

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Eva Perak

Biomarkeri u kroničnoj opstruktivnoj bolesti pluća

Diplomski rad



Zagreb, 2023.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za pulmologiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice pod vodstvom doc. dr. sc. Marije Gomerčić Palčić i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2022./2023.

Popis i objašnjenje kratica korištenih u radu

6MWT – 6-minutni test hoda (engl. *six minute walking test*)

A1AT – alfa-1-antitripsin

ADO – indeks dobi, dispneje i opstrukcije dišnih puteva (engl. *Age, Dyspnea, and airflow Obstruction index*)

ADRB2 (engl. *beta-2-adrenergic receptor gene*)

BAL – bronhoalveolarni lavat

BICD1 (engl. *bicaudal D homolog 1 gene*)

BODE – indeks tjelesne mase, opstrukcija dišnih puteva, dispneja i kapacitet za fizičku aktivnost (engl. *Body-mass index, airflow Obstruction, Dyspnea, and Exercise capacity*)

BPIFB1 (engl. *bactericidal/permeability-increasing (BPI)-fold-containing family B member 1 protein*)

CAT – upitnik za procjenu kronične opstruktivne plućne bolesti (engl. *COPD Assessment Test*)

CBQC – Konzorcij za kvalifikaciju biomarkera u KOPB-u (engl. *the COPD Biomarker Qualification Consortium*)

CC16 (engl. *club cell secretory protein 16*)

CCL18 – C-C kemokinski ligand 18 (engl. *C-C motif chemokine ligand 18*)

CHRNA3/5 (engl. *cholinergic receptor nicotinic alpha 3/5 gene*)

CRP – C-reaktivni protein

CT – kompjuterizirana tomografija (engl. *computed tomography*)

DL_{CO} – difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

DOSE – indeks dispneje, opstrukcije dišnih puteva, pušenja i egzacerbacija (engl. *Dyspnea, Obstruction, Smoking, Exacerbation index*)

EGFR – receptor epidermalnog čimbenika rasta (engl. *epidermal growth factor receptor*)

EMA – Europska agencija za lijekove (engl. *European Medicines Agency*)

EV – ekstracelularne vezikule

FDA – Američka agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*)

FEV₁ – forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi (engl. *forced expiratory volume in the first second*)

FVC – forsirani vitalni kapacitet (engl. *forced vital capacity*)

GOLD – Globalna inicijativa za kroničnu opstruktivnu plućnu bolest (engl. *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease*)

H₂O₂ – vodikov peroksid

HHIP (engl. *hedgehog-interacting protein gene*)

HO-1 (engl. *heme oxygenase 1 gene*)

HSA – humani serumski albumin

ICS – inhalacijski kortikosteroidi (engl. *inhaled corticosteroids*)

IL – interleukin

KIZ – kondenzat izdahnutog zraka

KOPB – kronična opstruktivna plućna bolest

LABA – dugodjelujući β₂ agonist (engl. *long-acting β₂-agonist*)

LAMA – dugodjelujući muskarinski antagonist (engl. *long-acting muscarinic antagonist*)

MDA – malondialdehid

MMEF – maksimalni protok srednjeg izdisaja (engl. *maximal mid-expiratory flow*)

MMP – matriksna metaloproteinaza

mMRC – modificirana skala dispneje (engl. *modified Medical Research Council*)

MR – magnetska rezonancija

MUC5AC – mucin 5AC

MUC5B – mucin 5B

NaCl – natrijev klorid

NIH – Nacionalni institut za zdravlje (engl. *National Institutes of Health*)

PAI-1 – inhibitor aktivator plazminogena 1 (engl. *plasminogen activator inhibitor 1*)

PIF – vršni inspiratorni protok zraka (engl. *peak inspiratory flow*)

RAGE – receptor za krajnje produkte napredne glikacije (engl. *receptor for advanced glycation endproducts*)

rRNK – ribosomska ribonukleinska kiselina

SERPINA1 (engl. *serpin family A member 1 gene*)

SF-36 – upitnik zdravstvenog statusa (engl. *36-Item Short Form Health Survey*)

SGRQ (engl. *St. George's Respiratory Questionnaire*)

SIRT – sirtuin

SP-D – surfaktantski protein D

SpO₂ – periferna saturacija hemoglobina kisikom

sRAGE – topljivi oblik receptora za krajnje produkte napredne glikacije (engl. *soluble receptor for advanced glycation endproducts*)

T2 – upalni odgovor posredovan T-pomagačkim stanicama tipa 2

TNF- α – čimbenik tumorske nekroze alfa (engl. *tumor necrosis factor alpha*)

\dot{V}_E/\dot{V}_{CO_2} – ventilacijski ekvivalent ugljikova dioksida

VOC – hlapljivi organski spojevi (engl. *volatile organic compounds*)

Sadržaj

SAŽETAK
SUMMARY

1. Uvod	1
2. Kronična opstruktivna plućna bolest.....	3
2.1. Epidemiologija i značaj.....	3
2.2. Etiologija i patogeneza.....	3
2.3. Klinička slika	4
2.4. Dijagnostički kriteriji	5
2.5. Terapija	6
3. Vrste biomarkera u KOPB-u	8
3.1. Eozinofili	8
3.1.1. Povezanost s učestalošću egzacerbacija	8
3.1.2. Povezanost s učinkom kortikosteroida na smanjenje egzacerbacija	9
3.1.3. Povezanost s drugim parametrima.....	10
3.1.4. Određivanje granične vrijednosti	11
3.2. Biomarkeri iz krvi.....	12
3.2.1. Biomarkeri za kliničke ishode.....	12
3.2.2. Paneli biomarkera	14
3.2.3. Biomarkeri za terapijske strategije	15
3.3. Fiziološki biomarkeri	16
3.3.1. Forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi	16
3.3.2. Difuzijski kapacitet pluća.....	16
3.3.3. Ostali fiziološki biomarkeri.....	18
3.4. Slikovne metode	19
3.5. Iskašljaj i bronhoalveolarna lavaža	21
3.6. Biomarkeri u izdahnutom zraku	24
3.7. Ekstracelularne vezikule	26
3.8. Genetički biomarkeri.....	26
3.9. Biomarkeri povezani sa starenjem pluća.....	27
4. Primjenjivost u kliničkoj praksi	28
5. Zaključak	30
6. Zahvale	31
7. Literatura	32
8. Životopis.....	39

SAŽETAK

Biomarkeri u kroničnoj opstruktivnoj bolesti pluća

Eva Perak

Kronična opstruktivna bolest pluća (KOPB) jedan je od vodećih javnozdravstvenih problema u svijetu. Jedan od razloga za to je velika heterogenost patogenetskih mehanizama i kliničkih prezentacija bolesti, zbog čega se jedna terapijska strategija ne može uspješno primijeniti na sve bolesnike, već je potreban personalizirani pristup. Stoga je znanost u potrazi za biomarkerima koji bi mogli pomoći identificirati podskupine bolesnika sa zajedničkim karakteristikama i tako povećati uspješnost postojećih terapijskih intervencija, kao i ubrzati razvoj novih. Postoji pregršt znanstvenih radova koji istražuju povezanost različitih biomarkera s kliničkim i terapijskim ishodima. Jedan od najznačajnijih biomarkera jest broj eozinofila u perifernoj krvi. Veći broj eozinofila predviđa bolji odgovor na inhalacijske kortikosteroide te je stoga uvršten u smjernice Globalne inicijative za kroničnu opstruktivnu bolest pluća (GOLD) kao kriterij za započinjanje te terapije. Neka istraživanja ukazuju na povezanost više razine eozinofila u krvi s većim rizikom od egzacerbacija, no dokazi za to su još uvijek nejasni. Osim eozinofila, u krvi se mogu mjeriti koncentracije cijelog niza molekula koje bi mogle poslužiti kao biomarkeri. Najveći potencijal pruža fibrinogen koji je odobren za korištenje u istraživanjima kao biomarker povećanog rizika od egzacerbacije i smrti. Od fizioloških biomarkera, spirometrijski parametri poput forsiranog ekspiratornog volumena u prvoj sekundi (FEV₁) i forsiranog vitalnog kapaciteta (FVC) već se koriste kao dijagnostički biomarkeri, dok je difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid pokazao čak i bolju povezanost s nekim kliničkim ishodima. Od slikovnih metoda najveću ulogu u KOPB-u ima kompjuterizirana tomografija (CT) kojom se mogu detektirati emfizem i kronični bronhitis, kao i eventualni komorbiditeti. Brojne molekule, produkti upale u plućima, mogu se detektirati u uzorcima iskašljaja, bronhoalveolarnog lavata, u izdahnutom zraku te kondenzatu izdahnutog zraka. Istražena je i povezanost ekstracelularnih vezikula, genetičkih biomarkera i molekularnih pokazatelja plućne starosti s ishodima u KOPB-u. Klinička primjena ovih biomarkera vjerojatno će počivati na njihovoj kombinaciji, a potrebna su daljnja istraživanja prije nego što ona bude moguća.

Ključne riječi: kronična opstruktivna bolest pluća, biomarkeri, personalizirana medicina

SUMMARY

Biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease

Eva Perak

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is one of the main public health problems in the world. One of the reasons for that is a vast heterogeneity of pathogenetic mechanisms and clinical manifestations, because of which one therapeutic strategy cannot be successfully applied to all patients. Instead, a personalized approach is needed. That's why the scientific community is looking for biomarkers that could help identify subgroups of patients with common characteristics and thus increase the efficacy of current therapeutic interventions, as well as accelerate the development of new ones. There is a great number of research papers that explore the association of different biomarkers with clinical and therapeutic outcomes. One of the most significant biomarkers is the blood eosinophil count. Higher eosinophil count predicts a better response to inhaled corticosteroids and is therefore included in the Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) guidelines as a criterion for initiating that treatment. Some articles indicate an association of higher blood eosinophil counts with a higher exacerbation risk, but the evidence is still insufficient. Beside eosinophils, concentrations of various molecules which could serve as biomarkers can be measured in the blood. Fibrinogen provides the greatest potential and is approved for use in research as a biomarker of increased risk of exacerbation and death. Among physiological biomarkers, spirometry parameters such as forced expiratory volume in the first second (FEV₁) and forced vital capacity (FVC) are already being used as diagnostic biomarkers, and diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide demonstrated even greater association with some clinical outcomes. Among imaging methods in COPD, computed tomography (CT) has the biggest role. It can detect emphysema and chronic bronchitis, as well as potential comorbidities. Various molecules, products of lung inflammation, can be detected in samples of sputum, bronchoalveolar lavage, exhaled breath, and exhaled breath condensate. Associations of extracellular vesicles, genetic biomarkers and molecular signs of lung ageing with COPD outcomes have also been investigated. Clinical implementation of these biomarkers will probably rely on their combination, but further research is needed before it becomes possible.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease, biomarkers, personalized medicine

1. Uvod

Kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB) jedan je od najvećih javnozdravstvenih problema današnjice s izrazitim utjecajem na globalno zdravlje. Unatoč rastućem broju novih istraživanja, napredak u liječenju i ishodima ovih bolesnika stagnira, a broj hospitalizacija se povećava. Uz visoku prevalenciju, jedan od razloga zašto KOPB predstavlja toliki izazov jest njegova izrazita heterogenost. Postoji cijeli niz mogućih kliničkih prezentacija, no čak i bolesnici sa sličnim kliničkim fenotipom mogu imati različit tzv. endotip, odnosno molekularne i stanične obrasce odgovorne za patogenezu bolesti. Osim velike varijabilnosti između različitih bolesnika, prisutne su i velike varijacije unutar pojedinog bolesnika između različitih vremenskih točaka. Upravo zbog toga sve više raste broj istraživanja u potrazi za biomarkerima koji bi raščlanili i olakšali pristup toj heterogenoj bolesti (1).

Prema definiciji Nacionalnog instituta za zdravlje (NIH), biomarker je „karakteristika koja se objektivno mjeri i procjenjuje kao indikator normalnih bioloških procesa, patogenih procesa ili farmakoloških odgovora na terapijsku intervenciju“ (2). Biomarkeri imaju brojne uloge pa se tako mogu podijeliti na: biomarkere rizika (koji predviđaju rizik od razvoja bolesti), dijagnostičke (koji pomažu u postavljanju dijagnoze), *monitoring* biomarkere (koji se koriste za praćenje progresije bolesti), prognostičke (koji procjenjuju vjerojatnost kliničkih ishoda), prediktivne (koji predviđaju odgovor na terapijsku intervenciju), biomarkere odgovora (koji utvrđuju postojanje biološkog odgovora nakon izlaganja lijeku ili okolišnom čimbeniku) i biomarkere sigurnosti (koji procjenjuju toksične učinke izlaganja lijeku ili okolišnom čimbeniku) (3).

Svi nam ti biomarkeri omogućuju prepoznavanje podskupina bolesnika sa zajedničkim fenotipom ili endotipom, koji bi onda isto tako mogli imati i jednaki odgovor na terapiju. Upravo to je preduvjet personalizirane medicine, odnosno ciljanog razvoja novih lijekova za pojedine skupine bolesnika. S obzirom na to da u podlozi nastanka bolesti postoje različiti mehanizmi, neće svi bolesnici jednako odgovoriti na istu terapiju. Biomarkeri imaju potencijal detektirati koji bi bolesnici mogli pozitivno odgovoriti na primijenjeni lijek i tako spriječiti nepotrebnu primjenu i moguće štetne učinke lijeka u bolesnika koji od njega nemaju koristi (1). Isto tako, biomarkeri se mogu koristiti za predviđanje brzine progresije bronhoopstrukcije, za pomoć u dijagnostici trenutnih i predviđanju učestalosti budućih egzacerbacija, te za procjenu rizika od smrti i drugih nepoželjnih ishoda. Idealni biomarker trebao bi biti pouzdan, tj. dobro korelirati s ishodom na koji ukazuje, trebao bi se moći jednostavno, brzo, jeftino i na

siguran način izmjeriti, i najvažnije, njegovo mjerenje trebalo bi rezultirati kvalitetnijim terapijskim pristupom bolesniku (4).

Osim u kliničkoj praksi, biomarkeri bi mogli imati veliku vrijednost i u farmakološkim istraživanjima. Kliničke faze ispitivanja novih lijekova uključuju veliki broj ispitanika od kojih mnogi tijekom trajanja istraživanja ni ne dosegnu ishod koji se istražuje. Primjerice, učinkovitost lijeka koji utječe na rizik od egzacerbacija najbolje bi se dala ispitati u skupini bolesnika s povećanim rizikom od egzacerbacija. Biomarkeri bi ispravnim prepoznavanjem takvih bolesnika mogli smanjiti broj ispitanika potreban za dobivanje statistički značajnih rezultata i tako ne samo povećati efikasnost istraživanja već i smanjiti nepotrebno izlaganje ispitanika potencijalno štetnim lijekovima (5). Godine 2010. osnovan je Konzorcij za kvalifikaciju biomarkera u KOPB-u (CBQC) koji okuplja regulatorne medicinske agencije, farmaceutske tvrtke i znanstvenike, a cilj mu je sabrati rezultate svih dosadašnjih studija i olakšati implementaciju biomarkera u farmakološkim istraživanjima (6).

2. Kronična opstruktivna plućna bolest

Kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB) česta je bolest karakterizirana progresivnom, ireverzibilnom opstrukcijom dišnih puteva kao posljedicom kronične upale nastale u odgovoru na dugotrajnu izloženost štetnim čimbenicima iz okoliša. Dva glavna entiteta ove bolesti su kronični bronhitis i emfizem, premda ona u stvarnosti uključuje cijeli spektar kliničkih prezentacija (7).

2.1. Epidemiologija i značaj

Kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB) veliki je javnozdravstveni problem. S prevalencijom od čak 15% do 20% stanovništva starijeg od 40 godina u Europi, ona čini treći najčešći uzrok smrti u svijetu (8). Tako je u 2019. godini KOPB bio uzrokom 3.23 milijuna smrti (9). Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, KOPB je sedmi najveći uzrok smanjenog zdravlja u svijetu, s najvećim utjecajem vidljivim u slabije razvijenim zemljama (9). Incidencija KOPB-a više je nego dvostruko veća u muškaraca (13.3/1000 osoba-godina) u odnosu na žene (6.1/1000 osoba-godina), a povećava se s godinama te su pretežno pogođene osobe starije životne dobi (8).

U Hrvatskoj je situacija slična kao u ostatku svijeta. Procjenjuje se da oko 400 000 stanovnika boluje od KOPB-a te da ih oko 1600 godišnje umire zbog toga (10). Bolesti dišnog sustava najveće su opterećenje za obiteljsku medicinu u Hrvatskoj, a za većinu smrti u toj skupini bolesti odgovoran je KOPB. Procjenjuje se da će, uz još uvijek visoku stopu pušenja i sve veće starenje stanovništva, godišnji broj smrti zbog KOPB-a u svijetu porasti na 7 milijuna do 2060. godine (11).

2.2. Etiologija i patogeneza

KOPB je bolest multifaktorijalne etiologije. Brojne okolišne nokse djeluju u kombinaciji s unutarnjim tjelesnim čimbenicima i doprinose nastajanju kronične upale dišnih puteva. Ta je upala dominantno posredovana neutrofilima, a u manjeg dijela bolesnika može se naći i izražena eozinofilna upala. Posljedično takvoj kroničnoj upali dolazi do opstrukcije dišnih puteva čepovima sluzi, a pojačano otpuštanje raznih proteaza razara plućno tkivo, smanjujući mu elastičnost i pogoršavajući opstrukciju (12).

Genetika igra veliku ulogu u patogenezi KOPB-a. Nasljedna komponenta iznosi čak 60% te su identificirani brojni geni čiji se polimorfizmi povezuju s povećanim rizikom. Poseban oblik KOPB-a s jasnom genetičkom podlogom je onaj uzrokovan mutacijom gena za alfa-1-antitripsin (A1AT) s posljedičnom deficijencijom tog enzima i razvojem emfizema (8).

Od okolišnih čimbenika rizika, glavni i najpoznatiji jest pušenje. Incidencija je u pušača skoro pet puta veća nego u osoba koje nikada nisu pušile, a veća je u trenutnih u odnosu na bivše pušače (8). Ipak, 25-45% bolesnika čine nepušači, što ukazuje na postojanje i drugih važnih čimbenika rizika. Jedan od najznačajnijih je unutarnje zagađenje zraka zbog sagorijevanje biomase. Njemu je izloženo tri puta više ljudi nego duhanskom dimu, a posebno je rasprostranjeno u slabije razvijenim zemljama i ruralnim područjima. Na sličan način rizik povećavaju i vanjsko zagađenje zraka te profesionalna izloženost štetnim plinovima i česticama. Tu su još i drugi čimbenici rizika, poput niskog socioekonomskog statusa, učestalih respiratornih infekcija u djetinjstvu, preboljene plućne tuberkuloze, intrauterinog zastoja u rastu i drugih (13).

2.3. Klinička slika

Dva glavna simptoma KOPB-a su kronični kašalj i dispneja. Kašalj, s ili bez iskašljaja, obično se javlja prvi, a pojava dispneje najčešće je prvi razlog za odlazak liječniku. Ti simptomi dovode do smanjenog kapaciteta za fizičku aktivnost te mogu ograničavati bolesnika u obavljanju svakodnevnih radnji. Dva glavna klinička fenotipa tradicionalno prepoznata u KOPB-u su tzv. *pink puffer* i *blue bloater*. *Pink puffer* predstavlja bolesnika s dominantnim emfizemom i ranim nastupom zaduhe, dok je kod *blue bloatera* dominantno prisutan kronični bronhitis s ranom pojavom cijanoze i perifernih edema. Međutim, u praksi se ta dva fenotipa često preklapaju. U fizikalnom statusu ovi bolesnici tipično imaju produljeni ekspirij s popratnim zviždukom, što oslikava opstrukciju malih dišnih puteva (7,14).

KOPB je kronična bolest obilježena povremenim egzacerbacijama. Akutna egzacerbacija se definira kao akutno pogoršanje simptoma u obliku povećane dispneje i/ili kašlja koje je nastupilo u manje od 14 dana, a zahtijeva dodatnu terapiju (14,15). Egzacerbacije se mogu podijeliti na blage, umjerene i teške, prema kriterijima prikazanim u tablici 1 (14).

Tablica 1: Klasifikacija težine egzacerbacije KOPB-a. Preuzeto iz: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, 2023. (14)

<p>Blaga egzacerbacija</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Dispneja VAS < 5 • RR < 24/min • HR < 95/min • SaO₂ u mirovanju ≥ 92% pri udisanju atmosferskog zraka (ili pacijentove uobičajene terapije kisikom) i promjena ≤ 3% (ako se zna) • CRP < 10 mg/L
<p>Umjerena egzacerbacija (zadovoljava barem tri od pet kriterija)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Dispneja VAS ≥ 5 • RR ≥ 24/min • HR ≥ 95/min • SaO₂ u mirovanju < 92% pri udisanju atmosferskog zraka (ili pacijentove uobičajene terapije kisikom) i/ili promjena > 3% • CRP ≥ 10 mg/L <p>*Ako se napravi, plinska analiza arterijske krvi može pokazati hipoksemiju (PaO₂ ≤ 60 mmHg) i/ili hiperkapniju (PaCO₂ > 45 mmHg), ali ne i acidozu</p>
<p>Teška egzacerbacija</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Dispneja, RR, HR, SaO₂ i CRP isto kao kod umjerene • Plinska analiza arterijske krvi pokazuje hiperkapniju (PaCO₂ > 45 mmHg) i acidozu (pH < 7.35)

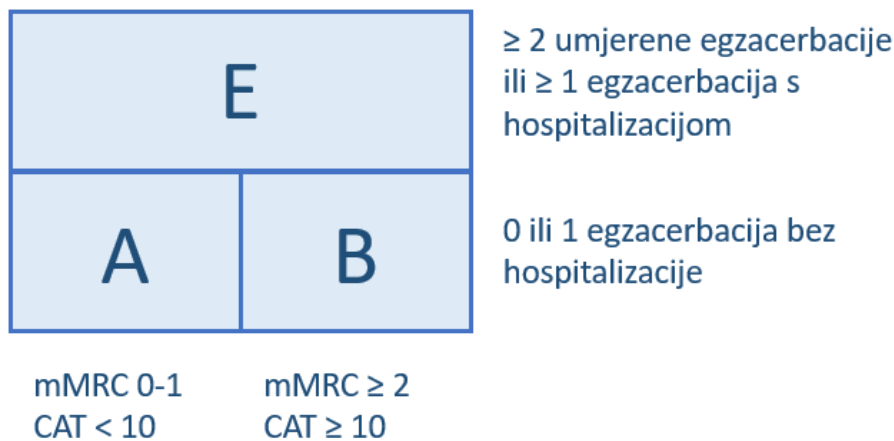
*VAS – vizualno analogna skala, RR – respiratorna frekvencija, HR – srčana frekvencija, SaO₂ – saturacija kisikom, CRP – C-reaktivni protein, PaO₂ – parcijalni tlak kisika, PaCO₂ – parcijalni tlak ugljikova dioksida

2.4. Dijagnostički kriteriji

Zlatni standard za postavljanje dijagnoze KOPB-a je spirometrija. Kako je KOPB opstruktivna bolest obilježena otežanim i produljenim ekspirijem, najvažniji parametri koji se mjere su volumen zraka koji bolesnik uspije izdahnuti u prvoj sekundi forsiranog izdisaja, odnosno forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi (FEV₁), te omjer tog volumena i ukupnog izdahnutog volumena, odnosno forsiranog vitalnog kapaciteta (FVC). Dijagnostički kriterij za postavljanje dijagnoze, prema smjericama Globalne inicijative za kroničnu opstruktivnu

bolest pluća (GOLD), je nalaz $FEV_1/FVC < 0.7$ prije i nakon inhalacije kratkodjelujućeg bronhodilatatora (14).

Spirometrija se također koristi za klasifikaciju bolesti prema težini opstrukcije dišnih puteva. Prema vrijednosti FEV_1 izraženoj kao postotak predviđene vrijednosti za bolesnika, KOPB se dijeli u četiri kategorije: GOLD 1 ($FEV_1 \geq 80\%$), GOLD 2 ($50\% \leq FEV_1 < 80\%$), GOLD 3 ($30\% \leq FEV_1 < 50\%$) i GOLD 4 ($FEV_1 < 30\%$). Međutim, sve se manje oslanja samo na ocjenu stupnja bronhoopstrukcije, a sve se više uzima u obzir klinička slika bolesnika. Tako se za odabir farmakoterapije koristi ABE klasifikacija koja svrstava bolesnike u skupine u ovisnosti o učestalosti egzacerbacija i hospitalizacija u protekloj godini te simptomima mjerenim na modificiranoj skali dispneje (mMRC) i upitniku za procjenu KOPB-a (CAT) (14).

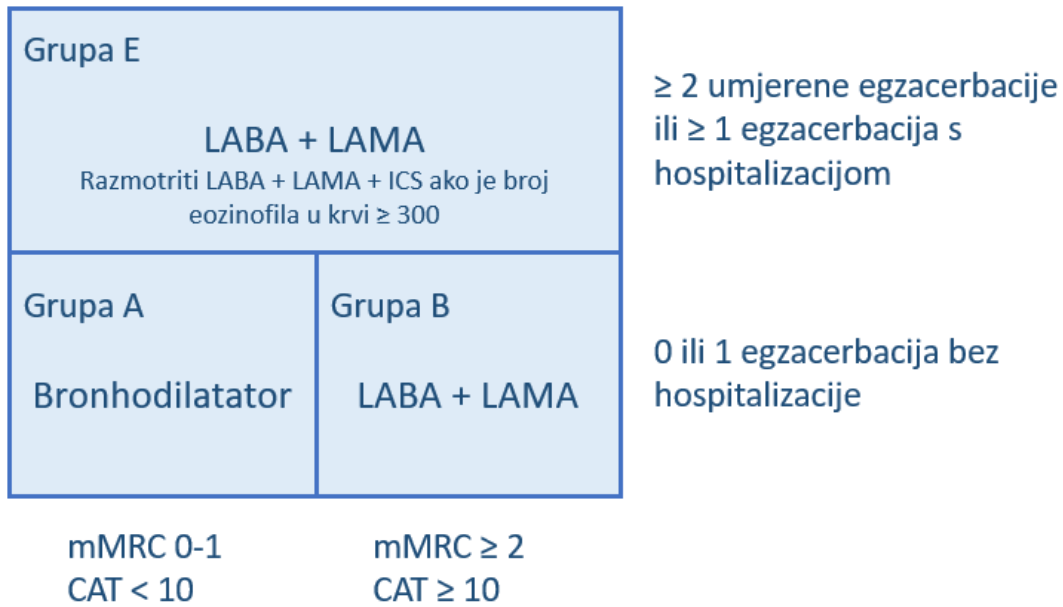


Slika 1: Modificirana ABE klasifikacija prema GOLD smjernicama. Preuzeto iz: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, 2023. (14)

2.5. Terapija

Liječenje KOPB-a je složeno i sastoji se od promjena životnih navika i farmakološke terapije. Prva mjera koja se svima preporučuje jest prestanak pušenja, koji značajno usporava progresiju bolesti. Programi plućne rehabilitacije olakšavaju simptome i poboljšavaju kapacitet za fizičku aktivnost bolesnika. Također se svim bolesnicima preporučuje redovito cijepljenje protiv gripe i pneumokoka. Farmakoterapija se prvenstveno koristi za simptomatsko liječenje te tu temelj čine bronhodilatatori, odnosno inhalacija kratko i dugodjelujućih β_2 agonista i antimuskarinika, pojedinačno ili u kombinaciji. U bolesnika s čestim egzacerbacijama i

visokom razinom eozinofila u krvi u terapiju se često dodaju i inhalacijski kortikosteroidi (ICS). Liječenje akutnih egzacerbacija sastoji se od ograničene primjene kisika te primjene kratkodjelujućih bronhodilatatora, sistemskih kortikosteroida i antibiotika po potrebi (14).



Slika 2: Terapijska shema po ABE klasifikaciji. Preuzeto iz: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, 2023. (14)

3. Vrste biomarkera u KOPB-u

3.1. Eozinofili

Eozinofili su jedan od najpouzdanijih i najčešće korištenih biomarkera u KOPB-u. Njihova prisutnost i broj, mjereni u iskašljaju ili u perifernoj krvi, temeljito su istraživani kao potencijalni prognostički pokazatelj rizika od budućih egzacerbacija, a ujedno i prediktivni biomarker odgovora na terapiju kortikosteroidima (16). Svijest o važnosti eozinofila kao biomarkera rasla je paralelno sa spoznajom o neizostavnoj ulozi eozinofilne upale u dijela bolesnika s KOPB-om (12,16). Iako se KOPB većinom manifestira neutrofilnom upalom, eozinofilni upalni fenotip prisutan je kod čak 10-40% bolesnika (12).

3.1.1. Povezanost s učestalošću egzacerbacija

Veliko prospektivno istraživanje o bolesnicima s KOPB-om iz „Kopenhagenske studije opće populacije“ pokazalo je da broj eozinofila u krvi ≥ 340 stanica/ μ L predviđa 1.15 puta veću učestalost umjerenih i 1.76 puta veću učestalost teških egzacerbacija. Kada se promatrala podskupina bolesnika u kojoj su svi imali barem jednu egzacerbaciju unatrag godinu dana, ta povezanost bila je još snažnija te je omjer stopa incidencije iznosio 1.69 za umjerene te 3.21 za teške (17). U još nekoliko istraživanja pokazalo se da su više razine eozinofila u perifernoj krvi povezane s većim rizikom u osoba s umjerenim do teškim KOPB-om i poviješću egzacerbacija (16,18). Međutim, povijest egzacerbacija u osobnoj anamnezi nezavisno je jedan od najvažnijih čimbenika rizika za razvoj budućih te se postavlja pitanje prediktivne uloge krvnih eozinofila u široj populaciji bolesnika (16,19).

Analiza SPIROMICS (*Subpopulations and Intermediate Outcome Measures in COPD Study*) kohorte, koju su proveli Hastie i sur. (19), uključivala je bolesnike svih stadija i težina bolesti te nije ustanovljena nikakva povezanost razine eozinofila u perifernoj krvi s rizikom od egzacerbacija. Ipak, u skupini ispitanika s većim brojem eozinofila primijećena je češća upotreba ICS-a pa postoji mogućnost da je time stvarna prediktivna vrijednost eozinofila u krvi neadekvatno procijenjena (19).

U većini dosad provedenih studija ispitanici su na početku istraživanja imali čimbenike, poput povijesti egzacerbacija unatrag godinu dana ili uzimanja ICS-a, koji oboje utječu na rizik od egzacerbacije. Stoga, još uvijek ostaje nejasno mogu li se eozinofili u krvi neovisno koristiti za njegovo predviđanje (14,20). Singh i sur. su, tijekom velike analize podataka iz 11 kliničkih

studija, stratificirali ispitanike prema povijesti egzacerbacija i terapiji ICS-om te nisu pronašli značajnu povezanost (21). S obzirom na kontradiktorne rezultate dosadašnjih studija, bit će potrebna daljnja istraživanja prije nego što se dosegne konsenzus.

3.1.2. Povezanost s učinkom kortikosteroida na smanjenje egzacerbacija

Broj eozinofila također ima značajnu ulogu pri selekciji bolesnika koji bi mogli imati koristi od kortikosteroidne terapije. Liječenje kortikosteroidima povezano je s brojnim nuspojavama i rizicima, poput osteoporoze, hiperglikemije i pogoršanja dijabetesa, adrenalne insuficijencije, sepse i tromboze, što posebno dolazi do izražaja tijekom njihove sistemske primjene u akutnim egzacerbacijama KOPB-a (22). Uz to, prema saznanjima o astmi, kortikosteroidi se nisu pokazali učinkovitima u smanjivanju upale dominantno posredovane neutrofilima, već djeluju prvenstveno na eozinofilnu upalu (16,22). Stoga je prediktivna vrijednost eozinofila u ovom aspektu izuzetno važna jer omogućuje racionalniju primjenu kortikosteroida te posljedično smanjenje morbiditeta i mortaliteta (16,22).

Bolesnici s $\geq 2\%$ eozinofila u perifernoj krvi ili ≥ 200 eozinofila/ μL imaju bolji odgovor te kraće trajanje hospitalizacije nakon primjene oralnih kortikosteroida u akutnoj egzacerbaciji, u odnosu na bolesnike s nižim razinama eozinofila (16). CORTICO-COP studija (*Corticosteroid Reduction in COPD study*) (22), provedena u Danskoj između 2016. i 2018. godine, istraživala je sigurnost terapijske strategije pri kojoj je propisivanje steroida u egzacerbaciji KOPB-a vođeno dnevnom razinom eozinofila u krvi. Ukupno 318 pacijenata hospitaliziranih zbog teške egzacerbacije KOPB-a bilo je podijeljeno u dvije skupine: kontrolnu skupinu u kojoj su svi ispitanici svakodnevno primali sistemske kortikosteroide te testnu skupinu u kojoj su prvi dan svi primili 80 mg metilprednizolona intravenski, a ostale dane sistemski kortikosteroidi bili su ordinirani samo onima s brojem eozinofila u krvi ≥ 300 stanica/ μL , mjerenima svaki dan iznova. Nije bilo statistički značajne razlike u preživljenju, trajanju hospitalizacije ni učestalosti rehospitalizacije nakon 14 i 30 dana, ukazujući na neinferiornost ovakve terapijske strategije. S druge strane, prosječna kumulativna doza sistemskih kortikosteroida bila je značajno veća, a pogoršanje postojeće šećerne bolesti značajno češće u kontrolnoj skupini. Ipak, autori navode potrebu za potvrdom ovih rezultata u većim kliničkim studijama (22).

Eozinofili u krvi pokazali su se i dobrim pokazateljem učinkovitosti inhalacijskih kortikosteroida u terapiji održavanja. U bolesnika s egzacerbacijama u anamnezi i većim brojem eozinofila u krvi, redovita primjena ICS-a s bronhodilatatorima značajno smanjuje

učestalost egzacerbacija u odnosu na primjenu samo bronhodilatatora, dok je ta razlika puno manja ili je nema među onima s nižim eozinofilima (16). U *post-hoc* analizi 3 randomizirana klinička pokusa, Bafadhel i sur. (18) pokazali su da učestalost egzacerbacija kod bolesnika liječenih samo formoterolom (4.5 µg), a s poviješću umjerenih do teških egzacerbacija, pozitivno korelira s brojem eozinofila. S druge strane, kod bolesnika liječenih kombinacijom budezonida i formoterola (160-4.5 µg) nema takve korelacije, što upućuje na veći učinak ICS terapije u bolesnika s višim razinama eozinofila. Najniža razina eozinofila pri kojoj je uočen značajan pozitivan učinak terapije budezonid-formoterolom iznosila je 100 stanica/µL, a najznačajniji učinak (smanjenje egzacerbacija za > 50%) zabilježen je kod razina > 340 stanica/µL (18).

Sukladno rezultatima ovog i sličnih istraživanja, broj eozinofila kao prediktivni biomarker za odgovor na ICS uvršten je u GOLD smjernice 2019. godine. Prema smjernicama, dodatak ICS-a dugodjelujućim bronhodilatatorima u kroničnoj terapiji KOPB-a ne preporučuje se u bolesnika s brojem eozinofila u krvi < 100 stanica/µL, snažno se preporučuje ≥ 300 stanica/µL, a kod onih s brojem između 100 i 300 stanica/µL ICS se preporučuju samo ako unatoč terapiji bronhodilatatorima postoji barem jedna umjereni egzacerbacija godišnje (14).

3.1.3. Povezanost s drugim parametrima

Osim učestalosti egzacerbacija i učinka kortikosteroida na njeno smanjenje, istraživana je povezanost broja eozinofila i s drugim parametrima u KOPB-u. Opservacijska longitudinalna studija provedena na zdravim ispitanicima s medijanom praćenja od 5.6 godina pokazala je da rizik od razvoja opstruktivne plućne bolesti u budućnosti raste proporcionalno broju eozinofila u krvi, što ih čini potencijalno korisnim biomarkerom rizika (23).

Prema nekim studijama, učinak kortikosteroidne terapije na FEV₁ i brzinu deterioracije plućne funkcije bio je pozitivno povezan s razinom eozinofila u krvi (16,18), dok u drugim studijama ta povezanost nije uočena (16). Pобољшanje rezultata na SGRQ (*St. George's Respiratory Questionnaire*) upitniku, odnosno poboljšanje simptoma i kvalitete života, kao odgovor na terapiju ICS-om također korelira s većim brojem eozinofila u krvi (18). Nije pronađena povezanost učinka terapije dugodjelujućim bronhodilatatorima s eozinofilima (16). Neovisno o terapiji, broj eozinofila u krvi ≥ 200 stanica/µL bio je povezan s nižim postotkom FEV₁ od predviđenog i prije i nakon bronhodilatacije te težim simptomima prema SGRQ upitniku (19), a broj ≥ 300 stanica/µL s bržom progresijom pada FEV₁ te izraženijim patološkim promjenama

na CT-u pluća (24). Broj eozinofila < 100 stanica/ μL neovisan je čimbenik rizika za razvoj pneumonije (HR 1.975), a taj rizik još je veći (HR 2.925) kod onih koji uz to imaju i kroničnu bronhalnu infekciju te primaju ICS. S obzirom na nezanemarivu prevalenciju kronične bronhalne infekcije u bolesnika s KOPB-om (22.4%), ova spoznaja predstavlja dodatan argument protiv primjene ICS-a u osoba s niskim eozinofilima (25).

Uočene su i neke korelacije KOPB parametara s relativnim brojem eozinofila u uzorku iskašljaja, a koje nisu pronađene proučavajući eozinofile u krvi. Kod bolesnika s brojem eozinofila u iskašljaju $\geq 1.25\%$ prisutni su izraženiji znakovi emfizema na kvantitativnom CT-u te veća učestalost viših GOLD stadija (19). Hastie i sur. (19) ustanovili su da je broj eozinofila u iskašljaju $\geq 1.25\%$ pokazatelj povećanog rizika od budućih egzacerbacija u općoj populaciji KOPB bolesnika svih GOLD stadija, što ga čini pouzdanijim biomarkerom od eozinofila u krvi. Međutim, inducirani sputum kompliciranija je metoda te ju je otežano, a ponekad i nemoguće, provesti kod težih bolesnika. Postoji pozitivna, statistički značajna korelacija između eozinofila u krvi i iskašljaju, ali ju prati vrlo visok udio lažno pozitivnih rezultata od čak 72-74%. Stoga broj eozinofila u krvi nije pouzdan biomarker za procjenu eozinofila u iskašljaju (19).

3.1.4. Određivanje granične vrijednosti

Jedan od problema koji ostaju nedovoljno definirani jest pitanje granične vrijednosti (*cutoff value*). Određivanje precizne granice otežano je velikom varijabilnošću opaženih srednjih vrijednosti i raspona „normalnog“ među različitim studijama. U većini studija medijan broja eozinofila u krvi bolesnika s KOPB-om iznosio je između 150 i 200 stanica/ μL , slično kao u općoj populaciji (26). Neke od najčešće korištenih graničnih vrijednosti u dosadašnjim istraživanjima iznosile su, izražene kao relativni broj eozinofila u krvi, 2% (16,17) i 3.3% (17) te, izražene kao apsolutni broj eozinofila, 100 (25), 150 (16), 200, 300 (19) i 340 (17) stanica/ μL . Najčešće granične vrijednosti za relativni broj eozinofila u iskašljaju iznosile su 1.25% i 2% (19). Prema istraživanju Pascoe i sur., kako navode Brusselle i sur. (16), smanjenje učestalosti umjerenih do teških egzacerbacija nakon terapije ICS-om s bronhodilatatorima iznosilo je 10% kod bolesnika s brojem eozinofila u krvi $< 2\%$, 24% kod broja eozinofila 2-4%, 32% kod broja eozinofila 4-6% te čak 42% kod broja eozinofila $\geq 6\%$. Ovakvi rezultati ukazuju na to da je vrijednost eozinofila kao biomarkera veća ako se njihov broj promatra kao kontinuirana varijabla, umjesto postavljanja jedne određene granične vrijednosti (16,20,26).

3.2. Biomarkeri iz krvi

KOPB je bolest koja uz respiratornu ima i sistemska komponentu. Zato se u krvi bolesnika obično mogu naći promijenjene koncentracije niza proteina, molekula i stanica koje upućuju na upalno zbivanje ili su posljedica tkivnog oštećenja u plućima. Krv i krvna plazma lako su i brzo dostupni uzorci te bi identifikacija pouzdanih biomarkera koji se iz njih mogu izolirati bila od velike praktične koristi (27).

3.2.1. Biomarkeri za kliničke ishode

Jedni od najznačajnijih biomarkera koji se mogu izolirati iz krvi su eozinofili, a njihova je uloga detaljno opisana u odlomku 3.1. Osim eozinofila, u upalu u KOPB-u uključene su i druge upalne stanice, posebno neutrofilne (12). Omjer broja neutrofila i limfocita te omjer broja trombocita i limfocita značajno su veći u bolesnika s KOPB-om nego u zdravih ljudi, a još su više povećani u egzacerbacijama te njihova visina korelira s težinom egzacerbacije. Ta dva omjera također pozitivno koreliraju s pušačkim statusom, dispnejom i GOLD stadijem (28). Više razine ukupnih leukocita povezane su s većim rizikom od ranije smrti (HR 2.07) (29).

Fibrinogen je reaktant akutne faze temeljito istraživao kao biomarker u KOPB-u. Mannino i sur. (5) utvrdili su da je koncentracija fibrinogena ≥ 350 mg/dL povezana s većim rizikom od teških egzacerbacija (HR 1.64), čak i u bolesnika bez prethodnih egzacerbacija, te sa skoro dva puta većim mortalitetom u naredne tri godine (HR 1.94). Razina fibrinogena pozitivno korelira s GOLD stadijem, mMRC i CAT skorom te BODE (*body-mass index, airflow obstruction, dyspnea, exercise capacity*), ADO (*age, dyspnea, and airflow obstruction*) i DOSE (*dyspnea, obstruction, smoking, exacerbation*) indeksima, a negativno s FEV₁, FVC i rezultatom šest-minutnog testa hoda (6MWT) (30). Američka agencija za hranu i lijekove (FDA) je 2016. godine, a zatim i Europska agencija za lijekove (EMA) 2017. godine, odobrila korištenje fibrinogena kao biomarkera za selekciju ispitanika s većim rizikom od egzacerbacija i smrti u kliničkim istraživanjima. To ga čini prvim odobrenim biomarkerom za KOPB u SAD-u (31,32).

C-reaktivni protein (CRP) upalni je parametar čije se povišene vrijednosti u KOPB-u povezuju s većim rizikom od preuranjene smrti (HR 1.17), a povezane su i s egzacerbacijama i hospitalizacijom (29). Razina CRP-a korelira s FEV₁ i omjerom FEV₁/FVC (33). U serumu bolesnika s KOPB-om nađene su povišene razine nekih proupalnih citokina, poput interleukina

6 (IL-6), interleukina 8 (IL-8) i čimbenika tumorske nekroze alfa (TNF- α) (34). Povišena razina IL-6 povezuje se s hospitalizacijom uslijed egzacerbacije (29).

Club cell protein (CC16) luči se prvenstveno u malim dišnim putevima i ima zaštitnu, protuupalnu ulogu. CC16 s respiratorne sluznice difundira u krv pa se, osim u sputumu i bronhoalveolarnom lavatu, može mjeriti i u serumu. U ECLIPSE (*Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate End-points study*) kohorti bolesnika s KOPB-om uočene su niže razine CC16 u serumu bolesnika u odnosu na zdrave pušače (35). Snižena koncentracija CC16 povezana je s vrijednostima FEV₁ i FEV₁/FVC, kao i s brzinom progresije sniženja tih vrijednosti (33,35). Razina CC16 je također prediktivni pokazatelj mortaliteta (33). Kemokinski ligand CCL18 povezan je s većim rizikom od hospitalizacije i smrti zbog kardiovaskularnog uzroka (36). Ravnoteža adipokina (leptina i adiponektina) poremećena je u bolesnika s KOPB-om, a povišena koncentracija adiponektina korelira s težinom emfizema (27,36).

Transmembranski receptor za krajnje produkte napredne glikacije (RAGE) izražen je na pneumocitima tipa 1 te nakon aktivacije ligandom potiče sintezu proupalnih citokina. Topljivi oblik RAGE receptora (sRAGE) nalazi se slobodan u izvanstaničnoj tekućini i veže se za RAGE ligande, onemogućujući tako aktivaciju receptora i pokretanje upale. Snižena koncentracija sRAGE u serumu jedan je od biomarkera najbolje povezanih s težinom emfizema (35,37). Nađena je i korelacija sRAGE sa stupnjem bronhoopstrukcije, odnosno s vrijednostima FEV₁ i FEV₁/FVC (33). Koncentracija surfaktantskog proteina D (SP-D) u serumu povezana je s vrijednosti FEV₁, emfizemom i mortalitetom te slabo povezana s egzacerbacijama, a smanjuje se u odgovoru na kortikosteroidnu terapiju (33,36). Snižena razina vitamina D u krvi korelira s težinom emfizema, FEV₁, odgovorom na bronhodilatatore, rezultatom 6MWT i koncentracijom CC16 (27).

U patogenezi KOPB-a oksidativni stres igra važnu ulogu pa se tako u krvi bolesnika tijekom egzacerbacije mogu naći povišene razine markera oksidativnog stresa, poput malondialdehida (MDA), te smanjene razine antioksidansa, poput glutaciona, glutation-peroksidaze, superoksid-dismutaze te vitamina A i E (34). U KOPB-u je poremećena i ravnoteža proteaza i antiproteaza. Ta neravnoteža uzrokuje pojačanu razgradnju i remodeliranje izvanstaničnog matriksa, što dovodi do nastanka emfizema i bolesti malih dišnih puteva. Povišene razine inhibitora aktivatora plazminogena (PAI-1) i matriksnih metaloproteinaza (MMP), prije svega MMP-9,

nađene su u serumu bolesnika s KOPB-om. Razina MMP-9 pritom korelira s rizikom od egzacerbacije, GOLD stadijem i emfizemom (35).

Jedna meta-analiza je pokazala da su snižene razine albumina i mokraćne kiseline u krvi pokazatelji rizika za razvoj respiratorne insuficijencije tipa 2 tijekom akutne egzacerbacije KOPB-a (38). Omjer koncentracija kreatinina i cistatina C u serumu može poslužiti kao pokazatelj sarkopenije, čestog komorbiditeta povezanog s lošijom prognozom. Osim sa sarkopenijom, omjer kreatinin/cistatin C značajno je povezan i s mMRC i CAT skorom, postotkom predviđenog FEV₁ i učestalošću teških egzacerbacija (39). Leitaio Filho i sur. (40) ustanovili su da skoro jedna petina (18.8%) bolesnika s KOPB-om ima deficijenciju barem jedne podklase IgG protutijela. Deficijencija IgG1 ili IgG2 podklase povezana je s većim rizikom od egzacerbacije i hospitalizacije u umjerenom do teškom KOPB-u (40).

Uz sve navedene biomarkere, istraživane su povezanosti još brojnih drugih molekula s kliničkim i prognostičkim parametrima KOPB-a. Ipak, za većinu istraživanih biomarkera dosad prikupljeni dokazi su slabi, nedovoljno replicirani, a ponekad čak i kontradiktorni među različitim studijama (4).

3.2.2. Paneli biomarkera

Većina biomarkera nije polučila snažne i pouzdane rezultate kada ih se promatralo izolirano. Međutim, mnoge studije testirale su učinak kombinacija raznih biomarkera te se njihova prediktivna vrijednost u većini slučajeva pokazala statistički značajnijom.

Panel koji obuhvaća glavne pokazatelje upale – broj leukocita, fibrinogen i CRP, povezan je s nekoliko puta većim rizikom od egzacerbacija (OR 3.7) kada su sva tri markera povišena, čak i u bolesnika bez prethodno učestalih egzacerbacija. Kada se taj panel proširi da obuhvati još i citokine IL-6, IL-8 i TNF- α , on uz rizik od egzacerbacija predviđa i rizik od povećanog mortaliteta (27). Kombinacija broja leukocita, fibrinogena, CRP-a i IL-6 može prepoznati bolesnike s trajno aktivnom upalom, za koje se pokazalo da imaju čak šest puta veći mortalitet kroz tri godine praćenja od onih koji su trajno bez upale (36). Kombinacija povećanog broja neutrofila, CRP-a i dispneje može se s velikom pouzdanošću koristiti za postavljanje dijagnoze akutne egzacerbacije KOPB-a (AUC 0.97) (41).

Zemans i sur. (33) testirali su panel biomarkera CRP-a, CC16, SP-D, sRAGE i fibrinogena. Utvrdili su da je kombinacija svih petero bolje povezana s vrijednostima i progresijom pada

FEV₁ nego bilo koji od tih markera pojedinačno. Najbolji model za procjenu težine emfizema bila je kombinacija CRP-a, SP-D, sRAGE i fibrinogena, dok je kombinacija CRP-a i sRAGE najbolje korelirala s učestalošću egzacerbacija u protekloj godini. Kombinacija CRP-a, SP-D i fibrinogena bila je značajno povezana s mortalitetom (33).

3.2.3. Biomarkeri za terapijske strategije

C-reaktivni protein (CRP) i prokalcitonin istraživani su kao potencijalni terapijski biomarkeri za selekciju bolesnika kojima je potrebna antibiotska terapija tijekom akutnih egzacerbacija. Bakterijske respiratorne infekcije čest su uzrok egzacerbacija u KOPB-u, prisutan u nešto manje od 50% slučajeva. Međutim, učestalost propisivanja antibiotika daleko nadmašuje taj broj te se ono primjenjuje u oko tri četvrtine ambulantno te gotovo svih hospitalno liječenih pacijenata (42). Identifikacija biomarkera koji ukazuju na bakterijsku etiologiju bila bi od velikog značaja za racionalniju primjenu antibiotika te time smanjenje bakterijske rezistencije, nuspojava i troškova liječenja. CRP i prokalcitonin, dva reaktanta akutne faze čije su razine često više u bakterijskim nego u nebakterijskim infekcijama (43), mogli bi predstavljati takve biomarkere.

Rezultati različitih studija su kontradiktorni pa tako neke pokazuju značajnu povezanost koncentracija CRP-a i prokalcitonina s bakterijskom etiologijom egzacerbacije, dok druge tu povezanost ne nalaze ili ona u njima nije statistički značajna (42). Meta-analiza provedena od strane Hoult i sur. (42) pokazala je da su razine CRP-a kod bakterijskih egzacerbacija u prosjeku za 29.44 mg/L veće nego kod nebakterijskih, premda je varijabilnost rezultata između studija bila izrazito velika. Ipak, većina studija govori u prilog takvoj povezanosti (42). Prins i sur. (44) testirali su terapijsku strategiju prema kojoj su bolesnici hospitalizirani zbog egzacerbacije primali antibiotike samo ako im je vrijednost CRP-a, pri prijemu ili 24 sata nakon hospitalizacije, iznosila ≥ 50 mg/L. Kontrolna skupina primala je antibiotsku terapiju u skladu s GOLD smjernicama, temeljenim na karakteristikama iskašljaja. U eksperimentalnoj skupini primjena antibiotika bila je 31.4% manja u odnosu na kontrolnu skupinu, bez značajne razlike u duljini hospitalizacije te nuspojavama, terapijskim ishodima, broju egzacerbacija i mortalitetu unutar godine dana od otpusta iz bolnice (44).

Koncentracije prokalcitonina u prosjeku su za 0.76 ng/mL više tijekom bakterijskih egzacerbacija, također uz veliku varijabilnost između studija (42). Međutim, Daubin i sur. (45) u svojoj su studiji došli do zaključka da terapijska strategija propisivanja antibiotika vođena

prokalcitoninom kod pacijenata s teškom egzacerbacijom rezultira većom smrtnošću, bez smanjenja ukupne potrošnje antibiotika. Rezultati istraživanja još uvijek su previše kontradiktorni da bi se izveo jedinstveni zaključak i preporučila primjena prokalcitonina kao biomarkera u kliničkoj praksi, no daljnja istraživanja se preporučuju (14).

3.3. Fiziološki biomarkeri

3.3.1. Forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi

Forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi (FEV_1) označava volumen zraka koji ispitanik uspije izdahnuti u prvoj sekundi forsiranog izdisaja tijekom spirometrije. FEV_1 je jedan od glavnih dijagnostičkih biomarkera u KOPB-u te čini zlatni standard za procjenu težine bronhopneumonije. Postbronhodilatacijski omjer $FEV_1/FVC < 70\%$ nužan je za postavljanje dijagnoze, a postotak predviđenog FEV_1 koristi se za određivanje GOLD stadija (14).

Viši GOLD stadij, odnosno niži postotak predviđenog FEV_1 , povezuje se s većim mortalitetom, težom kliničkom slikom, smanjenim kapacitetom za fizičku aktivnost, većom učestalošću teških egzacerbacija te lošijim ishodom egzacerbacija (14,46–49).

FEV_1 je sastavni dio BODE indeksa koji se rutinski koristi u kliničkoj praksi za procjenu rizika od smrti u bolesnika s KOPB-om. Kombinacijom FEV_1 s drugim čimbenicima BODE indeksa povećava se prognostička snaga (14,49). Iako pouzdano procjenjuje razinu opstrukcije dišnih puteva, FEV_1 relativno slabo korelira sa simptomima i ukupnom težinom bolesti te se stoga ne koristi kao kriterij za određivanje GOLD „ABE“ grupe (14,47).

3.3.2. Difuzijski kapacitet pluća

Difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid (DL_{CO}) je mjera učinkovitosti prijenosa (difuzije) kisika i ugljikovog dioksida između pluća i krvi kroz alveolokapilarnu membranu. Niži DL_{CO} povezuje se s većim morbiditetom i mortalitetom u KOPB-u, a standardno se izražava kao postotak predviđene vrijednosti. Unatoč porastu broja istraživanja koja pokazuju njegovu prognostičku vrijednost, DL_{CO} još uvijek nije uvršten u GOLD-ove prognostičke modele (50).

Postotak predviđenog DL_{CO} pozitivno korelira s postotkom predviđenog FEV_1 . Srednja razlika u DL_{CO} između bolesnika 1. i 2. GOLD stadija u odnosu na bolesnike 3. i 4. stadija, dobivena

iz različitih studija, iznosi 22.02% (95% CI 18.10%-25.93%, $p < 0.00001$) (51). Niži DL_{CO} povezan je s većim postotkom emfizema na CT-u pluća (korelacijski koeficijent -0.6 , $p < 0.001$) (48,51), kao i s plućnom hipertenzijom (51).

Postotak predviđenog DL_{CO} pokazao se značajno povezanim s morbiditetom u KOPB-u i neovisno o FEV_1 i proširenosti emfizema. Balasubramanian i sur. (48) su, proučavajući 1806 bolesnika iz COPDGene (*COPD Genetic Epidemiology study*) kohorte, ustanovili da je DL_{CO} neovisno povezan s težom kliničkom slikom i jače limitirajućim simptomima na CAT, SGRQ i SF-36 (upitnik zdravstvenog statusa) ljestvicama. Postotak predviđenog DL_{CO} pokazao se za 16.54% višim u GOLD grupama A i C (grupama s manje simptoma) nego u grupama B i D (grupama s više simptoma) (51). Sniženi DL_{CO} je također pokazatelj smanjene sposobnosti za fizičku aktivnost. Balasubramanian i sur. (48) su izračunali da se udaljenost koju bolesnik uspije prehodati u 6 minuta (6MWT) smanji za 13.82 metra pri svakom smanjenju postotka predviđenog DL_{CO} za 10%. Tijekom fizičke aktivnosti, bolesnici s manjim DL_{CO} imaju izraženiju zaduhu, manju saturaciju krvi kisikom (SpO_2) te veći ventilacijski ekvivalent ugljikova dioksida (\dot{V}_E/\dot{V}_{CO_2}), odnosno manju ventilacijsku učinkovitost (52).

Bolesnici s vrijednostima $DL_{CO} \leq 50\%$ predviđenih imaju i veću učestalost teških egzacerbacija, a ona je još veća ako je istovremeno prisutna izrazita bronhoopstrukcija s $FEV_1 \leq 50\%$ predviđenog (48). Postotak predviđenog DL_{CO} značajno je niži u osoba s egzacerbacijskim fenotipom bolesti u odnosu na one bez egzacerbacija te je to niži, što su egzacerbacije češće (51). Međutim, pronađene povezanosti odnose se na učestalost prošlih egzacerbacija te za sada ostaje neistražena sposobnost DL_{CO} da predvidi rizik od budućih (48). U bolesnika hospitaliziranih zbog teške egzacerbacije, niži postotak predviđenog DL_{CO} neovisno predviđa dulje trajanje hospitalizacije, češću potrebu za mehaničkom ventilacijom, češće zaprimanje u jedinicu intenzivnog liječenja te veći mortalitet, i to sve statistički značajnije nego postotak predviđenog FEV_1 (47).

Osim za veći morbiditet, DL_{CO} je prognostički marker i za mortalitet u bolesnika s KOPB-om. U nedavnom istraživanju bolesnika iz COPDGene kohorte pokazalo se da se mortalitet povećava za čak 28% za svakih 10% pada postotka predviđenog DL_{CO} (HR 1.28, 95% CI 1.17-1.41, $p < 0.001$) (50). Pritom je prediktivna vrijednost DL_{CO} bila neovisna o vrijednosti FEV_1 , postotku emfizema i BODE indeksu, te veća od individualne prediktivne vrijednosti FEV_1 . Statistički najveću vrijednost imala je kombinacija DL_{CO} i BODE indeksa. Također, bolesnici

s nižim DL_{CO} češće su umirali zbog respiratornih uzroka nego oni s višim DL_{CO} (50). Povezanost DL_{CO} i mortaliteta pronađena je i u drugim studijama (51,53).

U većini dosadašnjih istraživanja DL_{CO} se pokazao vrijednim prognostičkim biomarkerom neovisno o težini bronhoopstrukcije i emfizema. Difuzijski kapacitet pluća ovisi o brojnim faktorima, poput alveolarne površine i gustoće plućne vaskularizacije, te može biti narušen i pri urednim vrijednostima FEV₁ (54). Stoga bi trebalo razmotriti njegovo uvrštenje u rutinske prognostičke modele (50).

3.3.3. Ostali fiziološki biomarkeri

Maksimalni protok srednjeg izdisaja (MMEF) spirometrijska je mjera koja se očitava iz krivulje protok-volumen, a ukazuje na funkciju malih dišnih puteva. S obzirom na to da se bolest malih dišnih puteva u KOPB-u često razvija prije pojave patoloških vrijednosti FEV₁ i FEV₁/FVC, MMEF bi mogao poslužiti kao rani pokazatelj bolesti i prije nego što se zadovolje službeni dijagnostički kriteriji. Stockley i sur. su pokazali da postotak predviđenog MMEF predviđa progresiju pada FEV₁ i rizik od razvoja bolesti u osoba s A1AT deficijencijom (55).

Impedancija dišnog sustava mjera je plućne funkcije dobivena tehnikom forsirane oscilometrije, a sastoji se od dvije komponente: respiratornog otpora (odražava stvarni otpor u dišnim putevima) i respiratorne reaktanse (uvjetovana je plućnom popustljivošću i viskoelastičnim svojstvima) (56). S obzirom na to da je oscilometrija jednostavna, neinvazivna tehnika koja ne zahtijeva izvođenje forsiranog izdisaja, ona je pogodna za starije bolesnike i bolesnike kod kojih je spirometrija kontraindicirana ili ju je teško izvesti (56). Mjere respiratorne impedancije dobro koreliraju s GOLD stadijima, a jednako su osjetljive kao spirometrijski parametri u procjeni odgovora na bronhodilatatore (56,57). Respiratorna impedancija, prvenstveno respiratorna reaktansa, također je povezana s incidencijom egzacerbacija u blagom i umjereno teškom KOPB-u (57).

Živčani respiratorni pogon (engl. *neural respiratory drive*) procjenjuje se indirektno elektromiografijom dijafragme ili parasternalnih mišića te odražava mehaničko opterećenje dišne muskulature. U KOPB-u je, zbog hiperinflacije pluća i poremećenih mehaničkih odnosa, živčani respiratorni pogon obično povećan, a učinkovitost ventilacije smanjena (58). Nalaz elektromiografije parasternalne muskulature dobar je prediktor kliničkog tijeka, oporavka i dugoročnog mortaliteta nakon teške egzacerbacije (59). Novija mjera – učinkovitost živčanog

respiratornog pogona, uzima u obzir i minutnu ventilaciju uz elektromiogram dijafragme. Pokazalo se da ona bolje procjenjuje odgovor bolesnika na bronhodilatatore nego sam elektromiogram, a i bolje nego klasični spirometrijski parametri poput FEV₁ i FVC (58).

Još jedan od obećavajućih terapijskih biomarkera je i vršni inspiratorni protok zraka (PIF), odnosno maksimalni protok zraka koji ispitanik može ostvariti pri forsiranom udisaju. Naime, za pravilnu primjenu i terapijsku učinkovitost inhalatora sa suhim prahom (engl. *dry powder inhaler*) potrebno je da bolesnik dovoljno snažno udahne i time generira protok zraka iznad određenog praga, što kod dijela bolesnika s KOPB-om i narušenim plućnim funkcijama nije moguće. Mjerenje PIF-a prije propisivanja inhalatora sa suhim prahom može pomoći u detekciji bolesnika koji od njega neće imati terapijske koristi (60).

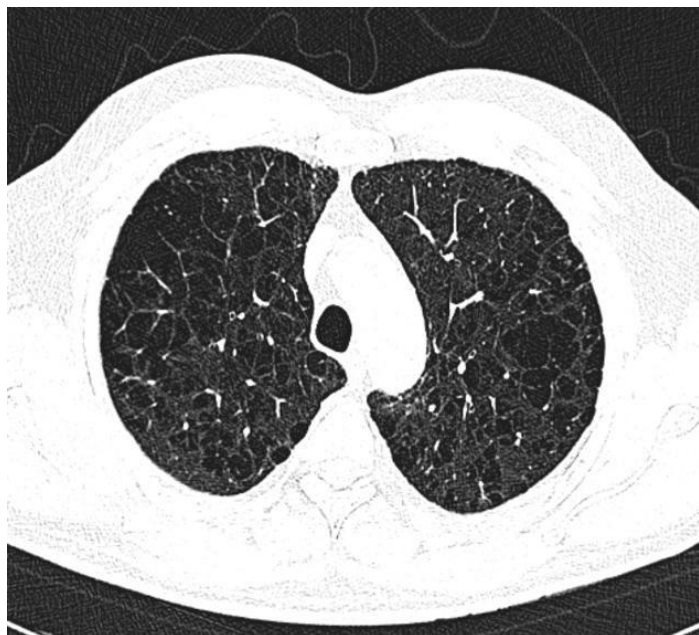
3.4. Slikovne metode

Radiološka dijagnostika neizostavan je dio kliničke evaluacije bolesnika s KOPB-om. Prva slikovna pretraga koja se obično izvodi u bolesnika s respiratornim simptomima i sumnjom na KOPB je rendgen pluća. U ranim stadijima bolesti glavna uloga rendgena jest isključenje diferencijalnih dijagnoza i evaluacija eventualnih komorbiditeta (14). Znakovi emfizema, poput pojačane prozračnosti, proširenja interkostalnih prostora i izravnavanja dijafragme, vidljivi su na rendgenogramu pluća tek u kasnijim stadijima (61).

Najpreciznija i najčešće korištena radiološka metoda u KOPB-u je kompjuterizirana tomografija (CT) pluća. Za razliku od rendgena, promjene na CT-u mogu se uočiti puno ranije, ponekad i prije nego što nastupe abnormalnosti u spirometrijskim nalazima. KOPB je izrazito heterogena bolest, a CT je jedna od glavnih metoda za otkrivanje podležećeg patološkog procesa te se zato koristi ne samo za procjenu težine bolesti, nego i za razaznavanje specifičnih fenotipova (61). Washko i Parraga (62) definirali su pojam „*precision imaging*“ koji predstavlja kombinaciju personalizirane medicine i radiološke dijagnostike s ciljem prilagođavanja terapije individualnog bolesnika njegovom radiološki definiranom fenotipu.

Emfizem se na CT-u prepoznaje kao područja hipodenziteta, a ona mogu biti fokalna s mrljastom raspodjelom (centrilobularni emfizem), smještena periferno uz pleuru (paraseptalni emfizem) ili difuzna (panlobularni emfizem) (61). Razmjer emfizema može se objektivno odrediti iz kvantitativnog CT-a računanjem udjela voksela ≤ -950 HU ili udjela voksela vrijednosti HU manjih od 15. percentile (63). Prisutnost i težina emfizema važan su

prognostički čimbenik. Primjerice, centrilobularni emfizem neovisan je indikator mortaliteta i povećanog rizika za rak pluća (61).



Slika 3: CT snimka centrilobularnog emfizema. Preuzeto iz: Radiopaedia.org, 2014. (64)

Drugi važan fenotip koji se može prepoznati na CT-u je kronični bronhitis. Njegova glavna radiološki vidljiva karakteristika je zadebljanje bronhalne stijenke. Uz to se ponekad mogu uočiti i čepovi sluzi u bronhima, čiji se nalaz povezuje s češćim egzacerbacijama i lošijom kvalitetom života (61). Istraživanje na bolesnicima iz COPDGene kohorte pokazalo je da su i raširenost emfizema i debljina bronhalne stijenke povezani s učestalošću egzacerbacija neovisno o spirometrijskom nalazu (65).

Velika vrijednost CT-a počiva i u detekciji komorbiditeta, koji su često prisutni te mogu značajno utjecati na prognozu i tijek bolesti. Omjer promjera plućne arterije i uzlazne aorte >1 ukazuje na postojanje plućne hipertenzije. Ova mjera, kao inicijalni pokazatelj prije invazivne dijagnostike, dobra je alternativa transtorakalnom ultrazvuku, koji je često otežan uslijed hiperinflacije pluća (61). U 20-60% bolesnika s KOPB-om prisutne su bronhiektazije. One se na CT-u prikazuju kao proširenja bronha sa zadebljanjem stijenke, a uzrokuju pogoršanje simptoma u vidu pojačanog iskašljaja, pogoršanje bronhoopstrukcije, češće egzacerbacije, češću kolonizaciju dišnih puteva patogenim mikroorganizmima te povećanje ukupnog

mortaliteta (61). Redovite CT snimke imaju važnu ulogu i u ranom otkrivanju karcinoma pluća, za koji je ova skupina bolesnika posebno rizična. Od ekstrapulmonalnih komorbiditeta koji se mogu otkriti CT-om, česti su zatajenje srca, osteoporoza i prijelomi kralježaka te sarkopenija (61). Mjerenjem stupnja kalcifikacije koronarnih arterija može se utvrditi postojanje koronarne arterijske bolesti, izrazito čestog komorbiditeta koji čak dvostruko povećava mortalitet u bolesnika s KOPB-om (27).

Naposljetku, CT pluća ima nezamjenjivu ulogu u evaluaciji i odabiru kandidata za invazivne terapijske intervencije, poput bulektomije, bronhoskopske i kirurške redukcije plućnog volumena te transplantacije pluća (63).

Novija slikovna metoda koja predstavlja potencijalni biomarker je magnetska rezonancija (MR) pluća. Njena glavna prednost je u tome što omogućuje dinamičko, funkcionalno snimanje uz istodobno izbjegavanje zračenja. Inhalacija hiperpolariziranog helija (^3He) ili ksenona (^{129}Xe) kao kontrastnog sredstva omogućuje procjenu ventilacije, a intravenskom primjenom gadolinijeva kontrasta moguće je vizualizirati plućnu vaskularizaciju (62). MR uz korištenje hiperpolariziranog helija može uočiti poboljšanje ventilacije nakon terapije bronhodilatatorima, a pokazalo se da bolje predviđa egzacerbacijski rizik od CT-a i spirometrije u bolesnika s blagim do umjerenim KOPB-om bez povijesti egzacerbacija (63).

Obećavajuće nove metode, poput parametrijskog mapiranja odgovora (engl. *parametric response mapping*) i strojnog učenja, imaju potencijal da još više doprinesu preciznijoj fenotipizaciji bolesnika s ovom heterogenom bolešću te su trenutno u fazi razvoja (63).

3.5. Iskašljaj i bronhoalveolarna lavaža

Prikupljanje uzorka iskašljaja (ili sputuma) jednostavna je i neinvazivna metoda lako primjenjiva u kliničkoj praksi. Mnogi bolesnici s KOPB-om imaju svakodnevno dovoljno sputuma za mikrobiološku i citološku dijagnostiku, a kod onih koji ga ne mogu producirati samostalno isti se može potaknuti indukcijom sputuma inhalacijom nebulizirane hipertonične otopine natrijeva klorida (NaCl) što nazivamo inducirani sputum (27).

U bolesnika koji iskašljavaju prisutna je hipersekrecija sluzi (mukusa). Sastavna komponenta mukusa su glikoproteini mucini, a njihova ukupna koncentracija u iskašljaju pozitivno korelira s težinom bolesti i učestalošću egzacerbacija (66). Radicioni i sur. (66) istražili su povezanost koncentracije dvaju glavnih mucina, mucina 5AC (MUC5AC) i mucina 5B (MUC5B), s

kliničkim ishodima u KOPB-u. MUC5B dominantni je mucin u zdravih osoba i odgovoran je za mukocilijarnu funkciju, dok se MUC5AC nalazi u puno manjoj količini i izlučuje se u odgovoru na okolišne i upalne stimulanse. U ovoj studiji, srednja koncentracija MUC5AC u iskašljaju bolesnika s KOPB-om bila je čak 6 puta veća u odnosu na zdrave nepušače. Veća koncentracija MUC5AC bila je povezana s nižim FEV₁, nižim FEV₁/FVC, hiperinflacijom pluća, češćim egzacerbacijama i češćom hospitalizacijom zbog egzacerbacije, višim rezultatima u CAT i SGRQ upitnicima te s duljinom pušačkog statusa. MUC5AC kao biomarker ima i potencijal prepoznati osobe s povećanim rizikom od razvoja KOPB-a jer koncentracija MUC5AC mjerena u zdravih pušača ili na početku bolesti statistički značajno predviđa brzinu pada FEV₁ i progresije simptoma. Zanimljivo je da su koncentracije MUC5AC bile značajno niže kod bivših nego kod trenutnih pušača, ukazujući na protektivnu ulogu prestanka pušenja u prevenciji razvoja i progresije bolesti. Koncentracija MUC5B također je povišena u KOPB-u u odnosu na zdravu populaciju, ali ta razlika nije toliko značajna kao kod MUC5AC te koncentracije MUC5B puno slabije koreliraju ili uopće ne koreliraju s navedenim ishodima. Uočen je i značajno povišeni omjer MUC5AC/MUC5B, a veći omjer bio je povezan s češćim egzacerbacijama, višim CAT i SGRQ rezultatima te pušačkim statusom. I koncentracija MUC5AC i omjer koncentracija MUC5AC/MUC5B korelirali su pozitivno s brojem neutrofila u krvi i iskašljaju (66).

Esther i sur. (67) otkrili su u iskašljaju bolesnika s KOPB-om povišene razine šest metabolita: sijalinske kiseline, hipoksantina, ksantina, metiltioadenozina, adenina i glutationa, s višim razinama u težim stadijima bolesti. Ovi biomarkeri ukazuju na određene patogenetske procese, poput nedovoljne hidratacije mukusa i pojačanog oksidativnog stresa. Koncentracije sijalinske kiseline i hipoksantina značajno koreliraju s učestalošću i rizikom od egzacerbacija (67). Dasgupta i sur. (68) ustanovili su da je ukupna koncentracija proteina u iskašljaju veća u bolesnika s češćim egzacerbacijama, uz značajno odstupanje pojedinačnih koncentracija osam proteina: azurocidina 1, neutrofilnog defenzina 3, laktotransferina, kalmodulina 3, koronina 1A, MUC5B, MUC5AC i proteina BPIFB1 (*bactericidal/permeability-increasing (BPI)-fold-containing family B member 1*). Većina ovih proteina vezana je uz neutrofilnu funkciju (68). U iskašljaju bolesnika s egzacerbacijama prisutne su veće koncentracije proupalnih citokina, poput IL-6, IL-8 i TNF- α , a njihova razina negativno korelira s FEV₁. U iskašljaju bolesnika s KOPB-om nađene su i veće koncentracije MMP-8, MMP-9, MMP-12, neutrofilne elastaze te strukturnih komponenti izvanstaničnog matriksa (27,34). Povišena razina leukotriena B₄ mogući je pretkazatelj akutne egzacerbacije (69).

Mikrobiota dišnog sustava ima važnu protektivnu ulogu, a u bolesnika s KOPB-om često je promijenjena. Bakterijska disbioza zato predstavlja ne samo vjerojatni patogenetski čimbenik već i potencijalni biomarker. Raznolikost bakterijskih vrsta u uzorku iskašljaja smanjena je tijekom akutnih egzacerbacija te je povezana s lošijom prognozom nakon otpusta iz bolnice (70,71). Sekvenciranjem gena za 16S ribosomsku ribonukleinsku kiselinu (rRNK) u uzorcima iskašljaja, Su i sur. (70) otkrili su da obilje bakterija roda *Veillonella* (normalnog komenzala usne šupljine) pozitivno korelira s postotkom predviđenog FEV₁ te s omjerom FEV₁/FVC, a obilje rodova *Haemophilus* i *Prevotella* negativno korelira s razinom dispneje prema mMRC skali. Leitao Filho i sur. (71) istom su metodom analizirali uzorke iskašljaja bolesnika hospitaliziranih zbog egzacerbacije. Utvrdili su da odsutnost roda *Veillonella* u iskašljaju povećava rizik od mortaliteta unutar godine dana od otpusta iz bolnice 13 puta, prisutnost roda *Staphylococcus* 7 puta, a oba čimbenika u kombinaciji čak 85 puta. Oba čimbenika također se povezuju s duljim trajanjem hospitalizacije te ranijim nastupom smrti (71).

Uz molekularno i mikrobiološko profiliranje, iskašljaj može pružiti korisne informacije i putem analize upalnih stanica koje su u njemu prisutne. Broj neutrofila u iskašljaju povećava se proporcionalno GOLD stadiju (27), a prognostička uloga eozinofila u iskašljaju opisana je u odlomku 3.1.3.

Bronhoalveolarna lavaža minimalno je invazivni postupak kojim se prikuplja uzorak iz alveola, tzv. bronhoalveolarni lavat (BAL). Iako ga je zbog invazivnog načina uzorkovanja kompliciranije dobiti, BAL ima prednost u tome što je prikupljen direktno s mjesta na kojem se odvija glavna patologija KOPB-a – donjih dišnih puteva. Jedan od najnovije istraživanih biomarkera u uzorcima BAL-a su ekstracelularne vezikule, koje su detaljnije opisane u odlomku 3.7. Razni biomarkeri, poput receptora epidermalnog čimbenika rasta (EGFR), humanog serumskog albumina (HSA) i alfa-1-antitripsina (A1AT), nađeni su u smanjenim koncentracijama u BAL-u bolesnika s KOPB-om, dok su neki drugi, poput kalprotektina, IL-8, mijeloperoksidaze i različitih proteaza, nađeni u povećanim koncentracijama (34). Osim u krvi i iskašljaju, razina eozinofila može se odrediti i u BAL-u, koji je puno reprezentativniji za upalne procese u donjim dišnim putevima. Ho i sur. ustanovili su da je relativni broj eozinofila > 1% svih leukocita u BAL-u povezan s češćim egzacerbacijama (72).

3.6. Biomarkeri u izdahnutom zraku

Izdahnuti zrak jedan je od novijih uzoraka istraživanih u svrhu pronalaska novih biomarkera. On se pretežno sastoji od smjese izdahnutih plinova, vodene pare i malog postotka hlapljivih organskih spojeva (VOC) porijeklom iz alveolarne tekućine. Izdahnuti zrak kao uzorak ima brojne prednosti. On pruža informacije o procesima u donjem dijelu dišnog sustava, a za razliku od BAL-a postupak njegova prikupljanja je neinvazivan, brz i izrazito jednostavan (73).

Elektronički nos je prijenosni uređaj koji uz pomoć moderne tehnologije razaznaje plinovite smjese različitih sastava, bez identifikacije pojedinih molekula. On se stoga može koristiti za raspoznavanje različitih uzoraka VOC-eva, čije se koncentracije značajno razlikuju u zdravlju, različitim bolestima i podtipovima tih bolesti (27). Osim elektroničkog nosa, VOC u izdahnutom zraku mogu se analizirati i drugim metodama, kao što su plinska kromatografija s masenom spektrometrijom i drugi oblici masene spektrometrije, a neke od njih sposobne su identificirati vrste hlapljivih molekula u uzorku. Međutim, te su metode puno skuplje i kompliciranije te njihov potencijal počiva uglavnom u primjeni u istraživanjima, dok je analiza izdahnutog zraka elektroničkim nosom jeftina, jednostavna i pogodna za primjenu u svakodnevnom kliničkom radu (73).

VOC analizom u izdahnutom zraku moguće je razlikovati bolesnike s KOPB-om od zdravih ispitanika (73,74). Rodríguez-Aguilar i sur. (74) pokušali su utvrditi postoje li razlike u VOC uzorku bolesnika s obzirom na etiološki čimbenik te nisu pronašli razliku između KOPB-a uzrokovanog pušenjem i KOPB-a uzrokovanog unutrašnjim zagađenjem zraka. Međutim, VOC uzorak se razlikuje kod bolesnika s A1AT deficijencijom, a indikator je i odgovora na terapiju rekombinantnim A1AT (27). Na temelju razlika u VOC uzorku mogu se raspoznati i pojedini fenotipovi bolesti. VOC analizom mogu se razlikovati pušači od nepušača (73). Elektronički nos razlikuje bolesnike s različitim vrijednostima BODE indeksa i različitim rezultatom 6MWT te, bolje nego GOLD grupe, predviđa pogoršanje 6MWT unutar godine dana (75). Razlike u VOC uzorku postoje između egzacerbacije i stabilnog stanja (73), a analiza izdahnutog zraka pri hospitalizaciji zbog egzacerbacije predviđa rizik od rehospitalizacije u narednih 30 i 90 dana (76). Naposljetku, u raznim studijama analizom izdahnutog zraka nađeni su različiti VOC obrasci u bolesnika s karcinomom bronha od onih samo s KOPB-om te, premda još nije razvijen nijedan test koji bi se mogao koristiti u kliničkoj praksi, ovi rezultati djeluju obećavajuće i potiču daljnja istraživanja (73).

Od specifičnih biomarkera u izdahnutom zraku, najviše se izdvaja frakcija izdahnutog dušikovog oksida koja se prema nekim studijama povezuje s egzacerbacijama i učinkom terapije na FEV₁ (34), dok prema drugim studijama nema značajnih povezanosti s težinom bolesti (69).

Osim analize izdahnutog zraka u plinovitom stanju, moguće je provesti analizu kondenzata izdahnutog zraka (KIZ). Postoji niz uređaja koji prikupljaju izdahnuti zrak bolesnika tijekom mirnog disanja te ga uz pomoć spremnika za hlađenje pretvaraju u kondenzirane kapljice. Ovom metodom skupi se prosječno 1-3 mL uzorka kroz 10 minuta, a postupak sakupljanja u dosad provedenim studijama trajao je obično 10-30 minuta (77).

Kod pacijenata s KOPB-om pH vrijednost KIZ-a snižena je u odnosu na zdrave nepušače, što je također značajno povezano sa smanjenjem FEV₁. Međutim, nije nađena razlika u pH KIZ-a između bolesnika s KOPB-om i zdravih pušača. Niži pH KIZ-a u bivših pušača s KOPB-om, ali ne i trenutnih, povezan je s višim stadijem prema GOLD-u, većom hiperinflacijom pluća i nižim DL_{CO} (77). S druge strane, 8-izoprostan i leukotrien B₄ povišeni su u KOPB-u u odnosu i na zdrave pušače i na nepušače, a razina leukotriena B₄ pritom negativno korelira s DL_{CO}. Razlike u proteomu, prije svega razlike u koncentracijama upalnih i regulatornih citokina, također su uočene između KOPB-a i zdravih pušača i nepušača. U KIZ-u bolesnika s KOPB-om mogu se naći povišene razine markera oksidativnog stresa, poput vodikovog peroksida (H₂O₂) i MDA. Mnogi od ovih biomarkera promijenjeni su i tijekom akutnih egzacerbacija, uz povratak na normalu nakon primjene terapije (77).

Unatoč obećavajućim rezultatima, korištenje izdahnutog zraka kao biomarkera još je u fazi istraživanja i daleko od kliničke primjene. Većina dosadašnjih studija provedena je na malom uzorku ispitanika, a taj problem dodatno pogoršavaju manjak standardizacije u metodologiji i nepostojanje definiranih referentnih vrijednosti (73,77). Primjerice, nije jasno definirano treba li se za analizu koristiti miješani ili alveolarni (*end-tidal*) zrak, a nisu potpuno poznati ni učinci dobi, pušenja, lijekova, komorbiditeta i drugih potencijalnih čimbenika na koncentraciju različitih tvari u izdahnutom zraku. Mogući učinak tih čimbenika smanjuje pouzdanost elektroničkog nosa u dijagnostici bolesti (73). Ipak, jedan od glavnih problema kod KOPB-a upravo je veliki udio neprepoznatih i nedijagnosticiranih bolesnika. S obzirom na jednostavnost i nisku cijenu, analiza izdahnutog zraka mogla bi poslužiti kao odličan test brzog probira prije složenijih dijagnostičkih postupaka (74).

3.7. Ekstracelularne vezikule

Ekstracelularne vezikule (EV) otpuštaju se iz gotovo svih stanica u tijelu te imaju važnu ulogu u međustaničnoj komunikaciji. Mogu se izolirati iz različitih tjelesnih tekućina, uključujući krv, urin i BAL. Na temelju membranskih biljega može im se odrediti porijeklo te tako mogu pružiti korisne informacije u različitim bolestima (34,78). Broj mikrovezikula (EV veličine 100-1000 nm) porijeklom od alveolarnih makrofaga, mjereno u uzorku BAL-a, značajno je veći u pušača u odnosu na nepušače te u pušača s KOPB-om u odnosu na one zdrave. Taj broj također pozitivno korelira s duljinom pušačkog statusa, odnosno s brojem pušačkih godina (p/y, engl. *pack/years*), te negativno korelira s postotkom predviđenog FEV₁, neovisno o pušenju (78). EV s membranskim biljekom CD31 nalaze se u povećanoj količini u bolesnika s KOPB-om, a povezane su sa smanjenim DL_{CO} i FEV₁ te s emfizematoznim fenotipom. Broj CD62+ EV povišen je u bolesnika s težim stadijem bolesti, češćim egzacerbacijama i hiperinflacijom pluća. CD51+ EV također su brojnije u KOPB-u (34).

3.8. Genetički biomarkeri

Kao i u drugim multifaktorijalnim bolestima, geni i genska ekspresija imaju važnu ulogu u patogenezi KOPB-a. Varijanta KOPB-a u čijem nastanku genetički faktori igraju najveću ulogu jest ona uzrokovana deficijencijom enzima A1AT, a uzrokuje ju mutacija SERPINA1 (*serpin family A member 1*) gena (34). No i kod drugih oblika KOPB-a nađene su varijabilnosti genske ekspresije. Tako je ekspresija gena odgovornih za staničnu proliferaciju, angiogenezu, apoptozu i remodeliranje izvanstaničnog matriksa povećana, i to više u težim stadijima bolesti. S druge strane, geni s protuupalnom funkcijom manje su izraženi u bolesnih u odnosu na zdrave (27).

Pušenje, kao glavni rizični čimbenik za KOPB, dijelom je genetski uvjetovano, a niz genskih lokusa povezuje se s rizikom od razvoja bolesti u pušača (36). Ekspresija CHRNA3/5 (*cholinergic receptor nicotinic alpha 3/5*) gena povezana je s težinom bronhopneumonije i emfizema, a ekspresija HHIP (*hedgehog-interacting protein*) gena s omjerom FEV₁/FVC i egzacerbacijama (34,36). Gen BICD1 (*bicaudal D homolog 1*) također se povezuje s prisutnošću i težinom emfizema, a smanjeni izražaj HO-1 (*heme oxygenase 1*) povećava sklonost njegovom nastanku (34). Proučavajući markere genskog izražaja na uzorcima plućnog tkiva, uočeno je da postoje razlike između dijelova pluća zahvaćenih različitim patologijom. U područjima emfizema jače su izraženi geni odgovorni za tkivnu razgradnju, dok u

područjima s dominantnom opstrukcijom malih dišnih puteva prevladava utjecaj gena uključenih u proces tkivnog remodeliranja (27). Kod bolesnika s pojačanom ekspresijom T2 upalnog obrasca (upala posredovana eozinofilima) prisutan je veći stupanj opstrukcije dišnih puteva (19).

Genski polimorfizmi mogu se koristiti i kao prediktivni terapijski biomarkeri. Primjerice, polimorfizam gena *ADRB2* (*beta-2-adrenergic receptor*) određuje kakav će biti odgovor na liječenje dugodjelujućim bronhodilatatorima, a pretpostavlja se da bi rezistencija na kortikosteroide mogla biti posljedica smanjene ekspresije gena za fosfatazu (36).

3.9. Biomarkeri povezani sa starenjem pluća

Patološki procesi koji se odvijaju u KOPB-u uzrokuju ne samo direktno oštećenje već i ubrzano starenje tkiva i organa. Sve je više studija koje nastoje razjasniti mehanizme i prepoznati nove markere tog procesa starenja.

Telomere su sljedovi nukleotida na krajevima kromosoma čija se duljina smanjuje pri svakoj diobi stanice. Na temelju te duljine može se procijeniti biološka dob osobe, odnosno broj preostalih zdravih godina života. U leukocitima iz periferne krvi bolesnika s KOPB-om nađene su skraćene telomere u odnosu na telomere zdravih osoba iste dobi, a njihovo skraćenje umjereno korelira s plućnom funkcijom. Bolesnici sa skraćenim telomerama imaju veći rizik od smrtnog ishoda (HR 1.29) (27). Pokazalo se i da je razina IL-6 negativno povezana s duljinom telomera, što ukazuje na to da upala potiče pojačanu diobu stanica i ubrzano starenje (34).

Sirtuini (SIRT) su porodica enzima uključenih u obranu od oksidativnog stresa i popravak DNK, smanjujući time oštećenje izazvano upalom. Razina proteina SIRT1 smanjena je u KOPB-u što pogoduje oštećenju i starenju tkiva (27). Pronađene su snižene razine hormona rasta i dehidroepiandrosterona, dvaju hormona povezanih sa starenjem, a ta razina korelira s parametrima plućne funkcije. U KOPB-u su povišene razine i drugih biomarkera starenja, poput proteina p16, p19, p21 i b-galaktozidaze (34).

4. Primjenjivost u kliničkoj praksi

Količina studija na temu biomarkera u KOPB-u raste strelovitom brzinom. Neki od njih već se koriste u svakodnevnom kliničkom radu. Broj eozinofila u perifernoj krvi koristi se pri odlučivanju o uvođenju ICS u terapiju održavanja, a koncentracija fibrinogena u krvi odobrena je za primjenu u farmakološkim istraživanjima (14,31).

Međutim, unatoč brojnim istraživanjima i stotinama testiranih biomarkera, većina ih nije polučila zadovoljavajuće rezultate za primjenu u kliničkoj praksi. Glavni problem je manjak reproducibilnosti. Naime, mnogi biomarkeri pokazali su obećavajuće rezultate u samo jednoj ili nekoliko manjih studija, a zatim se ti rezultati nisu uspjeli potvrditi u drugim, većima (4). Čak i biomarkeri koji su se pokazali pouzdanim u više velikih istraživanja, poput broja eozinofila kao prediktora egzacerbacija, naišli su u nekom trenutku na kontradiktorne rezultate (17,21).

Dodatni problemi koji se često susreću su mali broj ispitanika i nemogućnost da se dobivene spoznaje implementiraju u praksi. Kako bi se osigurala što veća vjerojatnost uspješne kliničke primjene, Hollander i sur. predstavili su algoritam pod akronimom „SAVED“ koji sadrži pet pitanja koja bi trebalo postaviti prije nego što se biomarker uopće krene istraživati: je li vjerojatno da je biomarker 1) *Superior*, tj. dovodi do boljih ishoda od trenutnog standarda?, 2) *Actionable*, tj. utječe li na terapijski postupak?, 3) *Valuable*, tj. poboljšava li bolesnikove ishode?, 4) *Economical*, tj. je li financijski isplativ? i 5) *clinically Deployable*, tj. postoji li način i tehnologija za primjenu u kliničkom laboratoriju? (4).

Nadalje, treba razmišljati i o praktičnosti i sigurnosti metode prikupljanja uzorka u kojem se biomarkeri analiziraju. Dok uzorci poput bronhoalveolarnog lavata najbolje odražavaju patološke procese u samim plućima, invazivna priroda njihova prikupljanja čini ih teško primjenjivima u praksi. S druge strane, upotreba uzoraka poput krvi, sputuma ili izdahnutog zraka puno je jednostavnija i sigurnija, no treba uzeti u obzir moguće čimbenike zabune, posebno pri analizi krvi, koja može reflektirati patologiju iz bilo kojeg dijela organizma (35).

U dosadašnjim istraživanjima, najbolje rezultate i najveći potencijal za uspješnu kliničku implementaciju dale su kombinacije različitih biomarkera. Kombiniranje dvaju ili više biomarkera značajno povećava njihovu prognostičku snagu, kao i vjerojatnost da će se ti rezultati uspjati reproducirati u drugim studijama (69). Razne studije istražile su potencijalnu ulogu panela sastavljenih od različitih kombinacija biomarkera te se vrijednost takvih panela

pokazala većom nego vrijednost mjerenja pojedinačnih markera (33). Najvjerojatniji scenarij za buduću evaluaciju bolesnika s KOPB-om i njihovih kliničkih ishoda je dodatak panela različitih biomarkera kliničkim prognostičkim pokazateljima koji su trenutno u upotrebi.

5. Zaključak

Kronična opstruktivna bolest pluća, s izrazito visokom prevalencijom i ograničenim mogućnostima liječenja, predstavlja veliki teret globalnom zdravlju. Unatoč brojnim istraživanjima u zadnjih nekoliko desetljeća, malo je napretka viđeno u razvoju novih i učinkovitih terapija za ovu složenu bolest. Glavnu prepreku u tome čini njena izrazita heterogenost te snažna potreba za individualnim pristupom svakom pacijentu. Upravo zato sve više raste potraga za biomarkerima koji bi raščlanili tu heterogenost i omogućili razvoj personalizirane medicine. Dosad su istraživani brojni biomarkeri i njihova sposobnost da otkriju bolesnike u ranoj fazi bolesti, predvide odgovor na terapiju, predvide brzinu progresije bolesti te procijene rizik od egzacerbacije ili smrti. Pritom su korišteni razni uzorci, od onih koji pokazuju sistemske učinke bolesti, poput krvi i seruma, do onih koji bolje odražavaju plućnu patologiju, poput sputuma, izdahnutog zraka i BAL-a. Za većinu dosad otkrivenih biomarkera još nema dovoljno pouzdanih dokaza da bi se mogli primijeniti u praksi. No rastući broj studija, kao i novih potencijalnih biomarkera, otvara mogućnost pronalaska vjerodostojnih indikatora kliničkih ishoda koji bi olakšali pristup i poboljšali kvalitetu liječenja bolesnika s KOPB-om. Dosadašnje su studije također pokazale važnost kombinacije više biomarkera koji zajedno postižu puno veću prognostičku vrijednost. U svakom slučaju, bit će potrebna daljnja istraživanja prije nego što se biomarkeri uspješno implementiraju u kliničku praksu.

6. Zahvale

Zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Mariji Gomerčić Palčić na ljubaznosti, pristupačnosti i pomoći pruženoj pri pisanju ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem se svim svojim prijateljima, obitelji i rodbini koji su bili tu uz mene i učinili mi vrijeme studiranja ljepšim. Najviše hvala mojim roditeljima za svu nesebičnu ljubav i podršku koju su mi pružali čitavo vrijeme moga školovanja.

7. Literatura

1. Agusti A, Bel E, Thomas M, Vogelmeier C, Brusselle G, Holgate S, i ostali. Treatable traits: toward precision medicine of chronic airway diseases. *Eur Respir J.* veljača 2016.;47(2):410–9.
2. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* ožujak 2001.;69(3):89–95.
3. FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource [Internet]. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US); 2016 [citirano 08. lipanj 2023.]. Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/>
4. Hollander Z, DeMarco ML, Sadatsafavi M, McManus BM, Ng RT, Sin DD. Biomarker Development in COPD: Moving From P Values to Products to Impact Patient Care. *Chest.* veljača 2017.;151(2):455–67.
5. Mannino DM, Tal-Singer R, Lomas DA, Vestbo J, Graham Barr R, Tetzlaff K, i ostali. Plasma Fibrinogen as a Biomarker for Mortality and Hospitalized Exacerbations in People with COPD. *Chronic Obstr Pulm Dis.* 2015.;2(1):23–34.
6. Casaburi R, Celli B, Crapo J, Criner G, Croxton T, Gaw A, i ostali. The COPD Biomarker Qualification Consortium (CBQC). *COPD.* lipanj 2013.;10(3):367–77.
7. Ralston SH, Penman ID, Strachan MWJ, Hobson RP, urednici. *Davidson's Principles and Practice of Medicine.* 23. izd. London: Elsevier; 2018.
8. Szalontai K, Gémes N, Furák J, Varga T, Neuperger P, Balog JÁ, i ostali. Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Epidemiology, Biomarkers, and Paving the Way to Lung Cancer. *J Clin Med.* 29. lipanj 2021.;10(13):2889.
9. World Health Organization. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [Internet]. World Health Organization; 2023 ožu [citirano 02. srpanj 2023.]. Dostupno na: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-\(copd\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-(copd))
10. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Svjetski dan kronične opstruktivne bolesti pluća [Internet]. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2018 stu [citirano 02. srpanj 2023.]. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/aktualnosti/svjetski-dan-kronicne-opstruktivne-bolesti-pluca/>
11. Antoljak N. Epidemiologija astme i kronične opstruktivne bolesti pluća. *Medicus.* 2021.;30(2):139–44.
12. Brightling C, Greening N. Airway inflammation in COPD: progress to precision medicine. *Eur Respir J.* kolovoz 2019.;54(2):1900651.
13. Salvi SS, Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. *Lancet.* 29. kolovoz 2009.;374(9691):733–43.

14. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. 2023.
15. Mathioudakis AG, Janssens W, Sivapalan P, Singanayagam A, Dransfield MT, Jensen JUS, i ostali. Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: in search of diagnostic biomarkers and treatable traits. *Thorax*. lipanj 2020.;75(6):520–7.
16. Brusselle G, Pavord ID, Landis S, Pascoe S, Lettis S, Morjaria N, i ostali. Blood eosinophil levels as a biomarker in COPD. *Respir Med*. svibanj 2018.;138:21–31.
17. Vedel-Krogh S, Nielsen SF, Lange P, Vestbo J, Nordestgaard BG. Blood Eosinophils and Exacerbations in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. The Copenhagen General Population Study. *Am J Respir Crit Care Med*. 01. svibanj 2016.;193(9):965–74.
18. Bafadhel M, Peterson S, De Blas MA, Calverley PM, Rennard SI, Richter K, i ostali. Predictors of exacerbation risk and response to budesonide in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a post-hoc analysis of three randomised trials. *Lancet Respir Med*. veljača 2018.;6(2):117–26.
19. Hastie AT, Martinez FJ, Curtis JL, Doerschuk CM, Hansel NN, Christenson S, i ostali. Association of sputum and blood eosinophil concentrations with clinical measures of COPD severity: an analysis of the SPIROMICS cohort. *Lancet Respir Med*. prosinac 2017.;5(12):956–67.
20. David B, Bafadhel M, Koenderman L, De Soyza A. Eosinophilic inflammation in COPD: from an inflammatory marker to a treatable trait. *Thorax*. veljača 2021.;76(2):188–95.
21. Singh D, Wedzicha JA, Siddiqui S, De La Hoz A, Xue W, Magnussen H, i ostali. Blood eosinophils as a biomarker of future COPD exacerbation risk: pooled data from 11 clinical trials. *Respir Res*. prosinac 2020.;21(1):240.
22. Sivapalan P, Lapperre TS, Janner J, Laub RR, Moberg M, Bech CS, i ostali. Eosinophil-guided corticosteroid therapy in patients admitted to hospital with COPD exacerbation (CORTICO-COP): a multicentre, randomised, controlled, open-label, non-inferiority trial. *Lancet Respir Med*. kolovoz 2019.;7(8):699–709.
23. Park HY, Chang Y, Kang D, Hong YS, Zhao D, Ahn J, i ostali. Blood eosinophil counts and the development of obstructive lung disease: the Kangbuk Samsung Health Study. *Eur Respir J*. listopad 2021.;58(4):2003823.
24. Tan WC, Bourbeau J, Nadeau G, Wang W, Barnes N, Landis SH, i ostali. High eosinophil counts predict decline in FEV₁: results from the CanCOLD study. *Eur Respir J*. svibanj 2021.;57(5):2000838.
25. Martinez-Garcia MA, Faner R, Oscullo G, De La Rosa D, Soler-Cataluña JJ, Ballester M, i ostali. Inhaled Steroids, Circulating Eosinophils, Chronic Airway Infection, and Pneumonia Risk in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. A Network Analysis. *Am J Respir Crit Care Med*. 01. svibanj 2020.;201(9):1078–85.

26. Benson VS, Hartl S, Barnes N, Galwey N, Van Dyke MK, Kwon N. Blood eosinophil counts in the general population and airways disease: a comprehensive review and meta-analysis. *Eur Respir J. siječanj 2022.*;59(1):2004590.
27. Shaw JG, Vaughan A, Dent AG, O'Hare PE, Goh F, Bowman RV, i ostali. Biomarkers of progression of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *J Thorac Dis. studeni 2014.*;6(11):1532–47.
28. El-Gazzar AG, Kamel MH, Elbahnasy OKM, El-Naggar MES. Prognostic value of platelet and neutrophil to lymphocyte ratio in COPD patients. *Expert Rev Respir Med. 02. siječanj 2020.*;14(1):111–6.
29. Fermont JM, Masconi KL, Jensen MT, Ferrari R, Di Lorenzo VAP, Marott JM, i ostali. Biomarkers and clinical outcomes in COPD: a systematic review and meta-analysis. *Thorax. svibanj 2019.*;74(5):439–46.
30. Mohan M, Parthasarathi A, S K C, Biligere Siddaiah J, Mahesh PA. Fibrinogen: A Feasible Biomarker in Identifying the Severity and Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Cureus. kolovoz 2021.*;13(8):e16864.
31. Miller BE, Tal-Singer R, Rennard SI, Furtwaengler A, Leidy N, Lowings M, i ostali. Plasma Fibrinogen Qualification as a Drug Development Tool in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Perspective of the Chronic Obstructive Pulmonary Disease Biomarker Qualification Consortium. *Am J Respir Crit Care Med. 15. ožujak 2016.*;193(6):607–13.
32. COPD Foundation. COPD Biomarkers Qualification Consortium (CBQC) [Internet]. 2022 [citirano 06. lipanj 2023.]. Dostupno na: <https://www.copdfoundation.org/Research/Research-Projects-and-Consortia/COPD-Biomarker-Qualification-Consortium-CBQC.aspx>
33. Zemans RL, Jacobson S, Keene J, Kechris K, Miller BE, Tal-Singer R, i ostali. Multiple biomarkers predict disease severity, progression and mortality in COPD. *Respir Res. 13. lipanj 2017.*;18(1):117.
34. Pantazopoulos I, Magounaki K, Kotsiou O, Rouka E, Perlikos F, Kakavas S, i ostali. Incorporating Biomarkers in COPD Management: The Research Keeps Going. *J Pers Med. 01. ožujak 2022.*;12(3):379.
35. Chukowry PS, Spittle DA, Turner AM. Small Airways Disease, Biomarkers and COPD: Where are We? *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2021.*;16:351–65.
36. Agusti A, Gea J, Faner R. Biomarkers, the control panel and personalized COPD medicine. *Respirology. siječanj 2016.*;21(1):24–33.
37. Stockley RA, Halpin DMG, Celli BR, Singh D. Chronic Obstructive Pulmonary Disease Biomarkers and Their Interpretation. *Am J Respir Crit Care Med. 15. svibanj 2019.*;199(10):1195–204.
38. Shi T, Feng L. Blood biomarkers associated with acute type II respiratory failure in COPD: A meta-analysis. *Clin Respir J. veljača 2022.*;16(2):75–83.

39. Hirai K, Tanaka A, Homma T, Goto Y, Akimoto K, Uno T, i ostali. Serum creatinine/cystatin C ratio as a surrogate marker for sarcopenia in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Nutr.* ožujak 2021.;40(3):1274–80.
40. Leitao Filho FS, Ra SW, Mattman A, Schellenberg RS, Criner GJ, Woodruff PG, i ostali. Serum IgG subclass levels and risk of exacerbations and hospitalizations in patients with COPD. *Respir Res.* 14. veljača 2018.;19(1):30.
41. Noell G, Cosío BG, Faner R, Monsó E, Peces-Barba G, De Diego A, i ostali. Multi-level differential network analysis of COPD exacerbations. *Eur Respir J.* rujan 2017.;50(3):1700075.
42. Hoult G, Gillespie D, Wilkinson TMA, Thomas M, Francis NA. Biomarkers to guide the use of antibiotics for acute exacerbations of COPD (AECOPD): a systematic review and meta-analysis. *BMC Pulm Med.* prosinac 2022.;22(1):194.
43. Tang JH, Gao DP, Zou PF. Comparison of serum PCT and CRP levels in patients infected by different pathogenic microorganisms: a systematic review and meta-analysis. *Braz J Med Biol Res.* 2018.;51(7):e6783.
44. Prins HJ, Duijkers R, Van Der Valk P, Schoorl M, Daniels JMA, Van Der Werf TS, i ostali. CRP-guided antibiotic treatment in acute exacerbations of COPD in hospital admissions. *Eur Respir J.* svibanj 2019.;53(5):1802014.
45. Daubin C, Valette X, Thiollière F, Mira JP, Hazera P, Annane D, i ostali. Procalcitonin algorithm to guide initial antibiotic therapy in acute exacerbations of COPD admitted to the ICU: a randomized multicenter study. *Intensive Care Med.* travanj 2018.;44(4):428–37.
46. Bhatta L, Leivseth L, Mai XM, Henriksen AH, Carslake D, Chen Y, i ostali. Spirometric Classifications of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Severity as Predictive Markers for Clinical Outcomes: The HUNT Study. *Am J Respir Crit Care Med.* 15. travanj 2021.;203(8):1033–7.
47. Choi J, Sim JK, Oh JY, Lee YS, Hur GY, Lee SY, i ostali. Prognostic marker for severe acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: analysis of diffusing capacity of the lung for carbon monoxide (DLCO) and forced expiratory volume in one second (FEV₁). *BMC Pulm Med.* prosinac 2021.;21(1):152.
48. Balasubramanian A, MacIntyre NR, Henderson RJ, Jensen RL, Kinney G, Stringer WW, i ostali. Diffusing Capacity of Carbon Monoxide in Assessment of COPD. *Chest.* prosinac 2019.;156(6):1111–9.
49. Doherty DE. A Review of the Role of FEV₁ in the COPD Paradigm. *COPD J Chronic Obstr Pulm Dis.* siječanj 2008.;5(5):310–8.
50. Balasubramanian A, Putcha N, MacIntyre NR, Jensen RL, Kinney G, Stringer WW, i ostali. Diffusing Capacity and Mortality in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Ann Am Thorac Soc.* siječanj 2023.;20(1):38–46.
51. Ni Y, Yu Y, Dai R, Shi G. Diffusing capacity in chronic obstructive pulmonary disease assessment: A meta-analysis. *Chron Respir Dis.* siječanj 2021.;18:147997312110563.

52. Elbehairy AF, O'Donnell CD, Abd Elhameed A, Vincent SG, Milne KM, James MD, i ostali. Low resting diffusion capacity, dyspnea, and exercise intolerance in chronic obstructive pulmonary disease. *J Appl Physiol*. 01. listopad 2019.;127(4):1107–16.
53. de-Torres JP, O'Donnell DE, Marín JM, Cabrera C, Casanova C, Marín M, i ostali. Clinical and Prognostic Impact of Low Diffusing Capacity for Carbon Monoxide Values in Patients With Global Initiative for Obstructive Lung Disease I COPD. *Chest*. rujan 2021.;160(3):872–8.
54. Farkhooy A, Janson C, Arnardóttir RH, Emtner M, Hedenström H, Malinowski A. Impaired Carbon Monoxide Diffusing Capacity is the strongest lung function predictor of decline in 12 minute-walking distance in COPD; a 5-year follow-up study. *COPD J Chronic Obstr Pulm Dis*. 04. svibanj 2015.;12(3):243–51.
55. Stockley JA, Ismail AM, Hughes SM, Edgar R, Stockley RA, Sapey E. Maximal mid-expiratory flow detects early lung disease in α 1-antitrypsin deficiency. *Eur Respir J*. ožujak 2017.;49(3):1602055.
56. Ram J, Pineda-Cely J, Calhoun WJ. Forced Oscillometry: A New Tool for Assessing Airway Function—Is It Ready for Prime Time? *J Allergy Clin Immunol Pract*. studeni 2019.;7(8):2861–2.
57. Yamagami H, Tanaka A, Kishino Y, Mikuni H, Kawahara T, Ohta S, i ostali. Association between respiratory impedance measured by forced oscillation technique and exacerbations in patients with COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. prosinac 2017.;Volume 13:79–89.
58. Li Y, Li YH, Li S, Luo YW, Xiao R, Huang YX, i ostali. Efficiency of neural respiratory drive for the assessment of bronchodilator responsiveness in patients with chronic obstructive pulmonary disease: an exploratory study. *J Thorac Dis*. svibanj 2016.;8(5):958–65.
59. Patout M, Meira L, D'Cruz R, Lhuillier E, Kaltsakas G, Arbane G, i ostali. Neural respiratory drive predicts long-term outcome following admission for exacerbation of COPD: a post hoc analysis. *Thorax*. rujan 2019.;74(9):910–3.
60. Mahler DA, Halpin DMG. Peak Inspiratory Flow as a Predictive Therapeutic Biomarker in COPD. *Chest*. kolovoz 2021.;160(2):491–8.
61. Raouf S, Shah M, Make B, Allaqaband H, Bowler R, Fernando S, i ostali. Lung Imaging in COPD Part 1. *Chest*. ožujak 2023.;S001236922300329X.
62. Washko GR, Parraga G. COPD biomarkers and phenotypes: opportunities for better outcomes with precision imaging. *Eur Respir J*. studeni 2018.;52(5):1801570.
63. Raouf S, Shah M, Braman S, Agrawal A, Allaqaband H, Bowler R, i ostali. Lung Imaging of COPD Part 2. *Chest*. ožujak 2023.;S0012369223003306.
64. Cuete D. Centrilobular pulmonary emphysema. U: Radiopaedia.org [Internet]. Radiopaedia.org; 2014 [citirano 05. svibanj 2023.]. Dostupno na: <http://radiopaedia.org/cases/centrilobular-pulmonary-emphysema-1>

65. Han MK, Kazerooni EA, Lynch DA, Liu LX, Murray S, Curtis JL, i ostali. Chronic Obstructive Pulmonary Disease Exacerbations in the COPD Gene Study: Associated Radiologic Phenotypes. *Radiology*. listopad 2011.;261(1):274–82.
66. Radicioni G, Ceppe A, Ford AA, Alexis NE, Barr RG, Bleecker ER, i ostali. Airway mucin MUC5AC and MUC5B concentrations and the initiation and progression of chronic obstructive pulmonary disease: an analysis of the SPIROMICS cohort. *Lancet Respir Med*. studeni 2021.;9(11):1241–54.
67. Esther CR, O’Neal WK, Anderson WH, Kesimer M, Ceppe A, Doerschuk CM, i ostali. Identification of Sputum Biomarkers Predictive of Pulmonary Exacerbations in COPD. *Chest*. svibanj 2022.;161(5):1239–49.
68. Dasgupta A, Chakraborty R, Saha B, Suri H, Singh P, Raj A, i ostali. Sputum Protein Biomarkers in Airway Diseases: A Pilot Study. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. srpanj 2021.;Volume 16:2203–15.
69. Mannino DM. Biomarkers for chronic obstructive pulmonary disease diagnosis and progression: insights, disappointments and promise. *Curr Opin Pulm Med*. ožujak 2019.;25(2):144–9.
70. Su L, Qiao Y, Luo J, Huang R, Li Z, Zhang H, i ostali. Characteristics of the sputum microbiome in COPD exacerbations and correlations between clinical indices. *J Transl Med*. 05. veljača 2022.;20(1):76.
71. Leitao Filho FS, Alotaibi NM, Ngan D, Tam S, Yang J, Hollander Z, i ostali. Sputum Microbiome Is Associated with 1-Year Mortality after Chronic Obstructive Pulmonary Disease Hospitalizations. *Am J Respir Crit Care Med*. 15. svibanj 2019.;199(10):1205–13.
72. Ho CG, Milne S, Li X, Yang CX, Leitao Filho FS, Cheung CY, i ostali. Airway Eosinophilia on Bronchoalveolar Lavage and the Risk of Exacerbations in COPD. *Biomedicines*. 15. lipanj 2022.;10(6):1412.
73. Ratiu IA, Ligor T, Bocos-Bintintan V, Mayhew CA, Buszewski B. Volatile Organic Compounds in Exhaled Breath as Fingerprints of Lung Cancer, Asthma and COPD. *J Clin Med*. 24. prosinac 2020.;10(1):32.
74. Rodríguez-Aguilar M, Díaz De León-Martínez L, Gorocica-Rosete P, Padilla RP, Thiri6n-Romero I, Ornelas-Rebolledo O, i ostali. Identification of breath-prints for the COPD detection associated with smoking and household air pollution by electronic nose. *Respir Med*. ožujak 2020.;163:105901.
75. Finamore P, Pedone C, Scarlata S, Di Paolo A, Grasso S, Santonico M, i ostali. Validation of exhaled volatile organic compounds analysis using electronic nose as index of COPD severity. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. svibanj 2018.;Volume 13:1441–8.
76. Rodrigo-Troyano A, Giner J, Perea L, Merino JL, Albacar N, Solarat B, i ostali. Predicting Early Hospital Readmissions in COPD Patients Using an Electronic Nose. *Arch Bronconeumol*. rujun 2022.;58(9):663–5.
77. Konstantinidi EM, Lappas AS, Tzortzi AS, Behrakis PK. Exhaled Breath Condensate: Technical and Diagnostic Aspects. *Sci World J*. 2015.;2015:1–25.

78. Bazzan E, Radu CM, Tinè M, Neri T, Biondini D, Semenzato U, i ostali. Microvesicles in bronchoalveolar lavage as a potential biomarker of COPD. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*. 01. veljača 2021.;320(2):L241–5.

8. Životopis

Rođena sam 23.4.1998. u Zagrebu. Nakon završenog srednjoškolskog obrazovanja u V. gimnaziji, upisala sam Medicinski fakultet u Zagrebu 2017. godine. Od 2020. godine aktivni sam član udruge CroMSIC u sklopu koje sudjelujem u raznim aktivnostima, uključujući projekte „Budi mRAK“ i „*THE Talk*“ koji se bave edukacijama srednjoškolaca o spolnom i reproduktivnom zdravlju. U akademskoj godini 2021./2022. bila sam aktivni član Studentske sekcije za kardiologiju. U kolovozu 2022. godine sudjelovala sam u profesionalnoj razmjeni studenata medicine udruge IFMSA i provela mjesec dana u Litvi, na odjelu za nefrologiju. Tijekom pandemije volontirala sam u pozivnom centru za COVID-19 Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo. Sudjelovala sam kao treći autor u izradi sažetka pod nazivom „*Intracranial Hemangiopericytoma – Can Patients be Safe from Tumor Recurrence?*“, predstavljenog na kongresu *Croatian Student Summit* 2020. godine, te ponovno 2023. godine kao prvi autor sažetka pod nazivom „*Ankylosing spondylitis: how does it affect the quality of life?*“. Dobitnica sam Rektorove nagrade u akademskoj godini 2022./2023. u kategoriji velikog timskog znanstvenog i umjetničkog rada s više od 10 autora za rad pod nazivom „Usporedba mentalnog zdravlja između studenata završnih godina integriranih sveučilišnih studija na Kineziološkom fakultetu i Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu“. Napisala sam i nekoliko članaka za studentski časopis *Medicinar*. Aktivno se služim engleskim i njemačkim jezikom.