:****Effects of oral cannabidiol supplementation on mean arterial pressure and serum catestatin concentrations in patients with essential hypertension: a randomized, double-blind, crossover trial**

**Introduction:** In recent years, the role of sympathetic nervous system dysfunction in essential hypertension (EH) has attracted special attention. Despite the fact that the involvement of catestatin, an established inhibitor of sympathetic activity, in the pathogenesis of EH is already indisputable, clinical studies on catestatin in EH are still not numerous. Furthermore, several authors have shown that cannabidiol (CBD), a non-intoxicating ingredient of cannabis, has various positive effects on the regulation of the cardiovascular system. Therefore, the aim of this study was to compare the serum concentrations of catestatin between patients with EH and healthy controls, and to determine the relationship between the dynamic of serum catestatin concentrations and arterial pressure following a five-week oral administration of CBD.

**Subjects and methods:** A total of 72 subjects with EH, along with 72 control subjects, were included in the cross-sectional study, whereas 54 subjects with EH were included in the randomized crossover study. In the second study, subjects received CBD for 5 weeks, and placebo for 5 weeks. All included participants were subjected to taking a detailed medical history and daily habits, ambulatory blood pressure measurement and blood sampling for biochemical analysis.

**Results:** In patients with EH, catestatin serum concentrations were significantly higher compared to healthy controls (29.70 (19.33 – 49.48) ng/mL vs. 5.83 (4.21 – 8.29) ng/mL,  $P < 0.001$ ). Untreated patients had significantly higher serum catestatin concentrations than patients treated with antihypertensive drugs (41.61 (22.85 – 63.83) ng/mL vs. 24.77 (16.41 – 40.21) ng/mL,  $P = 0.005$ ). Following 5-week administration of CBD, but not of placebo, has

reduced serum catestatin concentration in comparison to baseline state (13.50 (10.85 – 19.05) vs. 9.65 (6.37 – 12.26) ng/mL,  $P < 0.001$ ). Furthermore, serum catestatin concentrations at the start of the treatment period demonstrated a negative correlation with the extent of reduction in mean arterial pressure ( $r = -0.474$ ,  $P < 0.001$ ).

**Conclusion:** Our research has shown that serum catestatin concentrations are increased in EH, predominantly in the untreated subgroup, and that its association with 24-hour blood pressure values and arterial stiffness features suggests a role for this peptide in EH.

## **9. LITERATURA**

---

1. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M i sur.; ESC Scientific Document Group. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2018;39(33):3021-104.
2. Böhm M, Schumacher H, Teo KK, Lonn EM, Mahfoud F, Mann JFE i sur. Achieved blood pressure and cardiovascular outcomes in high-risk patients: results from ONTARGET and TRANSCEND trials. *Lancet*. 2017;389(10085):2226-37.
3. Kjeldsen SE, Berge E, Bangalore S, Messerli FH, Mancia G, Holzhauer B i sur. No evidence for a J-shaped curve in treated hypertensive patients with increased cardiovascular risk: The VALUE trial. *Blood Press*. 2016;25(2):83-92.
4. Mancia G, Kjeldsen SE, Zappe DH, Holzhauer B, Hua TA, Zanchetti A i sur. Cardiovascular outcomes at different on-treatment blood pressures in the hypertensive patients of the VALUE trial. *Eur Heart J*. 2016;37(12):955-64.
5. Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Casey DE Jr, Collins KJ, Dennison Himmelfarb C i sur. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Hypertension*. 2018;71(6):e13-e115.
6. SPRINT Research Group; Wright JT Jr, Williamson JD, Whelton PK, Snyder JK, Sink KM, Rocco MV i sur. A Randomized Trial of Intensive versus Standard Blood-Pressure Control. *N Engl J Med*. 2015;373(22):2103-16.
7. Filipovsky J, Seidlerova J, Kratochvil Z, Karnosova P, Hronova M, Mayer O Jr. Automated compared to manual office blood pressure and to home blood pressure in hypertensive patients. *Blood Press*. 2016;25:228-34.

8. European Society of Hypertension Working Group on Blood Pressure Monitoring and Cardiovascular Variability. European Society of Hypertension practice guidelines for ambulatory blood pressure monitoring. *J Hypertens*. 2014;32:1359-66.
9. Anstey DE, Moise N, Kronish I, Abdalla M. Masked Hypertension: Whom and How to Screen? *Curr Hypertens Rep*. 2019;21(4):26.
10. Cohen JB, Cohen DL. Integrating Out-of-Office Blood Pressure in the Diagnosis and Management of Hypertension. *Curr Cardiol Rep*. 2016;18(11):112.
11. Zhang L, Li Y, Wei FF, Thijs L, Kang YY, Wang S i sur. Strategies for classifying patients based on office, home, and ambulatory blood pressure measurement. *Hypertension*. 2015;65(6):1258-65.
12. Giles TD. Apathy towards ambulatory blood pressure monitoring use in hypertension: is it due to cognitive dissonance, money, or both? *Hypertension*. 2015;65(6):1156-7.
13. Kario K. Home Blood Pressure Monitoring: Current Status and New Developments. *Am J Hypertens*. 2021;34(8):783-94.
14. Kario K. State-of-the-Art review: Home blood pressure monitoring: current status and new developments. *Am J Hypertens*. 2021:hpab017.
15. Anstey DE, Pugliese D, Abdalla M, Bello NA, Givens R, Shimbo D. An Update on Masked Hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2017;19(12):94.
16. Peacock J, Diaz KM, Viera AJ, Schwartz JE, Shimbo D. Unmasking masked hypertension: prevalence, clinical implications, diagnosis, correlates and future directions. *J Hum Hypertens*. 2014;28(9):521-8.
17. Martin CA, McGrath BP. White-coat hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2014;41(1):22-9.

18. Cohen JB, Lotito MJ, Trivedi UK, Denker MG, Cohen DL, Townsend RR. Cardiovascular Events and Mortality in White Coat Hypertension: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2019;170(12):853-62.
19. Mancia G, Facchetti R, Bombelli M, Cuspidi C, Grassi G. White-Coat Hypertension: Pathophysiological and Clinical Aspects: Excellence Award for Hypertension Research 2020. *Hypertension.* 2021;78(6):1677-18.
20. Noubiap JJ, Nansseu JR, Nkeck JR, Nyaga UF, Bigna JJ. Prevalence of white coat and masked hypertension in Africa: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2018;20(8):1165-72.
21. Cuspidi C, Tadic M, Mancia G, Grassi G. White-Coat Hypertension: the Neglected Subgroup in Hypertension. *Korean Circ J.* 2018;48(7):552-64.
22. Cuspidi C, Facchetti R, Bombelli M, Sala C, Tadic M, Grassi G, Mancia G. Risk of new-onset metabolic syndrome associated with white-coat and masked hypertension: data from a general population. *J Hypertens.* 2018;36(9):1833-9.
23. Grassi G, Mancia G. Masked Uncontrolled Hypertension. *Hypertension.* 2019;73(1):39-41.
24. Sica DA. Management of hypertension in the outpatient setting. *Prim Care.* 2008;35(3):451-73.
25. Egan BM. Treatment Resistant Hypertension. *Ethn Dis.* 2015;25(4):495-8.
26. de Beus E, Bots ML, van Zuilen AD, Wetzels JF, Blankestijn PJ; MASTERPLAN Study Group. Prevalence of Apparent Therapy-Resistant Hypertension and Its Effect on Outcome in Patients With Chronic Kidney Disease. *Hypertension.* 2015;66(5):998-1005.



27. Krum H, Schlaich MP, Sobotka PA, Böhm M, Mahfoud F, Rocha-Singh K i sur. Percutaneous renal denervation in patients with treatment-resistant hypertension: final 3-year report of the Symplicity HTN-1 study. *Lancet*. 2014;383(9917):622-9.
28. Esler MD, Böhm M, Sievert H, Rump CL, Schmieder RE, Krum H i sur. Catheter-based renal denervation for treatment of patients with treatment-resistant hypertension: 36-month results from the SYMPPLICITY HTN-2 randomized clinical trial. *Eur Heart J*. 2014;35(26):1752-9.
29. Bakris GL, Townsend RR, Liu M, Cohen SA, D'Agostino R, Flack JM, i sur; SYMPPLICITY HTN-3 Investigators. Impact of renal denervation on 24-hour ambulatory blood pressure: results from SYMPPLICITY HTN-3. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(11):1071-8.
30. Rimoldi SF, Scherrer U, Messerli FH. Secondary arterial hypertension: when, who, and how to screen? *Eur Heart J*. 2014;35(19):1245-54.
31. Lamirault G, Artifoni M, Daniel M, Barber-Chamoux N, Nantes University Hospital Working Group On Hypertension. Resistant Hypertension: Novel Insights. *Curr Hypertens Rev*. 2020;16(1):61-72.
32. Burrello J, Monticone S, Buffolo F, Tetti M, Veglio F, Williams TA, Mulatero P. Is There a Role for Genomics in the Management of Hypertension? *Int J Mol Sci*. 2017;18(6):1131.
33. Rossi GP, Bisogni V, Rossitto G, Maiolino G, Cesari M, Zhu R i sur. Practice Recommendations for Diagnosis and Treatment of the Most Common Forms of Secondary Hypertension. *High Blood Press Cardiovasc Prev*. 2020;27(6):547-60.
34. Mannemuddhu SS, Ojeda JC, Yadav A. Renovascular Hypertension. *Prim Care*. 2020;47(4):631-44.

35. Shejul YK, Viswanathan MK, Jangale P, Kulkarni A. Fibromuscular dysplasia: a cause of secondary hypertension. *Korean J Intern Med.* 2014;29(6):840-1.
36. Goldblatt H. Hypertension Of Renal Origin. Historical And Experimental Background. *Am J Surg.* 1964;107:21-5.
37. Herrmann SM, Textor SC. Renovascular Hypertension. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2019;48(4):765-78.
38. Przewłocki T, Kabłak-Ziembicka A, Tracz W, Kozanecki A, Kopeć G, Rubiś P i sur. Renal artery stenosis in patients with coronary artery disease. *Kardiol Pol.* 2008;66(8):856-62.
39. Hamrahian SM, Falkner B. Hypertension in Chronic Kidney Disease. *Adv Exp Med Biol.* 2017;956:307-25.
40. Duni A, Dounousi E, Pavlakou P, Eleftheriadis T, Liakopoulos V. Hypertension in Chronic Kidney Disease: Novel Insights. *Curr Hypertens Rev.* 2020;16(1):45-54.
41. Palmer BF, Clegg DJ. Renal Considerations in the Treatment of Hypertension. *Am J Hypertens.* 2018;31(4):394-401.
42. Masuda T, Nagata D. Recent advances in the management of secondary hypertension: chronic kidney disease. *Hypertens Res.* 2020;43(9):869-75.
43. Bovée DM, Cuevas CA, Zietse R, Danser AHJ, Mirabito Colafella KM, Hoorn EJ. Salt-sensitive hypertension in chronic kidney disease: distal tubular mechanisms. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2020;319(5):F729-45.
44. Reincke M, Bancos I, Mulatero P, Scholl UI, Stowasser M, Williams TA. Diagnosis and treatment of primary aldosteronism. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2021;9(12):876-92.
45. Zennaro MC, Boulkroun S, Fernandes-Rosa FL. Pathogenesis and treatment of primary aldosteronism. *Nat Rev Endocrinol.* 2020;16(10):578-89.

- 
46. Turcu AF, Yang J, Vaidya A. Primary aldosteronism - a multidimensional syndrome. *Nat Rev Endocrinol.* 2022;18(11):665-82.
  47. Gruber S, Beuschlein F. Hypokalemia and the Prevalence of Primary Aldosteronism. *Horm Metab Res.* 2020;52(6):347-56.
  48. Schrier RW. Aldosterone 'escape' vs 'breakthrough'. *Nat Rev Nephrol.* 2010;6(2):61.
  49. Funder JW, Carey RM, Mantero F, Murad MH, Reincke M, Shibata H i sur. The Management of Primary Aldosteronism: Case Detection, Diagnosis, and Treatment: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(5):1889-916.
  50. Nwariaku FE, Miller BS, Auchus R, Holt S, Watumull L, Dolmatch B i sur.: Primary hyperaldosteronism: Effect of adrenal vein sampling on surgical outcome. *Arch Surg.* 2006;141:497.
  51. Yu R, Nissen NN, Dhall D, Phillips E: Diagnosis and management of pheochromocytoma in an academic hospital 3 years after formation of a pheochromocytoma interest group. *Endocr Pract.* 2011;17:356.
  52. Yu R, Nissen NN, Bannykh SI: Cardiac complications as initial manifestation of pheochromocytoma: Frequency, outcome, and predictors. *Endocr Pract.* 2012;18:483.
  53. Manger WM, Gifford RW. Pheochromocytoma. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2002;4(1):62-72.
  54. Nölting S, Bechmann N, Taieb D, Beuschlein F, Fassnacht M, Kroiss M i sur. Personalized Management of Pheochromocytoma and Paraganglioma. *Endocr Rev.* 2022;43(2):199-239.
  55. Victor RG, Leonard D, Hess P, Bhat DG, Jones J, Vaeth PA i sur. Factors associated with hypertension awareness, treatment, and control in Dallas County, Texas. *Arch Intern Med.* 2008;168:1285.

- 
56. Charles L, Triscott J, Dobbs B. Secondary Hypertension: Discovering the Underlying Cause. *Am Fam Physician*. 2017;96(7):453-61.
  57. Magiakou MA, Smyrnaki P, Chrousos GP. Hypertension in Cushing's syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2006;20(3):467-82.
  58. Ceccato F, Boscaro M. Cushing's Syndrome: Screening and Diagnosis. *High Blood Press Cardiovasc Prev*. 2016;23(3):209-15.
  59. Nieman LK, Biller BM, Findling JW, Murad MH, Newell-Price J, Savage MO i sur. Endocrine Society. Treatment of Cushing's Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(8):2807-31.
  60. Lévy P, Kohler M, McNicholas WT, Barbé F, McEvoy RD, Somers VK i sur. Obstructive sleep apnoea syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15015.
  61. Prabhakar NR, Peng YJ, Nanduri J. Hypoxia-inducible factors and obstructive sleep apnea. *J Clin Invest*. 2020;130(10):5042-51.
  62. Borovac JA, Dogas Z, Supe-Domic D, Galic T, Bozic J. Catestatin serum levels are increased in male patients with obstructive sleep apnea. *Sleep Breath*. 2019;23(2):473-81.
  63. Veasey SC, Rosen IM. Obstructive Sleep Apnea in Adults. *N Engl J Med*. 2019;380(15):1442-9.
  64. Dominiczak A, Delles C, Padmanabhan S. Genomics and Precision Medicine for Clinicians and Scientists in Hypertension. *Hypertension*. 2017;69(4):e10-3.
  65. Lurbe E, Agabiti-Rosei E, Cruickshank JK, Dominiczak A, Erdine S, Hirth A i sur. 2016 European Society of Hypertension guidelines for the management of high blood pressure in children and adolescents. *J Hypertens*. 2016;34:1887-920.

66. Rutigliano I, De Filippo G, Pastore L, Messina G, Agostoni C, Campanozzi A. Obesity-Related Hypertension in Pediatrics, the Impact of American Academy of Pediatrics Guidelines. *Nutrients*. 2021;13(8):2586.
67. Chen X, Wang Y. Tracking of blood pressure from childhood to adulthood: a systematic review and meta-regression analysis. *Circulation* 2008; 117:3171-80.
68. Erlingsdottir A, Indridason OS, Thorvaldsson O, Edvardsson VO. Blood pressure in children and target-organ damage later in life. *Pediatr Nephrol*. 2010;25:323-8.
69. Sundin PO, Udumyan R, Sjostrom P, Montgomery S. Predictors in adolescence of ESRD in middle-aged men. *Am J Kidney Dis*. 2014;64:723-72.
70. Chiolerio A, Cachat F, Burnier M, Paccaud F, Bovet P. Prevalence of hypertension in schoolchildren based on repeated measurements and association with overweight. *J Hypertens*. 2007;25:2209-17.
71. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Versari D, Salvetti A. Endothelium, aging, and hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2006;8(1):84-9.
72. Beckett NS, Peters R, Fletcher AE, Staessen JA, Liu L, Dumitrascu D, i sur, HYVET Study Group. Treatment of hypertension in patients 80 years of age or older. *N Engl J Med*. 2008;358:1887-98.
73. Briasoulis A, Agarwal V, Tousoulis D, Stefanadis C. Effects of antihypertensive treatment in patients over 65 years of age: a meta-analysis of randomised controlled studies. *Heart*. 2014;100:317-23.
74. Corrao G, Rea F, Monzio Compagnoni M, Merlino L, Mancia G. Protective effects of antihypertensive treatment in patients aged 85 years or older. *J Hypertens*. 2017;35:1432-41.
75. Benetos A, Petrovic M, Strandberg T. Hypertension Management in Older and Frail Older Patients. *Circ Res*. 2019;124(7):1045-60.

- 
76. Daugherty SL, Powers JD, Magid DJ, Tavel HM, Masoudi FA, Margolis KL i sur. Incidence and prognosis of resistant hypertension in hypertensive patients. *Circulation* 2012;125:1635-42.
  77. Burnier M, Wuerzner G. Ambulatory blood pressure and adherence monitoring: diagnosing pseudoresistant hypertension. *Semin Nephrol.* 2014;34(5):498-505.
  78. Gupta P, Patel P, Strauch B, Lai FY, Akbarov A, Gulsin GS i sur. Biochemical screening for nonadherence is associated with blood pressure reduction and improvement in adherence. *Hypertension.* 2017;70:1042-8.
  79. Myat A, Redwood SR, Qureshi AC, Spertus JA, Williams B. Resistant hypertension. *BMJ.* 2012;345:e7473.
  80. de la Sierra A, Banegas JR, Segura J, Gorostidi M, Ruilope LM. Ambulatory blood pressure monitoring and development of cardiovascular events in high-risk patients included in the Spanish ABPM registry: the CARDIORISC Event study. *J Hypertens.* 2012;30:713-9.
  81. Oxlund CS, Henriksen JE, Tarnow L, Schousboe K, Gram J, Jacobsen IA. Low dose spironolactone reduces blood pressure in patients with resistant hypertension and type 2 diabetes mellitus: a double blind randomized clinical trial. *J Hypertens.* 2013;31:2094-102.
  82. Liu L, Xu B, Ju Y. Addition of spironolactone in patients with resistant hypertension: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Exp Hypertens.* 2017;39:257-63.
  83. Zhao D, Liu H, Dong P, Zhao J. A meta-analysis of add-on use of spironolactone in patients with resistant hypertension. *Int J Cardiol.* 2017;233:113-7.
  84. Wang C, Xiong B, Huang J. Efficacy and safety of spironolactone in patients with resistant hypertension: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Heart Lung Circ.* 2016;25:1021-30.

85. Williams B, MacDonald TM, Morant SV, Webb DJ, Sever P, McInnes GT i sur., British Hypertension Society programme of Prevention And Treatment of Hypertension With Algorithm based Therapy (PATHWAY) Study Group. Endocrine and haemodynamic changes in resistant hypertension, and blood pressure responses to spironolactone or amiloride: the PATHWAY-2 mechanisms substudies. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018;6:464-75.
86. Struthers A, Krum H, Williams GH. A comparison of the aldosterone-blocking agents eplerenone and spironolactone. *Clin Cardiol.* 2008;31(4):153-8.
87. Carone L, Oxberry SG, Twycross R, Charlesworth S, Mihalyo M, Wilcock A. Spironolactone. *J Pain Symptom Manage.* 2017;53(2):288-92.
88. Williams B, MacDonald TM, Morant S, Webb DJ, Sever P, McInnes G i sur., British Hypertension Society's PATHWAY Studies Group. Spironolactone versus placebo, bisoprolol, and doxazosin to determine the optimal treatment for drug-resistant hypertension (PATHWAY-2): a randomised, double-blind, crossover trial. *Lancet.* 2015;386:2059-68.
89. Kandler MR, Mah GT, Tejani AM, Stabler SN, Salzwedel DM. Hydralazine for essential hypertension. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011;(11):CD004934.
90. Sica DA. Minoxidil: an underused vasodilator for resistant or severe hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2004;6(5):283-7.
91. Sarigianni M, Dimitrakopoulos K, Tsapas A. Non-dipping status in arterial hypertension: an overview. *Curr Vasc Pharmacol.* 2014;12(3):527-36.
92. Ahmed J, Ozorio V, Farrant M, Van Der Merwe W. Ambulatory vs office blood pressure monitoring in renal transplant recipients. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2015;17(1):46-50.

- 
93. Meidert AS, Saugel B. Techniques for Non-Invasive Monitoring of Arterial Blood Pressure. *Front Med (Lausanne)*. 2018;4:231.
  94. World Health Organisation. More than 700 million people with untreated hypertension [Internet]. Ženeva: World Health Organisation; 2021 [citirano 29. ožujka 2023.]. Dostupno na: <https://www.who.int/news/item/25-08-2021-more-than-700-million-people-with-untreated-hypertension>
  95. Birungi J, Kivuyo S, Garrib A, Mugenyi L, Mutungi G, Namakoola I i sur. Integrating health services for HIV infection, diabetes and hypertension in sub-Saharan Africa: a cohort study. *BMJ Open*. 2021;11(11):e053412.
  96. McCombe D, Lim J, Van Hout M, Lazarus J, Bachmann M, Jaffar S i sur. Integrating Care for Diabetes and Hypertension with HIV Care in Sub-Saharan Africa: A Scoping Review. *Int J Integr Care*. 2022;2(1):6.
  97. Park S, Han K, Lee S, Kim Y, Lee Y, Kang MW i sur. Cardiovascular or mortality risk of controlled hypertension and importance of physical activity. *Heart*. 2021;107(18):1472-9.
  98. Erceg M, Knezevic AM. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Izvješće o smrtnosti prema listi odabranih uzroka smrti u 2021., Zagreb, 2023.
  99. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Treba li Hrvatskoj nacionalni plan za suzbijanje kardiovaskularnih bolesti? [Internet]. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2023 [citirano 29. ožujka 2023.]. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-prevenција-nezaraznih-bolesti/hrvatskoj-treba-nacionalni-plan-za-suzbijanje-kardiovaskularnih-bolesti/>
  100. Hering D, Trzebski A, Narkiewicz K. Recent advances in the pathophysiology of arterial hypertension: potential implications for clinical practice. *Pol Arch Intern Med*. 2017;127(3):195-204.



101. Rossier BC, Bochud M, Devuyst O. The Hypertension Pandemic: An Evolutionary Perspective. *Physiology (Bethesda)*. 2017;32(2):112-25.
102. Arnett DK, Claas SA. Omics of Blood Pressure and Hypertension. *Circ Res*. 2018;122(10):1409-19.
103. Manosroi W, Williams GH. Genetics of Human Primary Hypertension: Focus on Hormonal Mechanisms. *Endocr Rev*. 2019;40(3):825-56.
104. Ji W, Foo JN, O'Roak BJ, Zhao H, Larson MG, Simon DB i sur. Rare independent mutations in renal salt handling genes contribute to blood pressure variation. *Nat Genet*. 2008;40(5):592-9.
105. Cowley AW Jr, Nadeau JH, Baccarelli A, Berecek K, Fornage M, Gibbons GH i sur. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute Working Group on epigenetics and hypertension. *Hypertension*. 2012;59:899.
106. Viridis A, Giannarelli C, Neves MF, Taddei S, Ghiadoni L. Cigarette smoking and hypertension. *Curr Pharm Des*. 2010;16(23):2518-25.
107. Fuchs FD, Fuchs SC. The Effect of Alcohol on Blood Pressure and Hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2021;23(10):42.
108. Turnbull D, Rodricks JV, Mariano GF, Chowdhury F. Caffeine and cardiovascular health. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2017;89:165-85.
109. Diaz KM, Shimbo D. Physical activity and the prevention of hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2013;15(6):659-68.
110. Seravalle G, Grassi G. Obesity and hypertension. *Pharmacol Res*. 2017;122:1-7.
111. He FJ, Tan M, Ma Y, MacGregor GA. Salt Reduction to Prevent Hypertension and Cardiovascular Disease: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*. 2020;75(6):632-47.

112. Franklin SS, Wilkinson IB, McEniery CM: Unusual hypertensive phenotypes: What is their significance? *Hypertension*. 2012;59:173.
113. Pickering TG. Isolated diastolic hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2003;5(6):411-3.
114. Bavishi C, Goel S, Messerli FH. Isolated Systolic Hypertension: An Update After SPRINT. *Am J Med*. 2016;129(12):1251-8.
115. Henry JP. Stress, salt and hypertension. *Soc Sci Med*. 1988;26(3):293-302.
116. Turkkan JS, Goldstein DS. Chronic effects of high salt intake and conflict stress on blood pressure in primates. A progress report. *Integr Physiol Behav Sci*. 1991;26(4):269-81.
117. Fleming-Moran M, Coimbra Júnior CE. Blood pressure studies among Amazonian native populations: a review from an epidemiological perspective. *Soc Sci Med*. 1990;31(5):593-601.
118. Bibbins-Domingo K, Chertow GM, Coxson PG, Moran A, Lightwood JM, Pletcher MJ i sur. Projected effect of dietary salt reductions on future cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2010;362:590.
119. Kanda T, Murai-Takeda A, Kawabe H, Itoh H. Low birth weight trends: possible impacts on the prevalences of hypertension and chronic kidney disease. *Hypertens Res*. 2020;43(9):859-68.
120. Te Riet L, van Esch JH, Roks AJ, van den Meiracker AH, Danser AH. Hypertension: renin-angiotensin-aldosterone system alterations. *Circ Res*. 2015;116(6):960-75.
121. Colussi G, Catena C, Lapenna R, Nadalini E, Chiuch A, Sechi LA. Insulin resistance and hyperinsulinemia are related to plasma aldosterone levels in hypertensive patients. *Diabetes Care*. 2007;30(9):2349-54.

- 
122. Pacurari M, Kafoury R, Tchounwou PB, Ndebele K. The Renin-Angiotensin-aldosterone system in vascular inflammation and remodeling. *Int J Inflam.* 2014;2014:689360.
  123. Mirabito Colafella KM, Bovée DM, Danser AHJ. The renin-angiotensin-aldosterone system and its therapeutic targets. *Exp Eye Res.* 2019;186:107680.
  124. Underwood PC, Adler GK. The renin angiotensin aldosterone system and insulin resistance in humans. *Curr Hypertens Rep.* 2013;15(1):59-70.
  125. Cousin C, Bracquart D, Contrepas A, Nguyen G. Potential role of the (pro)renin receptor in cardiovascular and kidney diseases. *J Nephrol.* 2010;23(5):508-13.
  126. Fu S, Wen X, Han F, Long Y, Xu G. Aliskiren therapy in hypertension and cardiovascular disease: a systematic review and a meta-analysis. *Oncotarget.* 2017;8(51):89364-74.
  127. Duprez DA: Role of the renin-angiotensin-aldosterone system in vascular remodeling and inflammation: A clinical review. *J Hypertens.* 2006;24:983.
  128. Munzel T, Sinning C, Post F, Warnholtz A, Schulz E. Pathophysiology, diagnosis and prognostic implications of endothelial dysfunction. *Ann Med.* 2008;40:180.
  129. Humphrey JD. Mechanisms of Vascular Remodeling in Hypertension. *Am J Hypertens.* 2021;34(5):432-41.
  130. Zhang J, Zhou S, Xu G. Carotid baroreceptor stimulation: a potential solution for resistant hypertension. *Interv Neurol.* 2014;2(3):118-22.
  131. Lovic D, Manolis AJ, Lovic B, Stojanov V, Lovic M, Pittaras A i sur. The pathophysiological basis of carotid baroreceptor stimulation for the treatment of resistant hypertension. *Curr Vasc Pharmacol.* 2014;12(1):16-22.
  132. Hsu CY, Olanoff L. Baroreceptor dysfunction in humans. *Am J Med.* 1984;76(6):A49-58.

133. Akinseye OA, Ralston WF, Johnson KC, Ketron LL, Womack CR, Ibebuogu UN. Renal Sympathetic Denervation: A Comprehensive Review. *Curr Probl Cardiol.* 2021;46(3):100598.
134. Kalil GZ, Haynes WG. Sympathetic nervous system in obesity-related hypertension: mechanisms and clinical implications. *Hypertens Res.* 2012;35(1):4-16.
135. Wang F, Han L, Hu D. Fasting insulin, insulin resistance and risk of hypertension in the general population: A meta-analysis. *Clin Chim Acta.* 2017;464:57-63.
136. Canniffe C, Ou P, Walsh K, Bonnet D, Celermajer D. Hypertension after repair of aortic coarctation-a systematic review. *Int J Cardiol.* 2013;167(6):2456-61.
137. Lonser RR, Nieman L, Oldfield EH. Cushing's disease: pathobiology, diagnosis, and management. *J Neurosurg.* 2017;126(2):404-17.
138. Doubleday AR, Sippel RS. Hyperthyroidism. *Gland Surg.* 2020;9(1):124-35.
139. Ozemek C, Laddu DR, Arena R, Lavie CJ. The role of diet for prevention and management of hypertension. *Curr Opin Cardiol.* 2018;33(4):388-93.
140. Grahovac M, Kumric M, Vilovic M, Martinovic D, Kreso A, Ticinovic Kurir T i sur. Adherence to Mediterranean diet and advanced glycation endproducts in patients with diabetes. *World J Diabetes.* 2021;12(11):1942-56.
141. Martinovic D, Tokic D, Martinovic L, Kumric M, Vilovic M, Rusic D i sur. Adherence to the Mediterranean Diet and Its Association with the Level of Physical Activity in Fitness Center Users: Croatian-Based Study. *Nutrients.* 2021;13(11):4038.
142. Vrdoljak J, Kumric M, Vilovic M, Martinovic D, Tomic IJ, Krnic M i sur. Effects of Olive Oil and Its Components on Intestinal Inflammation and Inflammatory Bowel Disease. *Nutrients.* 2022;14(4):757.

- 
143. U.S. News Health. Best Diets Overall 2023 [Internet]. New York: U.S News; 2023 [citirano 29. ožujka 2023.]. Dostupno na: [https://health.usnews.com/best-diet/best-diets-overall?src=usn\\_pr](https://health.usnews.com/best-diet/best-diets-overall?src=usn_pr)
  144. Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, Harsha D, i sur, DASH-Sodium Collaborative Research Group. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *N Engl J Med.* 2001;344:3-10.
  145. De Pergola G, D'Alessandro A. Influence of Mediterranean Diet on Blood Pressure. *Nutrients.* 2018;10(11):1700.
  146. Lim GB. Hypertension: low sodium and DASH diet to lower blood pressure. *Nat Rev Cardiol.* 2018;15:68.
  147. Neter JE, Stam BE, Kok FJ, Grobbee DE, Geleijnse JM. Influence of weight reduction on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Hypertension.* 2003;42:878-84.
  148. Alpsyoy Ş. Exercise and Hypertension. *Adv Exp Med Biol.* 2020;1228:153-67.
  149. Weber T, Lang I, Zweiker R, Horn S, Wenzel RR, Watschinger B i sur. Hypertension and coronary artery disease: epidemiology, physiology, effects of treatment, and recommendations: A joint scientific statement from the Austrian Society of Cardiology and the Austrian Society of Hypertension. *Wien Klin Wochenschr.* 2016;128(13-14):467-79.
  150. Piepho RW. Overview of the angiotensin-converting-enzyme inhibitors. *Am J Health Syst Pharm.* 2000;57 Suppl 1:S3-7.
  151. Navis G, Faber HJ, de Zeeuw D, de Jong PE. ACE inhibitors and the kidney. A risk-benefit assessment. *Drug Saf.* 1996;15(3):200-11.

- 
152. Belluzzi F, Sernesi L, Preti P, Salinaro F, Fonte ML, Perlini S. Prevention of recurrent lone atrial fibrillation by the angiotensin-II converting enzyme inhibitor ramipril in normotensive patients. *J Am Coll Cardiol.* 2009;53(1):24-9.
  153. Ma H, Jiang H, Feng J, Gan Y. Angiotensin Receptor Blocker and Calcium Channel Blocker Preventing Atrial Fibrillation Recurrence in Patients with Hypertension and Atrial Fibrillation: A Meta-analysis. *Cardiovasc Ther.* 2021;2021:6628469.
  154. Na Takuathung M, Sakuludomkan W, Khatsri R, Dukaew N, Kraivisitkul N, Ahmadmusa B i sur. Adverse Effects of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors in Humans: A Systematic Review and Meta-Analysis of 378 Randomized Controlled Trials. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(14):8373.
  155. Sica DA, Gehr TW, Ghosh S. Clinical pharmacokinetics of losartan. *Clin Pharmacokinet.* 2005;44(8):797-814.
  156. Parving HH, Brenner BM, McMurray JJ, de Zeeuw D, Haffner SM, Solomon SD i sur., ALTITUDE Investigators. Cardiorenal end points in a trial of aliskiren for type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2012;367:2204-13.
  157. Thomopoulos C, Parati G, Zanchetti A. Effects of blood pressure-lowering on outcome incidence in hypertension: 5. Head-to-head comparisons of various classes of antihypertensive drugs - overview and meta-analyses. *J Hypertens.* 2015;33:1321-41.
  158. Ettehad D, Emdin CA, Kiran A, Anderson SG, Callender T, Emberson J i sur. Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: a systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2016;387:957-67.
  159. Fu EL, Clase CM, Evans M, Lindholm B, Rotmans JI, Dekker FW i sur. Comparative Effectiveness of Renin-Angiotensin System Inhibitors and Calcium Channel Blockers in Individuals With Advanced CKD: A Nationwide Observational Cohort Study. *Am J Kidney Dis.* 2021;77(5):719-29.

- 
160. Elliott WJ, Ram CV. Calcium channel blockers. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2011;13(9):687-9.
  161. Olde Engberink RH, Frenkel WJ, van den Bogaard B, Brewster LM, Vogt L, van den Born BJ. Effects of thiazide-type and thiazide-like diuretics on cardiovascular events and mortality: systematic review and meta-analysis. *Hypertension* 2015;65:1033-40.
  162. Ernst ME, Fravel MA. Thiazide and the Thiazide-Like Diuretics: Review of Hydrochlorothiazide, Chlorthalidone, and Indapamide. *Am J Hypertens*. 2022;35(7):573-86.
  163. Musini VM, Nazer M, Bassett K, Wright JM. Blood pressure-lowering efficacy of monotherapy with thiazide diuretics for primary hypertension. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;(5):CD003824.
  164. Agarwal R, Sinha AD, Cramer AE, Balmes-Fenwick M, Dickinson JH, Ouyang F i sur. Chlorthalidone for Hypertension in Advanced Chronic Kidney Disease. *N Engl J Med*. 2021;385(27):2507-19.
  165. Emdin CA, Rahimi K, Neal B, Callender T, Perkovic V, Patel A. Blood pressure lowering in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2015;313:603-15.
  166. Corrao G, Zambon A, Parodi A, Poluzzi E, Baldi I, Merlino L i sur. Discontinuation of and changes in drug therapy for hypertension among newly-treated patients: a population-based study in Italy. *J Hypertens* 2008;26:819-24.
  167. Chapman N, Chang CL, Dahlof B, Sever PS, Wedel H, Poulter NR. Effect of doxazosin gastrointestinal therapeutic system as third-line antihypertensive therapy on blood pressure and lipids in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial. *Circulation* 2008;118:42-8.

- 
168. Garrett BN, Kaplan NM. Clonidine in the treatment of hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1980;2 Suppl 1:S61-71.
  169. Sica DA. The risks and benefits of aldosterone antagonists. *Curr Heart Fail Rep.* 2005;2(2):65-71.
  170. Sica DA, Gehr TW. Direct vasodilators and their role in hypertension management: minoxidil. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2001;3(2):110-4.
  171. Kjeldsen S, Feldman RD, Lisheng L, Mourad JJ, Chiang CE, Zhang W i sur. Updated national and international hypertension guidelines: a review of current recommendations. *Drugs* 2014;74:2033-51.
  172. Diao D, Wright JM, Cundiff DK, Gueyffier F. Pharmacotherapy for mild hypertension. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;8:CD006742.
  173. Zanchetti A, Grassi G, Mancia G. When should antihypertensive drug treatment be initiated and to what levels should systolic blood pressure be lowered? A critical reappraisal. *J Hypertens.* 2009;27:923-34.
  174. Blood Pressure-Lowering Treatment Trialists' Collaboration, Sundstrom J, Arima H, Woodward M, Jackson R, Karmali K, Lloyd-Jones D i sur. Blood pressure-lowering treatment based on cardiovascular risk: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet.* 2014;384:591-8.
  175. Thomopoulos C, Parati G, Zanchetti A. Effects of blood pressure lowering on outcome incidence in hypertension. 1. Overview, meta-analyses, and meta-regression analyses of randomized trials. *J Hypertens* 2014;32:2285-95.
  176. Benetos A, Bulpitt CJ, Petrovic M, Ungar A, Agabiti Rosei E, Cherubini A i sur. An expert opinion from the European Society of Hypertension-European Union Geriatric Medicine Society Working Group on the management of hypertension in very old, frail subjects. *Hypertension.* 2016;67:820-5.



- 
177. ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic: The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *JAMA*. 2002;288:2981-97.
  178. Dahlof B, Devereux RB, Kjeldsen SE, Julius S, Beevers G, de Faire U i sur., LIFE Study Group. Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. *Lancet*. 2002;359:995-1003.
  179. Di Palo KE, Barone NJ. Hypertension and Heart Failure: Prevention, Targets, and Treatment. *Heart Fail Clin*. 2020;16(1):99-106.
  180. Tadic M, Cuspidi C, Marwick TH. Phenotyping the hypertensive heart. *Eur Heart J*. 2022;43(38):3794-810.
  181. Slivnick J, Lampert BC. Hypertension and Heart Failure. *Heart Fail Clin*. 2019;15(4):531-41.
  182. O'Gorman DJ, Thomas P, Turner MA, Sheridan DJ. Investigation of impaired coronary vasodilator reserve in the guinea pig heart with pressure induced hypertrophy. *Eur Heart J*. 1992;13(5):697-703.
  183. Charles C, Ferris AH. Chronic Kidney Disease. *Prim Care*. 2020;47(4):585-95.
  184. Vallianou NG, Mitesh S, Gkogkou A, Geladari E. Chronic Kidney Disease and Cardiovascular Disease: Is there Any Relationship? *Curr Cardiol Rev*. 2019;15(1):55-63.
  185. Mahata SK, O'Connor DT, Mahata M, Yoo SH, Taupenot L, Wu H i sur. Novel autocrine feedback control of catecholamine release. A discrete chromogranin a

- fragment is a noncompetitive nicotinic cholinergic antagonist. *J Clin Invest.* 1997;100(6):1623-33.
186. Mahata SK, Kiranmayi M, Mahapatra NR. Catestatin: A Master Regulator of Cardiovascular Functions. *Curr Med Chem.* 2018;25(11):1352-74.
187. Biswas N, Rodriguez-Flores JL, Courel M, Gayen JR, Vaingankar SM, Mahata M i sur. Cathepsin L colocalizes with chromogranin a in chromaffin vesicles to generate active peptides. *Endocrinology.* 2009;150(8):3547-57.
188. Aardal S, Helle KB, Elsayed S, Reed RK, Serck-Hanssen G. Vasostatins, comprising the N-terminal domain of chromogranin A, suppress tension in isolated human blood vessel segments. *J Neuroendocrinol.* 1993;5(4):405-12.
189. Bianco M, Gasparri AM, Colombo B, Curnis F, Girlanda S, Ponzoni M i sur. Chromogranin A Is Preferentially Cleaved into Proangiogenic Peptides in the Bone Marrow of Multiple Myeloma Patients. *Cancer Res.* 2016;76(7):1781-91.
190. Borovac JA, Glavas D, Susilovic Grabovac Z, Supe Domic D, Stanisic L, D'Amario D i sur. Right Ventricular Free Wall Strain and Congestive Hepatopathy in Patients with Acute Worsening of Chronic Heart Failure: A CATSTAT-HF Echo Substudy. *J Clin Med.* 2020;9(5):1317.
191. Herrero CJ, Alés E, Pintado AJ, López MG, García-Palomero E, Mahata SK, O'Connor DT, García AG, Montiel C. Modulatory mechanism of the endogenous peptide catestatin on neuronal nicotinic acetylcholine receptors and exocytosis. *J Neurosci.* 2002;22(2):377-88.
192. Kennedy BP, Mahata SK, O'Connor DT, Ziegler MG. Mechanism of cardiovascular actions of the chromogranin A fragment catestatin in vivo. *Peptides.* 1998;19(7):1241-8.

193. Mahata SK, Mahata M, Parmer RJ, O'Connor DT. Desensitization of catecholamine release. The novel catecholamine release-inhibitory peptide catestatin (chromogranin a344-364) acts at the receptor to prevent nicotinic cholinergic tolerance. *J Biol Chem.* 1999;274(5):2920-8.
194. Taupenot L, Mahata SK, Mahata M, Parmer RJ, O'Connor DT. Interaction of the catecholamine release-inhibitory peptide catestatin (human chromogranin A(352-372)) with the chromaffin cell surface and Torpedo electroplax: implications for nicotinic cholinergic antagonism. *Regul Pept.* 2000;95(1-3):9-17.
195. Helle KB, Corti A, Metz-Boutigue MH, Tota B. The endocrine role for chromogranin A: a prohormone for peptides with regulatory properties. *Cell Mol Life Sci.* 2007;64(22):2863-86.
196. Angelone T, Quintieri AM, Brar BK, Limchaiyawat PT, Tota B, Mahata SK i sur. The antihypertensive chromogranin a peptide catestatin acts as a novel endocrine/paracrine modulator of cardiac inotropism and lusitropism. *Endocrinology.* 2008;149(10):4780-93.
197. Matsuda N, Jesmin S, Takahashi Y, Hatta E, Kobayashi M, Matsuyama K i sur. Histamine H1 and H2 receptor gene and protein levels are differentially expressed in the hearts of rodents and humans. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004;309(2):786-95.
198. Mazza R, Gattuso A, Mannarino C, Brar BK, Barbieri SF, Tota B i sur. Catestatin (chromogranin A344-364) is a novel cardiosuppressive agent: inhibition of isoproterenol and endothelin signaling in the frog heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;295(1):H113-22.
199. Zhang YM, Zhang ZY, Wang RX. Protective Mechanisms of Quercetin Against Myocardial Ischemia Reperfusion Injury. *Front Physiol.* 2020;11:956.

200. Mahata SK, Mahata M, Wen G, Wong WB, Mahapatra NR i sur. The catecholamine release-inhibitory "catestatin" fragment of chromogranin a: naturally occurring human variants with different potencies for multiple chromaffin cell nicotinic cholinergic responses. *Mol Pharmacol.* 2004;66(5):1180-91.
201. Borovac JA, Dogas Z, Supe-Domic D, Galic T, Bozic J. Catestatin serum levels are increased in male patients with obstructive sleep apnea. *Sleep Breath.* 2019;23(2):473-81.
202. Widiapradja A, Chunduri P, Levick SP. The role of neuropeptides in adverse myocardial remodeling and heart failure. *Cell Mol Life Sci.* 2017;74(11):2019-38.
203. Bozic J, Kumric M, Ticinovic Kurir T, Urlic H, Martinovic D, Vilovic M i sur. Catestatin as a Biomarker of Cardiovascular Diseases: A Clinical Perspective. *Biomedicines.* 2021;9(12):1757.
204. Gaede AH, Pilowsky PM. Catestatin in rat RVLM is sympathoexcitatory, increases barosensitivity, and attenuates chemosensitivity and the somatosympathetic reflex. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2010;299(6):R1538-45.
205. Gaede AH, Pilowsky PM. Catestatin, a chromogranin A-derived peptide, is sympathoinhibitory and attenuates sympathetic barosensitivity and the chemoreflex in rat CVLM. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2012;302(3):R365-72.
206. Avolio E, Mahata SK, Mantuano E, Mele M, Alò R, Facciolo RM i sur. Antihypertensive and neuroprotective effects of catestatin in spontaneously hypertensive rats: interaction with GABAergic transmission in amygdala and brainstem. *Neuroscience.* 2014;270:48-57.
207. Gayen JR, Gu Y, O'Connor DT, Mahata SK. Global disturbances in autonomic function yield cardiovascular instability and hypertension in the chromogranin a null mouse. *Endocrinology.* 2009;150(11):5027-35.

- 
208. Fung MM, Salem RM, Mehtani P, Thomas B, Lu CF, Perez B i sur. Direct vasoactive effects of the chromogranin A (CHGA) peptide catestatin in humans in vivo. *Clin Exp Hypertens*. 2010;32(5):278-87.
  209. Dev NB, Gayen JR, O'Connor DT, Mahata SK. Chromogranin a and the autonomic system: decomposition of heart rate variability and rescue by its catestatin fragment. *Endocrinology*. 2010;151(6):2760-8.
  210. Rao F, Wen G, Gayen JR, Das M, Vaingankar SM, Rana BK i sur. Catecholamine release-inhibitory peptide catestatin (chromogranin A(352-372)): naturally occurring amino acid variant Gly364Ser causes profound changes in human autonomic activity and alters risk for hypertension. *Circulation*. 2007;115(17):2271-81.
  211. Krüger PG, Mahata SK, Helle KB. Catestatin (CgA344-364) stimulates rat mast cell release of histamine in a manner comparable to mastoparan and other cationic charged neuropeptides. *Regul Pept*. 2003;114(1):29-35.
  212. Zhang D, Shooshtarizadeh P, Laventie BJ, Colin DA, Chich JF, Vidic J i sur. Two chromogranin a-derived peptides induce calcium entry in human neutrophils by calmodulin-regulated calcium independent phospholipase A2. *PLoS One*. 2009;4(2):e4501.
  213. Frodermann V, Nahrendorf M. Neutrophil-macrophage cross-talk in acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2017;38(3):198-200.
  214. Mahapatra NR, O'Connor DT, Vaingankar SM, Hikim AP, Mahata M, Ray S i sur. Hypertension from targeted ablation of chromogranin A can be rescued by the human ortholog. *J Clin Invest*. 2005;115(7):1942-52.
  215. Kiranmayi M, Chirasani VR, Allu PK, Subramanian L, Martelli EE, Sahu BS i sur. Catestatin Gly364Ser Variant Alters Systemic Blood Pressure and the Risk for

- 
- Hypertension in Human Populations via Endothelial Nitric Oxide Pathway. *Hypertension*. 2016;68(2):334-47.
216. Chen Y, Rao F, Wen G, Gayen JR, Zhang K, Vaingankar SM i sur. Naturally occurring genetic variants in human chromogranin A (CHGA) associated with hypertension as well as hypertensive renal disease. *Cell Mol Neurobiol*. 2010;30(8):1395-400.
217. Burchell AE, Sobotka PA, Hart EC, Nightingale AK, Dunlap ME. Chemohypersensitivity and autonomic modulation of venous capacitance in the pathophysiology of acute decompensated heart failure. *Curr Heart Fail Rep*. 2013;10(2):139-46.
218. Fallick C, Sobotka PA, Dunlap ME. Sympathetically mediated changes in capacitance: redistribution of the venous reservoir as a cause of decompensation. *Circ Heart Fail*. 2011;4(5):669-75.
219. Ottesen AH, Carlson CR, Louch WE, Dahl MB, Sandbu RA, Johansen RF i sur. Glycosylated Chromogranin A in Heart Failure: Implications for Processing and Cardiomyocyte Calcium Homeostasis. *Circ Heart Fail*. 2017;10(2):e003675.
220. Pieroni M, Corti A, Tota B, Curnis F, Angelone T, Colombo B i sur. Myocardial production of chromogranin A in human heart: a new regulatory peptide of cardiac function. *Eur Heart J*. 2007;28(9):1117-27.
221. Ceconi C, Ferrari R, Bachetti T, Opasich C, Volterrani M, Colombo B i sur. Chromogranin A in heart failure; a novel neurohumoral factor and a predictor for mortality. *Eur Heart J*. 2002;23(12):967-74.
222. Omland T, Dickstein K, Syversen U. Association between plasma chromogranin A concentration and long-term mortality after myocardial infarction. *Am J Med*. 2003;114(1):25-30.
-

- 
223. Estensen ME, Hognestad A, Syversen U, Squire I, Ng L, Kjekshus J i sur. Prognostic value of plasma chromogranin A levels in patients with complicated myocardial infarction. *Am Heart J.* 2006;152(5):927.
224. Bandyopadhyay GK, Mahata SK. Chromogranin A Regulation of Obesity and Peripheral Insulin Sensitivity. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017;8:20.
225. Jansson AM, Røsjø H, Omland T, Karlsson T, Hartford M, Flyvbjerg A i sur. Prognostic value of circulating chromogranin A levels in acute coronary syndromes. *Eur Heart J.* 2009;30(1):25-32.
226. Røsjø H, Masson S, Latini R, Flyvbjerg A, Milani V, La Rovere MT i sur.; GISSI-HF Investigators. Prognostic value of chromogranin A in chronic heart failure: data from the GISSI-Heart Failure trial. *Eur J Heart Fail.* 2010;12(6):549-56.
227. Zhu D, Wang F, Yu H, Mi L, Gao W. Catestatin is useful in detecting patients with stage B heart failure. *Biomarkers.* 2011;16(8):691-7.
228. Liu L, Ding W, Li R, Ye X, Zhao J, Jiang J i sur. Plasma levels and diagnostic value of catestatin in patients with heart failure. *Peptides.* 2013;46:20-5.
229. Borovac JA, Glavas D, Susilovic Grabovac Z, Supe Domic D, D'Amario D, Bozic J. Catestatin in Acutely Decompensated Heart Failure Patients: Insights from the CATSTAT-HF Study. *J Clin Med.* 2019;8(8):1132.
230. Peng F, Chu S, Ding W, Liu L, Zhao J, Cui X i sur. The predictive value of plasma catestatin for all-cause and cardiac deaths in chronic heart failure patients. *Peptides.* 2016;86:112-7.
231. Wołowicz Ł, Rogowicz D, Banach J, Gilewski W, Sinkiewicz W, Grześk G. Catestatin as a New Prognostic Marker in Stable Patients with Heart Failure with Reduced Ejection Fraction in Two-Year Follow-Up. *Dis Markers.* 2020;2020:8847211.

- 
232. Izci S, Acar E, Inanir M. Plasma catestatin level predicts sPESI score and mortality in acute pulmonary embolism. *Arch Med Sci Atheroscler Dis.* 2020;5:e49-56.
233. Penna C, Alloatti G, Gallo MP, Cerra MC, Levi R, Tullio F i sur. Catestatin improves post-ischemic left ventricular function and decreases ischemia/reperfusion injury in heart. *Cell Mol Neurobiol.* 2010;30(8):1171-9.
234. Bassino E, Fornero S, Gallo MP, Gallina C, Femminò S, Levi R i sur. Catestatin exerts direct protective effects on rat cardiomyocytes undergoing ischemia/reperfusion by stimulating PI3K-Akt-GSK3 $\beta$  pathway and preserving mitochondrial membrane potential. *PLoS One.* 2015;10(3):e0119790.
235. Liao F, Zheng Y, Cai J, Fan J, Wang J, Yang J i sur. Author Correction: Catestatin attenuates endoplasmic reticulum induced cell apoptosis by activation type 2 muscarinic acetylcholine receptor in cardiac ischemia/reperfusion. *Sci Rep.* 2020;10(1):19543.
236. Chu SY, Peng F, Wang J, Liu L, Meng L, Zhao J i sur. Catestatin in defense of oxidative-stress-induced apoptosis: A novel mechanism by activating the beta2 adrenergic receptor and PKB/Akt pathway in ischemic-reperfused myocardium. *Peptides.* 2020;123:170200.
237. Brar BK, Helgeland E, Mahata SK, Zhang K, O'Connor DT, Helle KB i sur. Human catestatin peptides differentially regulate infarct size in the ischemic-reperfused rat heart. *Regul Pept.* 2010;165(1):63-70.
238. Brown JD, Winterstein AG. Potential Adverse Drug Events and Drug-Drug Interactions with Medical and Consumer Cannabidiol (CBD) Use. *J Clin Med.* 2019;8(7):989.
239. Rock EM, Parker LA. Constituents of Cannabis Sativa. *Adv Exp Med Biol.* 2021;1264:1-13.



- 
240. Kicman A, Toczek M. The Effects of Cannabidiol, a Non-Intoxicating Compound of Cannabis, on the Cardiovascular System in Health and Disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(18):6740.
241. Li H, Liu Y, Tian D, Tian L, Ju X, Qi L i sur. Overview of cannabidiol (CBD) and its analogues: Structures, biological activities, and neuroprotective mechanisms in epilepsy and Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem.* 2020;192:112163.
242. Metna-Laurent M, Mondésir M, Grel A, Vallée M, Piazza PV. Cannabinoid-Induced Tetrad in Mice. *Curr Protoc Neurosci.* 2017;80:9.
243. Clark SC. Marihuana and the cardiovascular system. *Pharmacol Biochem Behav.* 1975;3(2):299-306.
244. Solowij N, Broyd S, Greenwood LM, van Hell H, Martelozzo D, Rueb K i sur. A randomised controlled trial of vaporised  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and cannabidiol alone and in combination in frequent and infrequent cannabis users: acute intoxication effects. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2019;269(1):17-35.
245. Malinowska B, Baranowska-Kuczko M, Schlicker E. Triphasic blood pressure responses to cannabinoids: do we understand the mechanism? *Br J Pharmacol.* 2012;165(7):2073-88.
246. Adams R, Hunt M, Clark JH. Structure of cannabidiol, a product isolated from the marihuana extract of Minnesota wild hemp. *J Am Chem Soc.* 1940;62:196-200.
247. Jacob A, Todd AR. Cannabis indica. Part II. Isolation of cannabidiol from Egyptian hashish. Observations on the structure of cannabinol. *J Chem Soc.* 1940:649-53.
248. Mechoulam R, Shvo Y. Hashish I. The structure of cannabidiol. *Tetrahedron.* 1963;19(12):2073-8.
249. Mechoulam R, Gaoni Y. The absolute configuration of delta-1-tetrahydrocannabinol, the major active constituent of hashish. *Tetrahedron Lett.* 1967;12:1109-11.

- 
250. Andre CM, Hausman JF, Guerriero G. Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Front Plant Sci.* 2016;7:19.
251. Livingston SJ, Quilichini TD, Booth JK, Wong DCJ, Rensing KH, Laflamme-Yonkman J i sur. Cannabis glandular trichomes alter morphology and metabolite content during flower maturation. *Plant J.* 2020;101(1):37-56.
252. ElSohly MA, Radwan MM, Gul W, Chandra S, Galal A. Phytochemistry of Cannabis sativa L. *Prog Chem Org Nat Prod.* 2017;103:1-36.
253. Degenhardt F, Stehle F, Kayser O. The Biosynthesis of Cannabinoids. U: Preedy RV, editor. *Handbook of Cannabis and Related Pathologies.* 1. izdanje. London: Elsevier, 2017. str. 13-23.
254. Gonçalves J, Rosado T, Soares S, Simão AY, Caramelo D, Luís Â i sur. Cannabis and Its Secondary Metabolites: Their Use as Therapeutic Drugs, Toxicological Aspects, and Analytical Determination. *Medicines (Basel).* 2019;6(1):31.
255. Millar SA, Stone NL, Yates AS, O'Sullivan SE. A Systematic Review on the Pharmacokinetics of Cannabidiol in Humans. *Front Pharmacol.* 2018;9:1365.
256. Watanabe K, Itokawa Y, Yamaori S, Funahashi T, Kimura T, Toshiyuki K i sur. Conversion of cannabidiol to D9-tetrahydrocannabinol and related cannabinoids in artificial gastric juice, and their pharmacological effects in mice. *Forensic Toxicol.* 2007;25:16-21.
257. Merrick J, Lane B, Sebree T, Yaksh T, O'Neill C, Banks SL. Identification of Psychoactive Degradants of Cannabidiol in Simulated Gastric and Physiological Fluid. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2016;1(1):102-12.
258. Grotenhermen F, Russo E, Zuardi AW. Even High Doses of Oral Cannabidiol Do Not Cause THC-Like Effects in Humans: Comment on Merrick et al. *Cannabis and Cannabinoid Res.* 2016;2(1):1-4.

- 
259. Nahler G, Grotenhermen F, Zuardi AW, Crippa JAS. A Conversion of Oral Cannabidiol to Delta9-Tetrahydrocannabinol Seems Not to Occur in Humans. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2017;2(1):81-6.
260. Devinsky O, Cilio MR, Cross H, Fernandez-Ruiz J, French J, Hill C i sur. Cannabidiol: pharmacology and potential therapeutic role in epilepsy and other neuropsychiatric disorders. *Epilepsia.* 2014;55(6):791-802.
261. Ujváry I, Hanuš L. Human Metabolites of Cannabidiol: A Review on Their Formation, Biological Activity, and Relevance in Therapy. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2016;1(1):90-101.
262. Jiang R, Yamaori S, Takeda S, Yamamoto I, Watanabe K. Identification of cytochrome P450 enzymes responsible for metabolism of cannabidiol by human liver microsomes. *Life Sci.* 2011;89(5-6):165-70.
263. Ibeas Bih C, Chen T, Nunn AV, Bazelat M, Dallas M, Whalley BJ. Molecular Targets of Cannabidiol in Neurological Disorders. *Neurotherapeutics.* 2015;12(4):699-730.
264. Iffland K, Grotenhermen F. An Update on Safety and Side Effects of Cannabidiol: A Review of Clinical Data and Relevant Animal Studies. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2017;2(1):139-54.
265. Patrician A, Versic-Bratincevic M, Mijacika T, Banic I, Marendic M, Sutlović D i sur. Examination of a New Delivery Approach for Oral Cannabidiol in Healthy Subjects: A Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled Pharmacokinetics Study. *Adv Ther.* 2019;36(11):3196-210.
266. Ligresti A, De Petrocellis L, Di Marzo V. From Phytocannabinoids to Cannabinoid Receptors and Endocannabinoids: Pleiotropic Physiological and Pathological Roles Through Complex Pharmacology. *Physiol Rev.* 2016;96(4):1593-659.

- 
267. Pertwee RG. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: delta9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and delta9-tetrahydrocannabivarin. *Br J Pharmacol.* 2008;153(2):199-215.
268. Toczek M, Malinowska B. Enhanced endocannabinoid tone as a potential target of pharmacotherapy. *Life Sci.* 2018;204:20-45.
269. Lucas CJ, Galettis P, Schneider J. The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. *Br J Clin Pharmacol.* 2018;84(11):2477-82.
270. Pertwee RG, Thomas A, Stevenson LA, Ross RA, Varvel SA, Lichtman AH, Martin BR, Razdan RK. The psychoactive plant cannabinoid, Delta9-tetrahydrocannabinol, is antagonized by Delta8- and Delta9-tetrahydrocannabivarin in mice in vivo. *Br J Pharmacol.* 2007;150(5):586-94.
271. Laprairie RB, Bagher AM, Kelly ME, Denovan-Wright EM. Cannabidiol is a negative allosteric modulator of the cannabinoid CB1 receptor. *Br J Pharmacol.* 2015;172(20):4790-805.
272. Campos AC, Ortega Z, Palazuelos J, Fogaça MV, Aguiar DC, Díaz-Alonso J i sur. The anxiolytic effect of cannabidiol on chronically stressed mice depends on hippocampal neurogenesis: involvement of the endocannabinoid system. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2013;16(6):1407-19.
273. Maione S, Piscitelli F, Gatta L, Vita D, De Petrocellis L, Palazzo E i sur. Non-psychoactive cannabinoids modulate the descending pathway of antinociception in anaesthetized rats through several mechanisms of action. *Br J Pharmacol.* 2011;162(3):584-96.
274. Wolf SA, Bick-Sander A, Fabel K, Leal-Galicia P, Tauber S, Ramirez-Rodriguez G i sur. Cannabinoid receptor CB1 mediates baseline and activity-induced survival of new neurons in adult hippocampal neurogenesis. *Cell Commun Signal.* 2010;8:12.
-

- 
275. Leishman E, Manchanda M, Thelen R, Miller S, Mackie K, Bradshaw HB. Cannabidiol's Upregulation of N-acyl Ethanolamines in the Central Nervous System Requires N-acyl Phosphatidyl Ethanolamine-Specific Phospholipase D. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2018;3(1):228-41.
276. Leweke FM, Piomelli D, Pahlisch F, Muhl D, Gerth CW, Hoyer C i sur. Cannabidiol enhances anandamide signaling and alleviates psychotic symptoms of schizophrenia. *Transl Psychiatry.* 2012;2(3):e94.
277. De Petrocellis L, Ligresti A, Moriello AS, Allarà M, Bisogno T, Petrosino S i sur. Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. *Br J Pharmacol.* 2011;163(7):1479-94.
278. Ligresti A, Moriello AS, Starowicz K, Matias I, Pisanti S, De Petrocellis L i sur. Antitumor activity of plant cannabinoids with emphasis on the effect of cannabidiol on human breast carcinoma. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;318(3):1375-87.
279. Elmes MW, Kaczocha M, Berger WT, Leung K, Ralph BP, Wang L i sur. Fatty acid-binding proteins (FABPs) are intracellular carriers for  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD). *J Biol Chem.* 2015;290(14):8711-21.
280. Malinowska B, Toczek M, Pędzińska-Betiuk A, Schlicker E. Cannabinoids in arterial, pulmonary and portal hypertension - mechanisms of action and potential therapeutic significance. *Br J Pharmacol.* 2019;176(10):1395-411.
281. Long LE, Chesworth R, Huang XF, McGregor IS, Arnold JC, Karl T. A behavioural comparison of acute and chronic Delta9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol in C57BL/6JArc mice. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2010;13(7):861-76.
282. Baranowska-Kuczko M, Kozłowska H, Kloza M, Sadowska O, Kozłowski M, Kusaczuk M i sur. Vasodilatory effects of cannabidiol in human pulmonary and rat

- small mesenteric arteries: modification by hypertension and the potential pharmacological opportunities. *J Hypertens.* 2020;38(5):896-911.
283. Stanley CP, Hind WH, Tufarelli C, O'Sullivan SE. Cannabidiol causes endothelium-dependent vasorelaxation of human mesenteric arteries via CB1 activation. *Cardiovasc Res.* 2015;107(4):568-78.
284. O'Sullivan SE, Sun Y, Bennett AJ, Randall MD, Kendall DA. Time-dependent vascular actions of cannabidiol in the rat aorta. *Eur J Pharmacol.* 2009;612(1-3):61-8.
285. Sultan SR, Millar SA, England TJ, O'Sullivan SE. A Systematic Review and Meta-Analysis of the Haemodynamic Effects of Cannabidiol. *Front Pharmacol.* 2017;8:81.
286. Biernacki M, Łuczaj W, Jarocka-Karpowicz I, Ambrożewicz E, Toczek M, Skrzydlewska E. The Effect of Long-Term Administration of Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibitor URB597 on Oxidative Metabolism in the Heart of Rats with Primary and Secondary Hypertension. *Molecules.* 2018;23(9):2350.
287. Biernacki M, Malinowska B, Timoszuk M, Toczek M, Jastrząb A, Remiszewski P i sur. Hypertension and chronic inhibition of endocannabinoid degradation modify the endocannabinoid system and redox balance in rat heart and plasma. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2018;138:54-63.
288. Kossakowski R, Schlicker E, Toczek M, Weresa J, Malinowska B. Cannabidiol Affects the Bezold-Jarisch Reflex via TRPV1 and 5-HT<sub>3</sub> Receptors and Has Peripheral Sympathomimetic Effects in Spontaneously Hypertensive and Normotensive Rats. *Front Pharmacol.* 2019;10:500.
289. Grof CPL. Cannabis, from plant to pill. *Br J Clin Pharmacol.* 2018;84(11):2463-7.
290. Gonca E, Darıcı F. The effect of cannabidiol on ischemia/reperfusion-induced ventricular arrhythmias: the role of adenosine A<sub>1</sub> receptors. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2015;20(1):76-83.

- 
291. Walsh SK, Hepburn CY, Kane KA, Wainwright CL. Acute administration of cannabidiol in vivo suppresses ischaemia-induced cardiac arrhythmias and reduces infarct size when given at reperfusion. *Br J Pharmacol.* 2010;160(5):1234-42.
292. Durst R, Danenberg H, Gallily R, Mechoulam R, Meir K, Grad E i sur. Cannabidiol, a nonpsychoactive Cannabis constituent, protects against myocardial ischemic reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293(6):H3602-7.
293. Feng Y, Chen F, Yin T, Xia Q, Liu Y, Huang G i sur. Pharmacologic Effects of Cannabidiol on Acute Reperfused Myocardial Infarction in Rabbits: Evaluated With 3.0T Cardiac Magnetic Resonance Imaging and Histopathology. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2015;66(4):354-63.
294. Fouad AA, Albuali WH, Al-Mulhim AS, Jresat I. Cardioprotective effect of cannabidiol in rats exposed to doxorubicin toxicity. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2013;36(2):347-57.
295. Hao E, Mukhopadhyay P, Cao Z, Erdélyi K, Holovac E, Liaudet L i sur. Cannabidiol Protects against Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy by Modulating Mitochondrial Function and Biogenesis. *Mol Med.* 2015;21(1):38-45.
296. Hayakawa K, Mishima K, Nozako M, Hazekawa M, Irie K, Fujioka M i sur. Delayed treatment with cannabidiol has a cerebroprotective action via a cannabinoid receptor-independent myeloperoxidase-inhibiting mechanism. *J Neurochem.* 2007;102(5):1488-96.
297. Hampson AJ, Grimaldi M, Lolic M, Wink D, Rosenthal R, Axelrod J. Neuroprotective antioxidants from marijuana. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;899:274-82.
298. Hayakawa K, Mishima K, Irie K, Hazekawa M, Mishima S, Fujioka M i sur. Cannabidiol prevents a post-ischemic injury progressively induced by cerebral

- ischemia via a high-mobility group box1-inhibiting mechanism. *Neuropharmacology*. 2008;55(8):1280-6.
299. Khaksar S, Bigdeli MR. Correlation Between Cannabidiol-Induced Reduction of Infarct Volume and Inflammatory Factors Expression in Ischemic Stroke Model. *Basic Clin Neurosci*. 2017;8(2):139-46.
300. Ceprián M, Jiménez-Sánchez L, Vargas C, Barata L, Hind W, Martínez-Orgado J. Cannabidiol reduces brain damage and improves functional recovery in a neonatal rat model of arterial ischemic stroke. *Neuropharmacology*. 2017;116:151-9.
301. Hayakawa K, Irie K, Sano K, Watanabe T, Higuchi S, Enoki M i sur. Therapeutic time window of cannabidiol treatment on delayed ischemic damage via high-mobility group box1-inhibiting mechanism. *Biol Pharm Bull*. 2009;32(9):1538-44.
302. Mishima K, Hayakawa K, Abe K, Ikeda T, Egashira N, Iwasaki K i sur. Cannabidiol prevents cerebral infarction via a serotonergic 5-hydroxytryptamine1A receptor-dependent mechanism. *Stroke*. 2005;36(5):1077-82.
303. Schiavon AP, Soares LM, Bonato JM, Milani H, Guimarães FS, Weffort de Oliveira RM. Protective effects of cannabidiol against hippocampal cell death and cognitive impairment induced by bilateral common carotid artery occlusion in mice. *Neurotox Res*. 2014;26(4):307-16.
304. Braidia D, Pegorini S, Arcidiacono MV, Consalez GG, Croci L, Sala M. Post-ischemic treatment with cannabidiol prevents electroencephalographic flattening, hyperlocomotion and neuronal injury in gerbils. *Neurosci Lett*. 2003;346(1-2):61-4.
305. Devinsky O. Commentary: medical marijuana survey & epilepsy. *Epilepsia*. 2015;56(1):7-8.



306. Pazos MR, Mohammed N, Lafuente H, Santos M, Martínez-Pinilla E, Moreno E i sur. Mechanisms of cannabidiol neuroprotection in hypoxic-ischemic newborn pigs: role of 5HT(1A) and CB2 receptors. *Neuropharmacology*. 2013;71:282-91.
307. Alvarez FJ, Lafuente H, Rey-Santano MC, Mielgo VE, Gastiasoro E, Rueda M i sur. Neuroprotective effects of the nonpsychoactive cannabinoid cannabidiol in hypoxic-ischemic newborn piglets. *Pediatr Res*. 2008;64(6):653-8.
308. Lafuente H, Alvarez FJ, Pazos MR, Alvarez A, Rey-Santano MC, Mielgo V i sur. Cannabidiol reduces brain damage and improves functional recovery after acute hypoxia-ischemia in newborn pigs. *Pediatr Res*. 2011;70(3):272-7.
309. Lafuente H, Pazos MR, Alvarez A, Mohammed N, Santos M, Arizti M i sur. Effects of Cannabidiol and Hypothermia on Short-Term Brain Damage in New-Born Piglets after Acute Hypoxia-Ischemia. *Front Neurosci*. 2016;10:323.
310. Arruza L, Pazos MR, Mohammed N, Escribano N, Lafuente H, Santos M i sur. Cannabidiol reduces lung injury induced by hypoxic-ischemic brain damage in newborn piglets. *Pediatr Res*. 2017;82(1):79-86.
311. Barata L, Arruza L, Rodríguez MJ, Aleo E, Vierge E, Criado E i sur. Neuroprotection by cannabidiol and hypothermia in a piglet model of newborn hypoxic-ischemic brain damage. *Neuropharmacology*. 2019;146:1-11.
312. Mohammed N, Ceprian M, Jimenez L, Pazos MR, Martínez-Orgado J. Neuroprotective Effects of Cannabidiol in Hypoxic Ischemic Insult. The Therapeutic Window in Newborn Mice. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2017;16(1):102-8.
313. Pazos MR, Cinquina V, Gómez A, Layunta R, Santos M, Fernández-Ruiz J i sur. Cannabidiol administration after hypoxia-ischemia to newborn rats reduces long-term brain injury and restores neurobehavioral function. *Neuropharmacology*. 2012;63(5):776-83.

- 
314. Ceprián M, Vargas C, García-Toscano L, Penna F, Jiménez-Sánchez L, Achicallende S i sur. Cannabidiol Administration Prevents Hypoxia-Ischemia-Induced Hypomyelination in Newborn Rats. *Front Pharmacol.* 2019;10:1131.
315. Garberg HT, Huun MU, Escobar J, Martinez-Orgado J, Løberg EM, Solberg R i sur. Short-term effects of cannabidiol after global hypoxia-ischemia in newborn piglets. *Pediatr Res.* 2016;80(5):710-8.
316. Winnicki M, Canali C, Mormino P, Palatini P. Ambulatory blood pressure monitoring editing criteria: is standardization needed? Hypertension and Ambulatory Recording Venetia Study (HARVEST) Group, Italy. *Am J Hypertens.* 1997;10(4 Pt 1):419-27.
317. O'Connor DT, Kailasam MT, Kennedy BP, Ziegler MG, Yanaihara N, Parmer RJ. Early decline in the catecholamine release-inhibitory peptide catestatin in humans at genetic risk of hypertension. *J Hypertens.* 2002;20(7):1335-45.
318. Simac P, Perkovic D, Bozic I, Matijas M, Gugo K, Martinovic D i sur. Serum catestatin levels in patients with rheumatoid arthritis. *Sci Rep.* 2022;12(1):3812.
319. Simunovic M, Supe-Domic D, Karin Z, Degoricija M, Paradzik M, Bozic J i sur. Serum catestatin concentrations are decreased in obese children and adolescents. *Pediatr Diabetes.* 2019;20(5):549-5.
320. O'Connor DT, Zhu G, Rao F, Taupenot L, Fung MM, Das M i sur. Heritability and genome-wide linkage in US and australian twins identify novel genomic regions controlling chromogranin a: implications for secretion and blood pressure. *Circulation.* 2008;118(3):247-57.
321. Durakoğlugil ME, Ayaz T, Kocaman SA, Kırbaş A, Durakoğlugil T, Erdoğan T i sur. The relationship of plasma catestatin concentrations with metabolic and vascular parameters in untreated hypertensive patients: Influence on high-density lipoprotein cholesterol. *Anatol J Cardiol.* 2015;15(7):577-85.
-

- 
322. Chen Y, Wang X, Yang C, Su X, Yang W, Dai Y i sur. Decreased circulating catestatin levels are associated with coronary artery disease: The emerging anti-inflammatory role. *Atherosclerosis*. 2019;281:78-88.
323. Meng L, Ye XJ, Ding WH, Yang Y, Di BB, Liu L i sur. Plasma catecholamine release-inhibitory peptide catestatin in patients with essential hypertension. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2011;12(9):643-7.
324. Schillaci G, De Vuono S, Pucci G. An endogenous brake on the sympathetic nervous system: the emerging role of catestatin in hypertension. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2011;12(9):609-12.
325. Tüten N, Güralp O, Gök K, Hamzaoglu K, Oner YO, Makul M i sur. Serum catestatin level is increased in women with preeclampsia. *J Obstet Gynaecol*. 2022;42(1):55-60.
326. Gubareva E, Gubareva I. Catestatin in patients with essential hypertension of different cardiovascular risk. *Eur Heart J*. 2021;42:ehab724.2280.
327. Grassi G, Cattaneo BM, Seravalle G, Lanfranchi A, Pozzi M, Morganti A i sur. Effects of chronic ACE inhibition on sympathetic nerve traffic and baroreflex control of circulation in heart failure. *Circulation*. 1997;96(4):1173-9.
328. Katic J, Jurisic Z, Kumric M, Borovac JA, Anic A, Breskovic T i sur. Serum Catestatin Concentrations Are Increased in Patients with Atrial Fibrillation. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2023;10(2):85.
329. Missault LH, De Buyzere ML, De Bacquer DD, Duprez DD, Clement DL. Relationship between left ventricular mass and blood pressure in treated hypertension. *J Hum Hypertens*. 2002;16(1):61-6.
330. Biswas N, Gayen J, Mahata M, Su Y, Mahata SK, O'Connor DT. Novel peptide isomer strategy for stable inhibition of catecholamine release: application to hypertension. *Hypertension*. 2012;60(6):1552-9.
-

- 
331. Kim T, Loh YP. Chromogranin A: a surprising link between granule biogenesis and hypertension. *J Clin Invest.* 2005;115(7):1711-3.
332. Goetze JP, Alehagen U, Flyvbjerg A, Rehfeld JF. Chromogranin A as a biomarker in cardiovascular disease. *Biomark Med.* 2014;8(1):133-40.
333. Mahapatra NR. Catestatin is a novel endogenous peptide that regulates cardiac function and blood pressure. *Cardiovasc Res.* 2008;80:330-8.
334. Lee JC, Taylor CV, Gaucher SP, Toneff T, Taupenot L, Yasothornsrikul S i sur. Primary sequence characterization of catestatin intermediates and peptides defines proteolytic cleavage sites utilized for converting chromogranin a into active catestatin secreted from neuroendocrine chromaffin cells. *Biochemistry.* 2003;42(23):6938-46.
335. Zalewska E, Kmieć P, Sworzak K. Role of Catestatin in the Cardiovascular System and Metabolic Disorders. *Front Cardiovasc Med.* 2022;9:909480.
336. Zivkovic PM, Matetic A, Tadin Hadjina I, Rusic D, Vilovic M, Supe-Domic D i sur. Serum Catestatin Levels and Arterial Stiffness Parameters Are Increased in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *J Clin Med.* 2020;9(3):628.
337. Nardone M, Incognito AV, Millar PJ. Evidence for Pressure-Independent Sympathetic Modulation of Central Pulse Wave Velocity. *J Am Heart Assoc.* 2018;7(3):e007971.
338. Dinunno FA, Jones PP, Seals DR, Tanaka H. Age-associated arterial wall thickening is related to elevations in sympathetic activity in healthy humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000;278(4):H1205-10.
339. Palmiero P, Zito A, Maiello M, Cameli M, Modesti PA, Muiesan ML i sur. Left ventricular diastolic function in hypertension: methodological considerations and clinical implications. *J Clin Med Res.* 2015;7(3):137-44.

340. Grahovac M, Kumric M, Vilovic M, Martinovic D, Kreso A, Ticinovic Kurir T i sur. Adherence to Mediterranean diet and advanced glycation endproducts in patients with diabetes. *World J Diabetes*. 2021;12(11):1942-56.
341. Shen CY, Lu CH, Wu CH, Li KJ, Kuo YM, Hsieh SC i sur. The Development of Maillard Reaction, and Advanced Glycation End Product (AGE)-Receptor for AGE (RAGE) Signaling Inhibitors as Novel Therapeutic Strategies for Patients with AGE-Related Diseases. *Molecules*. 2020;25(23):5591.
342. Benowitz NL, Jones RT. Cardiovascular and metabolic considerations in prolonged cannabinoid administration in man. *J Clin Pharmacol*. 1981;21(S1):214S-23S.
343. Sultan SR, O'Sullivan SE, England TJ. The effects of acute and sustained cannabidiol dosing for seven days on the haemodynamics in healthy men: A randomised controlled trial. *Br J Clin Pharmacol*. 2020;86(6):1125-38.
344. Arout CA, Haney M, Herrmann ES, Bedi G, Cooper ZD. A placebo-controlled investigation of the analgesic effects, abuse liability, safety and tolerability of a range of oral cannabidiol doses in healthy humans. *Br J Clin Pharmacol*. 2022;88(1):347-55.
345. Jadoon KA, Tan GD, O'Sullivan SE. A single dose of cannabidiol reduces blood pressure in healthy volunteers in a randomized crossover study. *JCI Insight*. 2017;2(12):e93760.

**10. ŽIVOTOPIS**

---

## **OPĆI PODATCI:**

**Ime i prezime:** Marko Kumrić

**Datum rođenja:** 18. ožujka 1996.

**Adresa stanovanja:** Sulimančeva 7A, 21000 Split, Hrvatska

**E-mail:** marko.kumric@mefst.hr



<https://orcid.org/0000-0002-9696-3359>

## **OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE:**

2022. Speckle Tracking MasterClass, 123 Sonography

2020. doktor medicine, Medicinski fakultet u Splitu

## **RADNO ISKUSTVO**

2021. – danas, asistent, Katedra za patofiziologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

2020. – 2021., rad pod nadzorom, Ordinacija opće medicine dr. Vikica Krolo

2015. – danas, reprezentativac Hrvatske u judu

## **NASTAVNA AKTIVNOST**

2020. – danas, Patofiziologija i razni izborni predmeti (studij Medicina, studij Dentalna medicina, studij Farmacija, studij Medicina na engleskom jeziku, Sveučilišni odjel zdravstvenih studija), Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu

## **ORGANIZACIJSKE VJEŠTINE**

2022. Tajnik poslijediplomskog tečaja trajne medicinske izobrazbe "Dijabetes – od teorije do prakse", Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

## **ČLANSTVA U ORGANIZACIJAMA I POVJERENSTVIMA:**

2022. – danas, član izvršnog odbora Alumnija Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu

2022. – danas, član Sindikata Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu

2022. – danas, član Europskog društva za kardiologiju

2020. – danas, član Hrvatske liječničke komore

## **PROJEKTI**

2022. – danas, voditelj projekta „Uloga katestatina u patofiziologiji esencijalne hipertenzije”,

Program potpore za mlade znanstvenike, Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu

## **NAGRADE I PRIZNANJA**

2013. Prvo mjesto na državnom natjecanju iz Osnova informatike, NCVVO

2014. Drugo mjesto na državnom natjecanju iz Osnova informatike, NCVVO

2016. Dekanova nagrada za izvrsnost, Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu

2018. Rektorova nagrada za izvrsnost, Sveučilište u Splitu

2023. Sveučilišna nagrada za znanost, Sveučilište u Splitu

12x Prvak Hrvatske u judu

## **STRANI JEZICI**

engleski jezik (napredno), talijanski jezik (osnovno)

## **POPIS PUBLIKACIJA**



[Google Scholar profil](#)