

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Hana Matijaca

**Učinak produljenoga radnoga vremena
na aktivaciju hemostatskoga sustava**

DISERTACIJA



Zagreb, 2019.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Hana Matijaca

**Učinak produljenoga radnoga vremena
na aktivaciju hemostatskoga sustava**

DISERTACIJA

Zagreb, 2019.

Rad je izrađen na Klinici za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra „Sestre milosrdnice“

Voditelj rada: prof. dr.sc. Petar Gaćina

ZAHVALA

Zahvaljujem svom mentoru prof.dr.sc. Petru Gaćina, predstojniku Klinike za unutarnje bolesti i pročelniku Zavoda za hematologiju na potpori i korisnim savjetima pri izradi ovog rada.

Posebno zahvaljujem svojim kolegama na njihovoj nesebičnoj pomoći i sudjelovanju, jer bez njih ovaj rad ne bi bio izvediv.

Također zahvaljujem ostalom medicinskom osoblju Klinike pri realizaciji ovog rada.

Sve laboratorijske pretrage su učinjene u Zavodu za kemiju, te stoga zahvaljujem predstojnici prof. dr.sc. Nadi Vrkić i Ivani Čelap, spec. med. biokemije.

Za statističku obradu podataka i grafički prikaz zahvaljujem doc. dr.sc. Milanu Milošević.

Zahvaljujem svojoj obitelji na poticaju i omogućavanju radne atmosfere u vlastitom domu.

POPIS OZNAKA I KRATICA

ACTH	adrenokortikotropni hormon
ADP	adenozin difosfat
APTV	aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme
AT III	antitrombin III
CRH	kortikotropin otpuštajući hormon
CRP	C-reaktivni protein
DIK	diseminirana intravaskularna koagulacija
ELISA	enzimimunoanaliza
F	faktor
IL	interleukin
INR	internacionalno normalizirani omjer
PAI-1	inhibitor aktivatora plazminogena 1
PAP	plazmin-antiplazmin kompleksi
PV	protrombinsko vrijeme
TAFI	trombinom aktivirani inhibitor fibrinolize
TAT	trombin-antitrombin kompleksi
TF	tkivni faktor
TNF- α	tumor nekrotizirajući faktor alfa
t-PA	tkivni aktivator plazminogena
TPFI	inhibitor puta tkivnog faktora
TV	trombinsko vrijeme
vWF	von Willebrandov faktor
vWF Ag	von Willebrandov faktor antigen
vWF Ri:Co	von Willebrand ristocetin kofaktor

SADRŽAJ

1. UVOD I SVRHA RADA	1
1.1. Stres	1
1.1.1. Akutni stres i sustav zgrušavanja	4
1.1.2. Kronični stres i sustav zgrušavanja	4
1.1.3. Stres i C-reaktivni protein	5
1.1.4. Stres na radnom mjestu	6
1.2. Cirkadijalni ritam i sustav hemostaze	7
1.3. Dosadašnje spoznaje o sustavu hemostaze	9
1.3.1. Primarna faza hemostaze	9
1.3.1.1. Vazokonstrikcija krvne žile	9
1.3.1.2. Stvaranje trombocitnog čepa	9
1.3.2. Sekundarna faza hemostaze	10
1.3.2.1. Kaskadni model hemostaze	10
1.3.2.1.1. Vanjski put zgrušavanja	11
1.3.2.1.2. Unutarnji put zgrušavanja	12
1.3.2.2. Stanični model hemostaze	13
1.3.3. Sprečavanje nastanka krvnog ugruška	13
1.3.4. Laboratorijski pokazatelji hemostaze i upale	15
1.3.4.1. Protrombinsko vrijeme	16
1.3.4.2. Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme	17
1.3.4.3. Trombinsko vrijeme	17
1.3.4.4. Fibrinoliza	18
1.3.4.5. Fibrinogen	18
1.3.4.6. D-dimeri	19
1.3.4.7. Faktor VIII	19
1.3.4.8. Von Willebrandov faktor	20
1.3.4.9. Trombin-antitrombin kompleksi	21
1.3.4.10. Plazmin-antiplazmin kompleksi	21
1.3.4.11. C-reaktivni protein	22
2. HIPOTEZA	23
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	24
4. ISPITANICI I METODE	25

4.1.	Ispitanici	25
4.2.	Prikupljanje uzoraka krvi	25
4.3.	Laboratorijska obrada uzoraka krvi	26
4.3.1.	Protrombinsko vrijeme (PV) i INR.....	27
4.3.2.	Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTV)	27
4.3.3.	Trombinsko vrijeme (TV)	27
4.3.4.	Faktor VIII (FVIII)	28
4.3.5.	Aktivnost von Willebrandovog faktora (vWF)	28
4.3.6.	D-dimeri.....	28
4.3.7.	Fibrinogen.....	29
4.3.8.	Plazmin – antiplazmin kompleksi (PAP kompleksi)	29
4.3.9.	Trombin – antitrombin kompleksi (TAT kompleksi)	29
4.3.10.	C-reaktivni protein (CRP)	30
4.3.11.	Određivanje fibrinolize – euglobulinski test.....	30
4.4.	Statistička obrada podataka	31
5.	REZULTATI	32
6.	RASPRAVA	68
6.1.	C-reaktivni protein.....	68
6.2.	Fibrinoliza	70
6.3.	D-dimeri.....	71
6.4.	Faktor VIII	72
6.5.	Von Willebrandov faktor	74
6.6.	Fibrinogen.....	76
6.7.	Trombin-antitrombin kompleksi	77
6.8.	Plazmin-antiplazmin kompleksi.....	77
6.9.	Protrombinsko vrijeme i INR	78
6.10.	Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme	79
6.11.	Trombinsko vrijeme.....	79
7.	ZAKLJUČAK	80
8.	SAŽETAK	82
9.	SUMMARY	83
10.	POPIS LITERATURE	84
11.	ŽIVOTOPIS	94

1. UVOD I SVRHA RADA

Svi smo se povremeno našli u stresnim situacijama te smo upoznati sa simptomima stresa u vidu ubrzanog srčanog rada i disanja, pojačanog znojenja, drhtanja, bljedila, sušenja usta, povećanja krvnog tlaka itd. Navedeno dovodi do povećanog dotoka krvi u tkiva, poboljšanja kognicije i ubrzavanja refleksa što sve zajedno priprema organizam na neposrednu fizičku aktivnost, odnosnu obranu ili napad. Kratkoročno, stres je fiziološki koristan obrambeni mehanizam.

1.1. Stres

Stres možemo definirati kao situaciju u kojoj neki stresor, odnosno nešto što percipiramo kao opasnost, pokreće određeni psihološki i biološki odgovor. Taj odgovor jedinki pomaže u snalaženju s nepredvidivom situacijom¹.

Općenito, možemo reći da je stres stanje u kojem dolazi do promjene unutrašnje (psihofiziološke) ravnoteže organizma i koje zahtijeva ulaganje dodatnih napora u svrhu prilagodbe. Vrlo je važno subjektivno značenje podražaja za pojedinca, odnosno percipira li on situaciju kao stresnu². Osim o stresoru, reakcija pojedinca na stres ovisi o njegovoj individualnoj osjetljivosti koja je određena karakterom, dobi, stilom života, ali i o vanjskim čimbenicima poput obitelji, prijatelja, radne atmosfere i okoliša³.

Najveću ulogu u djelovanju stresa na organizam imaju autonomni (vegetativni) živčani sustav i sustav žlijezda s unutrašnjim lučenjem. Oba su sustava blisko povezana s korom mozga gdje se svjesno doživljava emocionalna napetost u stresnoj situaciji². Dakle, reakcija na stres počinje impulsima iz korteksa. Velik značaj u povezanosti korteksa s nižim moždanim strukturama ima limbički sustav čiji je dio hipotalamus. Hipotalamus je i ishodište vlakana autonomnog živčanog sustava. Vlakna simpatičkog dijela autonomnog živčanog sustava imaju središte u stražnjem dijelu, a parasimpatičkog u prednjem dijelu hipotalamusa. Hipotalamus je u bliskoj vezi s hipofizom preko kortikotropin otpuštajućeg hormona (CRH) koji portalnom cirkulacijom dolazi do hipofize te je potiče na lučenje adrenokortikotropnog hormona (ACTH). Osim portalnom cirkulacijom, hipotalamus utječe na hipofizu izravno i živčanim vlaknima. ACTH stimulira koru

nadbubrežne žlijezde na sintezu i lučenje glukokortikoida, koji pak mehanizmom negativne povratne sprege inhibiraju aktivnost osi hipotalamus – hipofiza – nadbubrežna žlijezda tako da se vežu za receptore u hipofizi, hipotalamusu i srednjem prefrontalnom korteksu uzrokujući smanjenje sekrecije CRH, a time i otpuštanje ACTH⁴.

Stres u organizmu djeluje na dva načina. Prvo je humoralni put, gdje se pod utjecajem hipofize izluče glukokortikoidi iz kore nadbubrežne žlijezde. Drugo je neuralni put kojim vlakna autonomnog živčanog sustava izravno podraže različite organe i mijenjaju njihovu aktivnost. Aktivacijom simpatikusa dolazi do lučenja adrenalina i noradrenalina iz srži nadbubrežne žlijezde te do živčane stimulacije brojnih organa².

Najvažniji hormonalni medijatori stvoreni u stresnoj situaciji u organizmu su dakle, noradrenalin i kortizol koji induciraju kaskadu upalnih reaktanata: interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 (IL-1), C-reaktivni protein (CRP), tumor nekrotizirajući faktor – alfa (TNF- α), leptin, angiotenzin II. Oni pak dovode između ostalog do stvaranja proinflamatornih uvjeta na endotelu krvnih žila⁵⁻⁷.

Dokazano je da kateholamini koji se otpuštaju iz srži nadbubrežne žlijezde i završetaka vlakana simpatičkog živčanog sustava stimuliraju beta-2 adrenergičke receptore koji se nalaze na endotelu krvnih žila. U vremenskom intervalu od nekoliko minuta dolazi do otpuštanja u cirkulaciju faktora VIII, von Willebrandova faktora (vWF) i tkivnog aktivatora plazminogena (t-PA). Pri tome se aktiviraju trombociti putem stimulacije alfa-2 adrenergičkih receptora⁸. Nadalje, kateholamini također stimuliraju otpuštanje faktora VIII iz hepatocita, te imaju ulogu u razgradnji t-PA i D-dimera putem hepatocita⁹.

Istraživanja von Känel i suradnika pokazala su da akutni stres utječe na povećanje koncentracije fibrinogena, D-dimera, aktivnosti faktora VII, VIII, XII, vWF, aktivnosti trombocita, trombin-antitrombin (TAT) kompleksa i protrombinskog vremena¹⁰. U zdravih pojedinaca, aktivnost faktora VIII, razine fibrinogena i vWF antigena povećavaju se za 5 % do 10% u odgovoru na akutni stres te se vraćaju na ishodišne razine otprilike 20-45 minuta nakon prestanka stresne situacije⁹⁻¹¹.

Akutni stres dovodi putem ranije opisivanih mehanizama do paralelne aktivacije sustava zgrušavanja i fibrinolize, ali ipak uz pomak ravnoteže prema zgrušavanju, rezultirajući

hiperkoagulabilnošću. Ovaj proces posljedica je evolucijski razrađenog mehanizma brzog zaustavljanja krvarenja, u slučaju da dođe do ozljede u situacijama „borbe ili bijega“. Osim izravne fizičke opasnosti, i akutni stres dovodi do promjene u sustavu hemostaze. Akutni stres praćen psihičkom napetosti je prema dostupnoj literaturi također provocirajući rizični čimbenik za tromboembolijske incidente^{9,10}. Posebno su ugroženi pojedinci s preegzistentnim aterosklerotskim promjenama, odnosno narušenim antikoagulantnim mehanizmima na promijenjenom endotelu krvnih žila. Rizik se povećava s dobi, a prisutan je u cjelokupnoj populaciji s obzirom na to da aterosklerotski proces počinje od rođenja. Dakle, rizik od tromboembolijskih incidenata raste nakon izlaganja stresnoj situaciji, međutim kod zdravih mladih osoba akutna hiperkoagulabilnost pri kratkotrajnom izlaganju stresu ne bi trebala imati štetne posljedice jer je reverzibilna. Međutim, ipak se postavlja pitanje može li u zdravih mladih pojedinaca opetovano hiperkoagulabilno stanje kao posljedica ponavljajućih stresnih situacija doprinijeti ubrzanoj aterosklerozi i povećanom tromboembolijskom riziku⁹.

Opetovani psihički stresori, npr. opterećenost i psihička napetost na radnome mjestu u literaturi se vezuju za hiperkoagulabilnost, na što ukazuju povećane koncentracije fibrinogena i faktora VII, uz reduciranu brzinu fibrinolize¹².

U literaturi se također navodi unakrsna povezanost sustava hemostaze i upale, kao reakcije na stres. U studiji provedenoj na volonterima izloženim razgovoru za posao ispred veće skupine ljudi dokazano je povećanje razine D-dimera, fibrinogena, IL-6 i kortizola u slini kao posljedice stresne situacije¹³. Paralelna aktivacija sustava hemostaze i upale, uz povećanje krvnog tlaka posredstvom kateholamina i glukokortikoida u stresu dodatno povećavaju tromboembolijski rizik, odnosno lakše pucanje vulnerabilnog aterosklerotskog plaka.

1.1.1. Akutni stres i sustav zgrušavanja

Akutni stres je kratkotrajno stanje odgovora na stresor u trajanju od nekoliko minuta do nekoliko sati. Takav odgovor ima pozitivne učinke za organizam pripremajući ga na borbu ili bijeg. Akutni stres djeluje dominantno na aktivaciju simpatičkog živčanog sustava te posredstvom kateholamina ima ranije spomenuti učinak na beta-2 adrenergičke receptore endotela krvnih žila, vWF, faktor VIII, trombocite i t-PA.

Akutni stres uzrokuje hemokoncentraciju jer povišeni krvni tlak kao odgovor na lučenje kateholamina uzrokuje pomak plazme u intersticijski prostor, zadržavajući molekule veće molekularne mase (>69 kDa) intravaskularno te time povećava njihovu koncentraciju⁹. Akutni stres koji uključuje psihosocijalnu komponentu također aktivira osovinu hipotalamus – hipofiza–nadbubrežna žlijezda povećavajući koncentraciju ACTH i kortizola¹⁴.

Zaključno, akutni stres aktivira paralelno sustav zgrušavanja povećavajući FVII, FVIII, FXII, fibrinogen, VWF antigen, aktivirajući trombocite i sustav fibrinolize putem t-PA, ali ipak pomičući ravnotežu prema hiperkoagulabilnosti^{9,15}.

1.1.2. Kronični stres i sustav zgrušavanja

Kronični stres je dugotrajnije stanje odgovora na stresor koje je posljedica opetovanog niza stresnih događaja praćenih izostankom oporavka organizma. U stanju kroničnog stresa dolazi do pojačanog lučenja kortikosteroida, hipertrofije kore nadbubrežne žlijezde, atrofije timusa i drugih limfatičkih struktura³. Razvija se rezistencija na glukokortikoide, te se smanjuje potentnost mehanizma negativne povratne sprege.

U stanju kroničnog stresa dolazi do gubitka ravnoteže neuroendokrinog i imunološkog sustava te se putem proupalnih citokina izloženih iz stresom podraženih stanica imunološkog sustava uspostavlja stanje blage upale koja može biti pokretač različitih bolesti¹⁶.

Studija van der Pas i suradnika pokazala je da bolesnici s dijagnozom Cushingova sindroma (hiperkortizolizam) imaju češće tromboembolijske incidente uzrokovane povećanom produkcijom zgrušavajućih čimbenika: fibrinogena, faktora VIII i vWF te smanjenom fibrinolitičkom aktivnosti što dokazuju povećane koncentracije inhibitora aktivatora plazminogena (PAI-1), trombinom aktiviranog inhibitora fibrinolize (TAFI) i alfa-2 antiplazmina¹⁷.

Van Kanel i suradnici ukazuju da kronični psihosocijalni stresori u koje spadaju opterećenja na radnome mjestu i lošiji socioekonomski uvjeti uzrokuju hiperkoagulabilnost, povećavajući razine fibrinogena i faktora VII te smanjuju fibrinolitičku aktivnost¹².

1.1.3. Stres i C-reaktivni protein

C-reaktivni protein je reaktant akutne upale te se smatra ključnim pokazateljem upalnog zbivanja u organizmu. Njegovom sintezom upravljaju citokini, uglavnom IL-6, IL-1beta, IL-17 i TNF-alfa. Uglavnom se stvara u jetri kao odgovor na upalu ili oštećenje tkiva te također u drugim tkivima, poput pluća, bubrega i krvožilnog sustava. Uloga CRP-a je vezivanje za površinu patogenih uzročnika, umirućih ili već odumrlih stanica. Na taj način ih leukociti prepoznaju i uklanjaju. CRP je također pokazatelj kronične/sistemske upale. Povećanje vrijednosti CRP-a je biološki odgovor na kronični stres. Kao što je već naglašeno, stres ima utjecaj na upalne parametre. Pregledni članci pokazali su utjecaj akutnog stresa na povećane razine cirkulirajućih interleukina (IL-6, IL-1beta) i CRP-a. Mogući mehanizmi djelovanja su: povećana sinteza proinflammatoryh medijatora stimulacijom stanica imunološkog sustava i stresom posredovana redukcija volumena plazme¹⁸.

Psihosocijalni stres ima značajan doprinos bazalnoj sistemske upali u organizmu. Johnson i suradnici analizirali su vrste psihosocijalnog stresa, u vidu stresa na radnome mjestu, stresa zbog nezaposlenosti, stresa u sindromu izgaranja na poslu te zbog socioekonomskih uvjeta, te su pokazali snažan utjecaj na razine CRP-a¹⁹. Studije dovode u vezu povećane koncentracije CRP-a s razvojem kardiovaskularnih bolesti, razvojem poremećaja intolerancije glukoze i pojavom šećerne bolesti^{20,21}.

CRP ujedno ima proinflamatorni učinak. U endotelu krvnih žila smanjuje sintezu vazodilatatora dušičnog oksida i prostaciklina, povećava razinu IL-8, PAI-1. CRP povećava unos LDL-a u makrofage te ih aktivira da pojačano luče tkivni faktor (TF). CRP dovodi do pojačane ekspresije adhezijskih molekula i aktivira proliferaciju miocita krvnih žila što se sve dovodi u vezu s ubrzanjem ateroskleroze²⁰.

1.1.4. Stres na radnom mjestu

Jedan od oblika stresa je stres na radnom mjestu koji nastaje zbog povećanih zahtjeva i smanjene sposobnosti da se tom zahtjevu udovolji. Dolazi do izražaja u situaciji kada bi neuspjeh u zadovoljavanju zahtjeva imao važne posljedice. Niža razina stresa može imati motivacijsko djelovanje, no njegova prevelika količina dovodi do niske radne učinkovitosti³.

Ljudi u nekim zanimanjima češće su izloženi stresnim djelovanjima. To su npr. piloti, profesionalni vozači, radnici u smjenskom radu, rukovodioci, zdravstveni radnici (kirurzi, zaposlenici u jedinicama intenzivnog liječenja)².

Općenito su zdravstveni radnici, a posebice liječnici, izloženi velikim razinama stresa. Istraživanja pokazuju da barem jedna trećina njih ima neke od karakteristika simptoma izgaranja na poslu. Sam proces počinje još u studentskim danima, a nastavlja se u daljnjem školovanju, te su simptomi izgaranja na poslu kasnije uključeni u svakodnevnom radu liječnika. Istraživanja ukazuju da su simptomi prisutni u 31 – 49% studenata medicine te čak u 50 – 75% liječnika na specijalističkom usavršavanju iz interne medicine i kirurgije. Simptomi sindroma izgaranja uključuju emocionalnu iscrpljenost, depersonalizaciju koja dovodi do ravnodušnosti zdravstvenog djelatnika prema bolesniku, nedjelotvornost, povećanu mogućnost pogreške i nezadovoljstvo vlastitim postignućima²².

U istraživanju provedenom 2004. godine u Irskoj, 56% liječnika svoj je posao ocijenilo kao izrazito stresan, a nezadovoljstvo na radu navelo je 79% liječnika. Najčešći navedeni stresori bili su hitna stanja, 24-satni rad, donošenje odluka nakon noćnog dežurstva, rutinski medicinski rad i mala mogućnost napredovanja. Čak 68% ispitanika razmišljalo je o napuštanju struke²³.

Noćni i smjenski rad ometaju društveni život liječnika. Snažan utjecaj na psihičko i fizičko zdravlje ima narušavanje cirkadijalnih bioloških endogenih ritmova. Produljeno radno

vrijeme, noćne smjene i izloženost stresnim prilikama na radnome mjestu koreliraju s aktivacijom hemostatskog sustava. Dokazana je ne samo aktivacija kaskade zgrušavanja nego i paralelna aktivacija sustava fibrinolize s time da se zgrušavanje aktivira u većoj mjeri, što rezultira hiperkoagulabilnim stanjem.

Istraživanje provedeno 2011. godine na liječnicima zaposlenim u jedinicama intenzivnog liječenja ukazuje na povećane serumske koncentracije TF-a kao fiziološkog inicijatora zgrušavanja, a njegove povećane razine induciraju blago hiperkoagulabilno stanje²⁴.

Izloženost velikim psihološkim i intelektualnim zahtjevima, vremenskom ograničenju za donošenje odluka, organizacija rada u smjenama i noćni rad kumulativno djeluju kao stresni čimbenik te povećavaju rizik za kardiovaskularne incidente^{12,25}.

Visoka razina stresa na radnome mjestu proporcionalna je riziku za kardiovaskularne incidente putem narušavanja fibrinolize. Između ostalog, dokazana je smanjena aktivnost t-PA, uz povećanje koncentracije PAI-1²⁵.

Sve posljedice kumulativne izloženosti liječničkom poslu nisu do kraja poznate, no zna se da uključuju autonomnu disfunkciju i neuroendokrinu aktivaciju. Također, postoje dokazi da rad u smjenama povećava rizik od koronarne bolesti srca te da čak i kod kratkih epizoda mentalnog stresa dolazi do tranzitorne disfunkcije endotela i aktivacije koagulacije kod zdravih pojedinaca²⁶.

1.2. Cirkadijalni ritam i sustav hemostaze

Cirkadijalni ritam je fenomen prisutan kod živih organizama, a služi boljoj adaptaciji na okoliš. Predstavljaju ga cikličke oscilacije bioloških funkcija s trajanjem jednoga ciklusa od 24 sata. Uključuje odvijanje procesa u organizmu u ovisnosti o vanjskim uvjetima okoliša, kao što su svjetlo i temperatura, odnosno izmjena dana i noći koja se odvija zbog rotacije Zemlje. Cirkadijalni ritam ne ovisi samo o utjecaju svjetla na organizam, već je ovisan i o endogenom satu te ritmu hranjenja.

Ritmička modulacija fizioloških procesa omogućava živim organizmima stvaranje i pohranu energije, rast i dijeljenje stanica, metaboličke i reproduktivne procese ovisne o utjecaju okoliša i

količine svjetla. Centar cirkadijalnog ritma je suprahijzmatička jezgra smještena u hipotalamusu²⁷.

Još su istraživanja provedena 1980-ih pokazala da su kardiovaskularni događaji povezani s cirkadijalnim ritmom. Zamijećeno je da su kardiovaskularni incidenti češći u jutarnjim satima nakon buđenja i započinjanja dnevnih aktivnosti²⁸.

Ovisnost o cirkadijalnom ritmu pokazuju i trombociti. Undar i sur. dokazali su povećanu aktivnost trombocita u jutarnjim satima koristeći se metodom protočne citometrije i antitijela usmjerena na membranski protein alfa-granula trombocita²⁹.

Tamura i sur. istaknuli su utjecaj melatonina na smanjenu proizvodnju dušičnog oksida u endotelu krvnih žila³⁰. Navedeno uz povećanu simpatičku aktivnost tijekom dana olakšava vazokonstrikciju krvnih žila. Istraživanje Bertolucci i sur. pokazalo je cirkadijalne varijacije aktivnosti faktora VII s maksimumom aktivnosti na prijelazu dana u noć. Napominjemo da je istraživanje provedeno na životinjskom modelu, odnosno na miševima, koji su noćne životinje³¹. Mogli bismo zaključiti da povećana aktivnost faktora VII kod miševa početkom noći koincidira s povećanom aktivnosti faktora VII početkom dana kod ljudi. Varijacije aktivnosti faktora VII ovisne su i o ritmu hranjenja.

Istraživanje Iversen i sur. pokazalo je da je aktivnost faktora VIII ovisna o cirkadijalnom ritmu s maksimumom aktivnosti u 8 sati ujutro³². Različiti podaci prisutni su u dostupnoj literaturi za cirkadijalnu promjenu aktivnosti vWF³²⁻³⁴.

Istraživanja Blomback i sur. te Iversen i sur. nisu dokazala promjene koncentracije vWF Ag tijekom dana^{32,33}. Istraživanje Rudnicka i sur. pokazalo je cirkadijalnu varijaciju vrijednosti vWF za oko 10% s maksimumom vrijednosti oko 13 sati³⁴.

Isto istraživanje ukazalo je na maksimalne vrijednosti fibrinogena u prijepodnevnim satima s ukupnom cirkadijalnom promjenom vrijednosti za oko 3%, D-dimera oko 14 sati, s promjenom vrijednosti za oko 10% te CRP-a oko 15 sati, s najvećom 24-satnom varijacijom vrijednosti do 30%. Istraživanje Haus i sur. pokazalo je najniže vrijednosti PV i APTV u jutarnjim satima, s dnevnom varijacijom vrijednosti od 10%³⁵.

Duži niz godina poznato je da fibrinolitička aktivnost pokazuje sinusoidalnu krivulju u periodu od 24 sata s maksimumom aktivnosti u poslijepodnevnim satima. Razlog tome su najviše izmjerene vrijednosti PAI-1 (inhibitora fibrinolize) izmjerene u jutarnjim satima (6 sati), a minimalne vrijednosti u poslijepodnevnim/večernjim satima (između 17 i 21 sat)³⁶. Suprotno tome, aktivnost t-PA je najmanja ujutro³⁷.

1.3. Dosadašnje spoznaje o sustavu hemostaze

Sustav hemostaze u ljudskom tijelu ima ulogu održavanja krvi u tekućem stanju te pri ozljedi krvnih žila zaustaviti krvarenje na mjestu oštećenja. Sustav se sastoji od krvnih žila, trombocita, plazmatskih faktora koagulacije, inhibitora faktora koagulacije i sustava fibrinolize.

Hemostaza se postiže pomoću nekoliko mehanizama: vazokonstrikcijom krvne žile čime se usporava dotok krvi u području ozljede što smanjuje krvarenje, stvaranjem trombocitnog čepa, jer trombociti oslobađaju sadržaj svojih granula i agregiraju na mjestu ozljede, što rezultira stvaranjem primarnog ugruška, koji se učvršćuje fibrinom. Paralelno, započinje i proces uklanjanja neželjenih depozita fibrina enzimskim cijepanjem, čime nastaju topljivi fibrinski fragmenti³⁸. Često se pojam hemostaze i zgrušavanja poistovjećuju, međutim treba naglasiti da je sustav hemostaze širi pojam od samog zgrušavanja te obuhvaća i fibrinolitičku aktivnost.

1.3.1. Primarna faza hemostaze

1.3.1.1. Vazokonstrikcija krvne žile

Prvi događaj koji se zbiva nakon ozljede krvne žile je vazokonstrikcija krvne žile, čime se smanjuje dotok krvi u ozlijeđeno područje, da bi se smanjio gubitak krvi. Posljedica je aktivacije simpatikusa, kontrakcije mišićja u stijenci krvnih žila te oslobađanja vazokonstriktornih supstanci iz ozlijeđenog tkiva i trombocita, prvenstveno tromboksana A₂, serotonina i ADP-a.

1.3.1.2. Stvaranje trombocitnog čepa

Trombociti nastaju u koštanoj srži procesom megakariocitopoeze, odnosno diferencijacijom nezrelih hematopoetskih stanica u megakariocite te fragmentacijom citoplazme zrelih megakariocita. Akumuliraju se na mjestu povrede te se aktiviraju u kontaktu s oštećenim

endotelom. Povećaju se volumenom, formirajući nepravilan oblik s brojnim površinskim nastavcima. Luče brojne supstance koje sadržavaju u granulama. Alfa-granule sadrže proteine kao fibrinogen i vWF, a guste granule sadrže neproteinske komponente kao što su adrenalin, serotonin i adenzin-difosfat (ADP). Time aktiviraju druge trombocite, ali i dovode do vazokonstrikcije krvne žile. Kada dođe do oštećenja krvne žile, iz ekstracelularnog matriksa eksprimiraju se supstance kao npr. fibronektin, laminin, vitronektin, kolagen za koje trombociti imaju receptore te se za njih vežu. Endotel izlučuje vWF, koji omogućava vezivanje trombocita s kolagenom, ali i omogućava povezivanje trombocita.

Endotelne stanice u normalnim uvjetima održavaju trombocite u diskoidnom obliku izlučivanjem tvari koje ih inhibiraju, kao što su prostaglandin I₂ i dušični oksid (NO) te metaboliziranjem trombocitnih agonista kao što su ADP i trombin³⁹.

1.3.2. Sekundarna faza hemostaze

U daljnjem tijeku dolazi do nastupa treće faze hemostaze, a to je zgrušavanje krvi. Proces je posredovan aktivatorskim supstancama iz stijenke krvnih žila, trombocita i plazmatskih proteina, odnosno faktora zgrušavanja, ali i kontraregulatornih inhibitora zgrušavanja. O njihovoj ravnoteži ovisi hoće li doći do zgrušavanja ili ne. U normalnom stanju prevladavaju antikoagulansi, a ako dođe do ozljede, aktiviraju se prokoagulansi. U normalnom stanju gotovo sve supstance koje izazivaju koagulaciju nalaze se u neaktivnom stanju u obliku proenzima. Ako dođe do njihove aktivacije, nastaje kaskadna reakcija gdje jedna supstanca enzimatskim djelovanjem aktivira drugu.

Faktori zgrušavanja su glikoproteini plazme čija se sinteza uglavnom odvija u jetri. Protrombin (FII), prekalikrein, FXII, FXI, FX, FIX i FVII u cirkulaciji se nalaze u obliku proenzima. Tijekom procesa zgrušavanja prelaze u aktivne serinske proteaze, dok su kininogen visoke molekularne mase, TF, FV i FVIII kofaktori³⁸.

1.3.2.1. Kaskadni model hemostaze

Prema kaskadnom modelu, proces zgrušavanja dijeli se na vanjski, unutrašnji i zajednički put zgrušavanja. Uglavnom, nakon ozljede dolazi do aktivacije oba puta te se oni spajaju u

zajednički put. Kao rezultat kaskadnog zbivanja nastaje enzimski kompleks-aktivator protrombina, koji neaktivni protein krvne plazme protrombin prevodi u aktivni trombin. Protrombin je protein koji se nalazi u u krvnoj plazmi u koncentraciji od oko 150 mg/L. Sintetizira se u jetri, a za normalnu sintezu protrombina potreban je vitamin K. Vitamin K potreban je za proizvodnju faktora II (trombin), VII, IX, i X.

Trombin razlaže molekulu fibrinogena na 4 peptida (monomera). Oni se međusobno povezuju formirajući fibrinsku mrežu u koju se hvataju krvne stanice (trombociti, eritrociti, leukociti). U ranoj fazi povezivanja (polimerizacije) monomeri fibrina povezani su samo slabim vodikovim vezama. Pod utjecajem faktora XIII (faktor stabilizacije fibrina) dolazi do stvaranja jačih kovalentnih veza i do stabilizacije krvnog ugruška. Faktor XIII aktivira se djelovanjem trombina koji povratno aktivira faktor VIII.

1.3.2.1.1. Vanjski put zgrušavanja

Vanjski put je glavni put aktivacije zgrušavanja. Njegova najvažnija sastavnica je TF, odnosno tromboplastin (faktor III), transmembranski glikoprotein koji se nalazi u ekstravaskularnom tkivu, prvenstveno na fibroblastima i stanicama glatkih mišića, te se oslobađa ozljedom stijenke krvne žile. Napominjemo da se tkivni faktor osim kod ozljeda može osloboditi i u teškim bakterijskim infekcijama utjecajem bakterijskih endotoksina, što je podloga diseminiranoj intravaskularnoj koagulaciji (DIK).

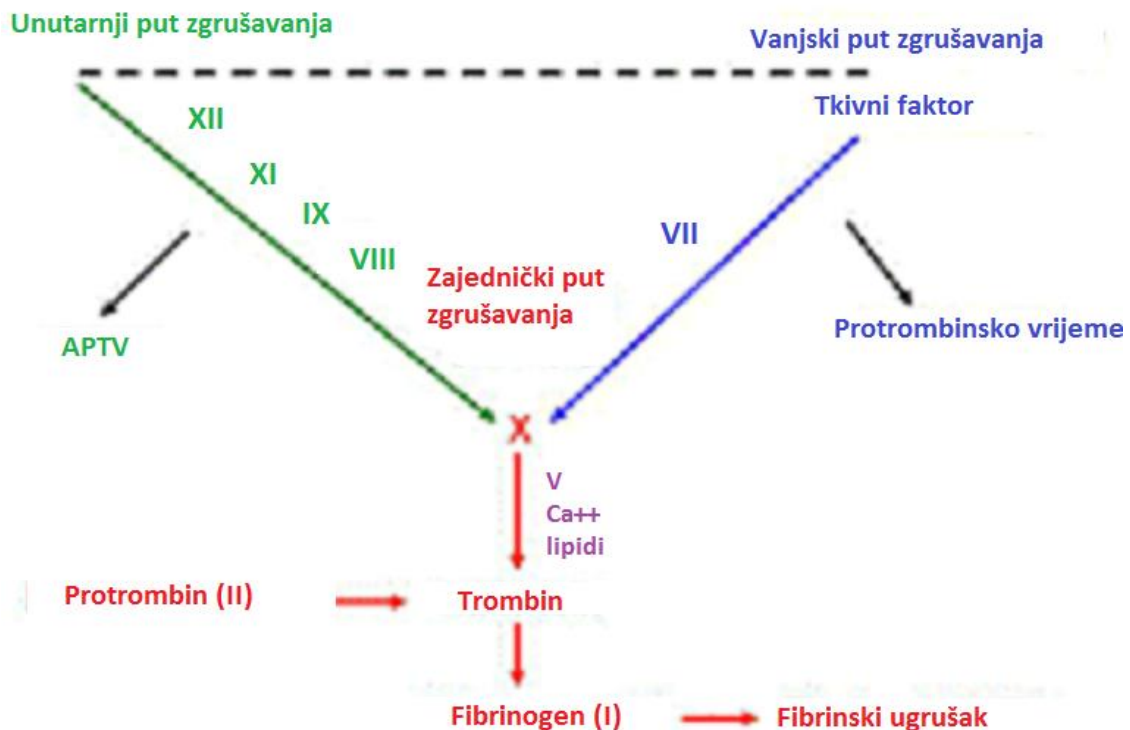
Tkivni faktor (u starijoj literaturi se često označavao kao faktor III) veže se s faktorom VII, aktivira ga te se zajedno s ionima kalcija (u starijoj literaturi su se ioni kalcija često označavali kao faktor IV) aktivira faktor X. Kompleks faktora III i VII aktiviraju još i faktor IX, komponentu unutrašnjeg puta. Time su dva puta zgrušavanja povezana i neodjeljiva.

Aktivirani faktor X (Xa) zajedno s fosfolipidima iz tkivnog faktora te s faktorom V stvara kompleks aktivatora protrombina, koji aktivira neaktivni protrombin u trombin. Faktor V (proakcelerin) je u kompleksu u neaktivnom obliku. Aktivacijom trombina dolazi i do njegove aktivacije. Aktivirani faktor V dodatno ubrzava koagulaciju, tj. aktivaciju trombina.

1.3.2.1.2. Unutarnji put zgrušavanja

Unutarnji put zgrušavanja počinje izlaganjem krvi kolagenu stijenske krvne žile. Kontakt krvi s kolagenom dovodi do aktivacije faktora XII (Hagemanov faktor). Aktivirani faktor XII (XIIa) djeluje na faktor XI te se stvara aktivan oblik uz pomoć kininogena velike molekulske mase, te prekalkreina koji ubrzava proces. Aktivirani faktor XI (XIa) aktivira faktor IX. On zajedno s faktorom VIII i oslobođenim fosfolipidima iz trombocita aktivira faktor X. Faktor X s faktorom V i fosfolipidima stvara kompleks aktivatora protrombina kao kod vanjskog puta te se stvara trombin iz neaktivnog protrombina.

Zaključak je da su oba puta zgrušavanja međusobno povezana, s većom važnosti vanjskog puta zgrušavanja in vivo.



Slika 1: Pojednostavljeni prikaz koagulacijske kaskade

1.3.2.2. Stanični model hemostaze

Prema staničnom modelu, proces zgrušavanja dijeli se u tri faze. U inicijaciji se stvaraju male količine aktiviranih faktora zgrušavanja, u amplifikaciji njihove koncentracije rastu, a u fazi propagacije vežu se za prokoagulantne membrane aktiviranih trombocita te se stvara fibrinski ugrušak.

Kad se ugrušak formira, dolazi do njegove retrakcije i istiskivanja seruma. Za proces retrakcije nužni su trombociti koji sadrže kontraktilne proteine. Kod aktivacije sustava zgrušavanja vrijedi mehanizam pozitivne povratne sprege, jer se amplifikacijom povećava broj i aktivira sve veći broj komponenti. Stanični model hemostaze se danas shvaća kao in vivo ispravan, dok se kaskadni model više koristi za razumijevanje in vitro koagulacijskih testova.

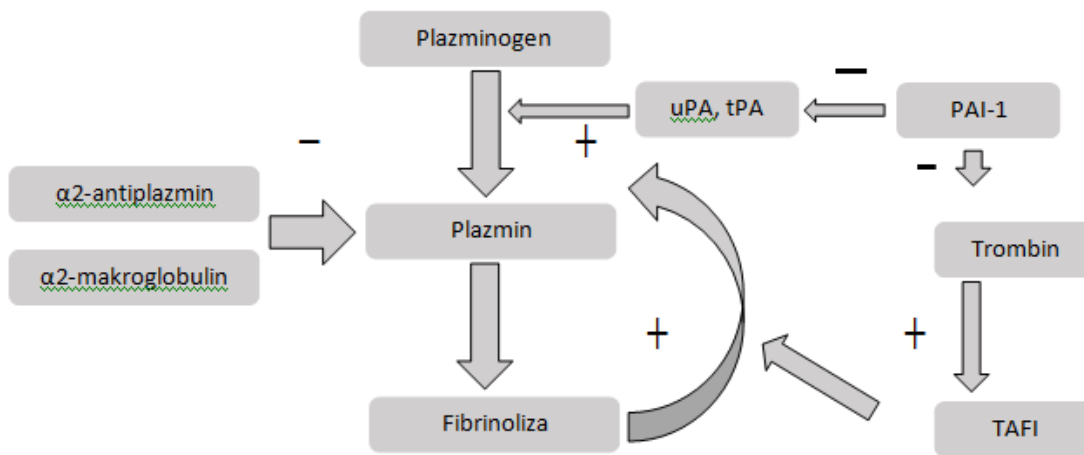
1.3.3. Sprečavanje nastanka krvnog ugruška

U ovaj sistem spadaju inhibitori koagulacije u krvnoj plazmi, fibrinolitički sistem (sistem za razgradnju krvnog ugruška) i faktori u stijenci krvnih žila, odnosno endotela. Pretjerano i nekontrolirano stvaranje ugruška sprečava fiziološki sustav inhibitora, kao što je antitrombin (III), koji spada u skupinu inhibitora serin-proteaze. Antitrombin inaktivira trombin i FXa. Sintetizira se u jetri. Inhibitor puta tkivnog faktora (TPFI) je inhibitor aktivacije vanjskog puta zgrušavanja. Djeluju tako da se vežu za aktivna mjesta aktiviranih faktora zgrušavanja. Trombomodulin se nalazi na površini endotela. Zadatak mu je vezati trombin te ga tako inaktivirati. Kompleks trombina i trombomodulina aktivira protein C, koji zajedno s proteinom S inaktivira FVa i FVIIIa. Heparin je polisaharid koji se nalazi u bazofilima i mastocitima, ali i u endotelu, te zajedno s antitrombinom inaktivira faktore II i X.

Fibrinolitički sustav dovodi do razgradnje unakrsno povezanog fibrina te time i krvnog ugruška. Ovaj sustav sastoji se od niza enzima aktiviranih kaskadnom reakcijom. Najvažniji proces je aktivacija neaktivnog proteina krvne plazme plazminogena u plazmin, koja se odvija pomoću tkivnog aktivatora plazminogena i urokinaze. t-PA uglavnom nastaje u endotelnim stanicama, a u krvi se nalazi u kompleksu s PAI-1. Urokinaza se sintetizira u epitelnim stanicama bubrežnih tubula te se u urinu nalazi u visokim koncentracijama. Plazmin ima veliki afinitet za

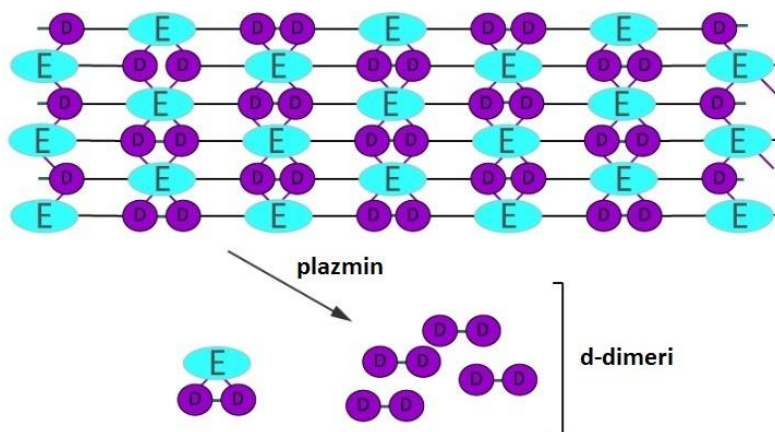
fibrin te se nakuplja u krvnom ugrušku (jer je bogat fibrinom). Aktivira se vezivanjem za trombin te razgrađuje krvni ugrušak. Slobodni plazmin se u krvi brzo inaktivira djelovanjem enzima $\alpha 2$ -antiplazmina i $\alpha 2$ -makroglobulina.

U plazmi se nalazi i inhibitor aktivatora plazmina, koji sprečava njegovo djelovanje.



Slika 2: Prikaz aktivatora i inhibitora sustava fibrinolize

Monomeri fibrina umreženi su stvarajući fibrinsku nit na način da su dva monomera spojena preko D-domena s trećim preko njegove E-domene. Plazmin cijepa fibrinsku molekulu između D- i E-domene te nastaju topljivi fragmenti fibrina koji sadrže različiti broj D-D domena, odnosno D-dimera.



Slika3: Prikaz d-dimera

Endotel je unutrašnji sloj krvne žile, normalno je gladak i negativno elektriziran. Ima sposobnost sekrecije dušičnog monoksida, prostaciklina, t-PA te ima antikoagulantno djelovanje sprečavajući agregaciju trombocita. Na njegovoj se površini nalazi ranije spomenuti trombomodulin koji inaktivira trombin, a aktivira protein C. Kod ozljede njegova površina postaje hrapava uz smanjeno lučenje zaštitnih faktora, a povećanu sekreciju vWF i izlaganja kolagena čime se aktivira proces zgrušavanja i olakšava agregacija trombocita.

1.3.4. Laboratorijski pokazatelji hemostaze i upale

Rezultati dosadašnjih istraživanja utjecaja stresa na sustav hemostaze i upale pokazali su, kao što je već navedeno u uvodnom dijelu, da je akutni psihosocijalni stres povezan s paralelnom aktivacijom sustava zgrušavanja i fibrinolize, s time da je zgrušavanje aktivirano u većoj mjeri što dovodi do pomaka ravnoteže prema hiperkoagulabilnosti.

Tablica 1: Promjene parametara hemostaze u akutnom stresu (von Kanel i sur., 2015.)¹⁰

Fibrinogen	↑
D-dimeri	↑
Faktor VII	↑
Faktor VIII	↑
Faktor XII	↑
vWF Ag	↑
TAT	↑
PV	↑
t-PA	↑
Aktivnost trombocita	↑
APTV	↓

Akutni psihosocijalni stres dovodi i do aktivacije sustava inflamacije, rezultirajući proinflamatornim promjenama na endotelu krvnih žila. Paralelna aktivacija sustava zgrušavanja i upale može biti okidač za ubranu aterosklerozu i tromboembolijske incidente.

Zbog poznate važnosti navedenih čimbenika razvijene su metode njihova određivanja. Navedene koagulacijske pretrage i parametri hemostaze koriste se za procjenu stanja zgrušavanja

i fibrinolize. Te pretrage i parametri mogu ukazati na aktivaciju sustava zgrušavanja i fibrinolize za vrijeme stresnog stanja. Parametri poput D-dimera, trombin-antitrombin (TAT) kompleksa, plazmin-antiplazmin (PAP) kompleksa su mnogo osjetljiviji u bilježenju aktivacije sustava hemostaze od uobičajenih rutinskih metoda kao što su to PV, APTV, TV i fibrinoliza. U zasebnom odjeljku opisan je CRP protein kao pokazatelj upalnog zbivanja, čija se koncentracija također povećava u stresu posredstvom proupalnih citokina.

1.3.4.1. Protrombinsko vrijeme

Protrombinsko vrijeme (PV) je metoda kojom se mjeri vrijeme zgrušavanja plazme u prisutnosti optimalne koncentracije tkivnog tromboplastina i prikazuje djelotvornost vanjskog puta zgrušavanja koji uključuje faktore zgrušavanja II, V, VII, X i fibrinogen. Tromboplastin je tkivni ekstrakt dobiven od različitih izvora (ljudskog i životinskog ili pak rekombinantnom tehnologijom). Svaki pripravak ima različitu osjetljivost na nedostatak pojedinih faktora zgrušavanja. Razlika može postojati u istim pripravcima koji su proizvedeni u različito vrijeme. Zato je potrebno da se svaki pripravak baždari prema internacionalnom referentnom tromboplastinu i ima naznačenu vrijednosti internacionalnog indeksa osjetljivosti (engl. International Sensitivity Indeks, ISI)⁴⁰. Metoda se izvodi tako da se ispitanikovo plazmi doda kalcijev tromboplastin, te se registrira vrijeme stvaranja ugruška. Analiza se izvodi paralelno uz istodobno izvođenje analize s normalnom kontrolnom plazmom kao uzorkom.

Normalni raspon iznosi >0.70 (udjel). Rezultati se izražavaju i kao omjer (PR) srednjih vrijednosti protrombinskog vremena (s) ispitanikove i normalne kontrolne plazme. Bolesnicima na oralnoj antikoagulantnoj terapiji antagonistima K-vitamina (varfarin) potrebno je izražavati rezultat kao internacionalni normalizirani omjer (eng. International Normalized Ratio, INR). $INR = PR^{ISI}$ (ISI predodređuje nagib pravca koji se dobije nakon sporedbe ispitivanog tromboplastina s referentnim pripravkom Svjetske zdravstvene organizacije ili sekundarnim standardom)⁴⁰. PV je vrijedna probirna pretraga za koagulacijske otklone u nizu stanja (npr. manjak vitamina K, bolesti jetre, DIK) te preoperativno.

1.3.4.2. Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme

Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTV) je metoda koja otkriva otklone unutarnjeg i zajedničkog puta zgrušavanja (prekalikrein, kininogen visoke molekulske mase, F I, II, V, VIII, IX, XI i XII). APTV ukazuje na manjak svih faktora zgrušavanja osim F VII (mjeri ga PV) i F XIII. Normalni vrijednosni raspon iznosi 28–34s. Uredan rezultat govori da plazma sadrži najmanje 30% svih navedenih faktora koagulacije.

Do produženja PV-a i APTV-a ne dolazi dok manjak jednog ili više odgovornih faktora ne dosegne 70%. Da bi se razlučio takav manjak od nazočnosti inhibitora, radi se test miješanja. Pretraga se ponavlja nakon miješanja ispitivane s normalnom plazmom u omjeru 1:1. Takva smjesa osigurava oko 50% normalnih razina svih faktora; ako se time ne postigne skoro uredan nalaz, u bolesnikovoj plazmi postoje inhibitori.

Heparin produžava APTV pa ova pretraga često služi za praćenje heparinske terapije te za otkrivanje manjka faktora unutarnjeg i zajedničkog puta ili postojanja njihovih inhibitora. U inhibitore koji produžavaju APTV spadaju autoprotutijela na FVIII kao i protutijela na komplekse protein-fosfolipid („lupus antikoagulans”). Također, APTV može biti produžen i zbog drugih stanja, kao što su nedostatak FXI, XII, prekalikreina.

1.3.4.3. Trombinsko vrijeme

Trombin pretvara fibrinogen u fibrin, koji je u biti posljednji korak koagulacijskog niza. Trombinsko vrijeme je metoda koja odražava pretvorbu fibrinogena u fibrinski monomer uz pomoć trombina te polimerizaciju fibrinskih monomera, a određuje se tako da se u citratnu plazmu dodaje mala količina trombina te se mjeri vrijeme nastajanja ugruška. Budući da dodavanje trombina sprečava sve ostale korake koji prethode pretvaranju fibrinogena u fibrin, ovaj test ne daje podatke o unutarnjem i vanjskom putu zgrušavanja. Međutim, može pružiti korisne podatke o svim poremećajima ili teškoćama koje mogu postojati pri pretvaranju fibrinogena u fibrin.

Patološke vrijednosti trombinskog vremena prisutne su, dakle, kod različitih deficijencija (hipofibrinogenemija) ili abnormalnosti (disfibrinogenemija) fibrinogenske molekule. Nadalje, prisutnost heparina ili spojeva sličnih heparinu, inhibitora trombina kao što je hirudin, kvantitativni manjak fibrinogena ili hiperfibrinogenemija (koncentracija >400 mg/dl), prisustvo razgradnih produkata fibrina ili fibrinogena, patoloških inhibitora te paraproteinemije također dovode do patoloških vrijednosti TV-a⁴¹. Normalan raspon vrijednosti TV je od 14 do 21s.

1.3.4.4. Fibrinoliza

Fibrinoliza je proces koji podrazumijeva razgradnju ugruška koji se formira u krvnim žilama. Prilikom procesa fibrinolize, fibrinska mrežica koja je važan faktor u građi ugruška razgrađuje se plazminom, a manji dijelovi uklanjaju se djelovanjem proteaza bubrega i jetre. Vrijeme fibrinolize izražava se u minutama te referentni raspon iznosi 150 – 210 minuta.

Sustavi zgrušavanja i fibrinolize djeluju paralelno da bi osigurali održavanje krvi u tekućem stanju, njezin uredan protok i zaustavljanje krvarenja u slučaju ozljede uz popratni oporavak manjih lezija krvne stijenke. Poznato je duži niz godina da fibrinolitička aktivnost u krvi pokazuje varijacije u obliku sinusoide tijekom dvadesetičetiri sata. Aktivnost fibrinolize postupno se povećava tijekom dana, dosežući maksimum aktivnosti oko 18 h te se potom spuštajući na najnižu razinu u ranojutarnjim satima (3 – 4 h).

1.3.4.5. Fibrinogen

Fibrinogen je protein koji se sintetizira u jetri. Sastoji se od dvije podjedinice od po tri različita polipeptidna lanca povezana disulfidnim vezama ($A\alpha$, $B\beta$ i γ). Trombin uklanja N-terminalne fibrinopeptide A i B, pri čemu nastaju monomeri fibrina koji se dalje umrežuju preko lizinskih ostataka tvoreći fibrinski ugrušak³⁹. Osim što je faktor koagulacijske kaskade, važan je i reaktant akutne upale. Njegova koncentracija povećavase ne samo u upalnim zbivanjima, nego i u stresnim situacijama te se smatra rizičnim faktorom tromboembolijskih, odnosno kardiovaskularnih incidenata jer sudjeluje u formiranju ugruška⁴².

Nalazi se u krvi u koncentraciji od 2 do 4 g/L. Poluživot mu je 4 dana. Vrijednosti fibrinogena povišene su u trudnoći. Fibrinogen je protein akutne faze pa do povećanja njegovih vrijednosti dolazi kod upale, infekcije, zloćudnih bolesti, traume, nakon operativnog zahvata, opekline, akutnog infarkta miokarda. Kronični aktivni upalni procesi kao npr. reumatske bolesti ili kolagene vaskularne bolesti povezane su s duljim povišenjem razine fibrinogena.

1.3.4.6. D-dimeri

D-dimeri prvi su puta opisani 1970. godine, a dijagnostički su se počeli koristiti 1990-ih. D-dimeri jedinstveni su pokazatelji degradacije fibrina. Stvaraju se konstitutivnom enzimatskom aktivnošću triju enzima: trombina, aktiviranog faktora XIII i plazmina. Oni su mali proteinski fragmenti prisutni u krvi nakon razgradnje krvnog ugruška procesom fibrinolize. Nazvani su tako jer sadrže dva D-fragmenta fibrinske molekule povezana unakrsnom vezom⁴³.

Prisutnost D-dimera u krvi odgovara prethodnom stvaranju i razgradnji fibrinskog ugruška. U normalnim uvjetima 2% – 3% plazmatskog fibrinogena fiziološki prelazi u unakrsno vezani fibrin uz kasniju razgradnju. Posljedično su male količine D-dimera normalno prisutne u plazmi zdravih pojedinaca. Kad se aktiviraju sustavi zgrušavanja i fibrinolize in vivo posljedično se povećava i koncentracija D-dimera u plazmi. Njihova se koncentracija smanjuje kao odgovor na antikoagulantnu terapiju i regresiju simptoma. Poluvrijeme raspada plazmatskog proteina je oko 8 sati. Njihova se eliminacija odvija uglavnom putem bubrega i retikulo-endotelnog sustava. Normalne vrijednosti D-dimera jednake su ili manje od 0,5 µg/mL.

1.3.4.7. Faktor VIII

Faktor VIII (FVIII) je važan faktor koagulacijske kaskade, također u literaturi poznat kao antihemofiljski faktor (AHF). Faktor VIII stvara se u endotelu jetrenih sinusoida, ali i endotelnim stanicama izvan jetrenog parenhima, kao što je glomerularni, tubularni i vaskularni endotel širom organizma. Ova bjelancevina cirkulira u krvi u inaktivnom obliku, vezana za von Willebrandov faktor sve dok ne dođe do ozljede stijenke krvne žile. Kao odgovor na ozljedu i tkivno oštećenje te aktivacijom trombina (faktor IIa) dolazi do aktivacije i faktora VIII te njegova

odvajanja od vWF. Aktivirani oblik proteina (VIIIa) djeluje na aktivaciju drugog koagulacijskog čimbenika, faktora IX, uz posljedičnu kaskadnu reakciju kojom se naposljetku stvara krvni ugrušak. Faktor VIII je kofaktor aktiviranom faktoru IX (IXa) te oni zajedno aktiviraju faktor X. Faktor X sa svojim kofaktorom Va djeluje na trombin. Trombin cijepa fibrinogen u fibrinske monomere koji se polimeriziraju i unakrsno vezuju posredstvom faktora XIII u krvni ugrušak.

Poluživot faktora VIII u inaktivnom obliku, odnosno vezanog na vWF je između 9 i 18 sati, u prosjeku oko 12 h. Kad se faktor VIII aktivira i odvoji od VWF, proteolitički se inaktivira dominantno putem aktiviranog proteina C i faktora IXa, te se brzo uklanja iz cirkulacije, za oko 1-2 h. Normalni proces hemostaze zahtijeva barem četvrtinu normalne aktivnosti faktora VIII (25%). Referentni raspon aktivnosti faktora VIII iznosi 70-150%.

1.3.4.8. Von Willebrandov faktor

Von Willebrandov faktor (VWF) je glikoprotein koji se stvara u endotelu (Weibel-Palade tjelešca) i subendotelu krvnih žila te megakariocitima u koštanoj srži. Posljedično se nalazi u trombocitima (α -granule trombocita). Nakon lučenja veže se za receptor koji se nalazi na membrani Trc (glikoprotein Ib-IX) te potiče adheziju trombocita i njihovo spajanje sa žilnim zidom, tj. poveznik je trombocita i kolagenih fibrila krvnih žila izloženih nakon njihova oštećenja. VWF je neophodan i za održavanje normalnih količina faktora VIII u plazmi. Razine mu se povećavaju u stresnim situacijama te u tjelovježbi, trudnoći, upalnim i infektivnim zbivanjima. Razgradnja multimera vWF posredovana je enzimom ADAMTS13 (akronim za „adisintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type 1 motif no. 13“).

vWF je nazvan u spomen na dr. Erika von Willebranda (1870. –1949.), finskog liječnika koji je prvi puta 1924. godine opisao nasljedni poremećaj zgrušavanja krvi u obiteljima na otočju Åland, koji su imali povećanu sklonost mukokutanom krvarenju, uključujući i obilna menstrualna krvarenja. Prvi puta je ovaj protein izoliran 1970. godine.

Von Willebrand Ristocetin Cofactor (vWF:RiCo) test mjeri sposobnost bolesnikove plazme da aglutinira trombocite u prisutnosti antibiotika ristocetina. On inducira aglutinaciju koja je proporcionalna koncentraciji i funkcionalnoj aktivnosti vWF u plazmi. Normalne vrijednosti su 70 – 150%.

1.3.4.9. Trombin-antitrombin kompleksi

Aktivnost trombina inhibirana je antitrombinom III (AT III) u svrhu sprečavanja pretjeranog zgrušavanja, rezultirajući nastankom trombin-antitrombin kompleksa (TAT). Kompleksi nastaju kada trombin pocijepa vezu blizu C-terminalnog dijela AT III, stvarajući kovalentnu vezu s antitrombinom, rezultirajući molekulom težine 96 kDa. Inhibicija aktivnosti trombina posredstvom antitrombina može se ubrzati do 1000 puta adekvatnom koncentracijom heparina. TAT kompleksi uklanjaju se iz cirkulacije vežući se za receptore koji se nalaze na hepatocitima te imaju poluvijek života oko 15 minuta. Referentni raspon koncentracije TAT kompleksa kod zdravih ljudi je od 0,8 do 5 $\mu\text{g/L}$ ⁴⁴.

Povećane koncentracije TAT kompleksa ukazuju na prethodno povećano stvaranje trombina i fibrina te se smatraju indikatorom hiperkoagulabilnosti, odnosno ukazuju na prethodnu aktivaciju koagulacijske kaskade. Istraživanja van Kanel i suradnika te Kawano i suradnika dokazala su povezanost akutnog mentalnog stresa s povećanjem koncentracije TAT kompleksa posredstvom kateholamina na beta-2 adrenergičke receptore^{45,46}.

1.3.4.10. Plazmin-antiplazmin kompleksi

Uklanjanje fibrinske mrežice iz krvožilja proteolitičkom degradacijom procesom fibrinolize važno je radi održavanja homeostatske ravnoteže i održavanja krvi u tekućem stanju. Ključni enzim sustava fibrinolize je plazmin. Osim fibrinolitičke aktivnosti, plazmin također ima bitnu ulogu u odvijanju procesa ateroskleroze⁴⁷. Aktivnost plazmina regulirana je u plazmi njegovim glavnim inhibitorom α 2-antiplazminom (molekula jednostrukog lanca od 70 kD), stvarajući kompleks plazmin- α 2-antiplazmin (PAP kompleksi). Kada je plazmin vezan za fibrin, zaštićen je od inaktivacije α 2-antiplazminom. Međutim, kada dođe do potpune razgradnje fibrina, alfa-2 antiplazmin odmah se veže za oslobođeni plazmin^{48,49}.

Stvaranje PAP kompleksa je proces koji se odvija u dvije faze. Prvo, lizinska vezna mjesta na plazminu vezuju se za karboksi-terminalne regije α 2-antiplazmina stvarajući reverzibilni kompleks. U drugoj fazi, odstranjenje specifične peptidne veze inhibitora vodi

formaciji stabilnog, ireverzibilnoga kompleksa. Kompleksi se brzo uklanjaju iz cirkulacije putem jetre. Napominjemo da se u nekim ispitivanjima, ali u in vitro uvjetima, dokazala regeneracija, odnosno ponovna aktivacija plazmina iz ovakvih kompleksa uz paralelnu inaktivaciju α 2-antiplazmina⁵⁰. Poluživot PAP kompleksa je oko 12 h⁵¹. Referentni raspon koncentracije PAP kompleksa u plazmi kod zdravih odraslih ljudi je 368 \pm 188 μ g/L. Nije utvrđena povezanost koncentracije s dobnim rasponom⁵².

Zaključno, plazmin-antiplazmin kompleksi su pokazatelji skorašnje fibrinolitičke aktivnosti. Njihova koncentracija povećana je u svim stanjima aktivirane fibrinolize kao što je sepsa, akutni srčani infarkt, zloćudne bolesti, šećerna bolest, trudnoća ili pak trombolitička terapija⁵³.

1.3.4.11. C-reaktivni protein

C-reaktivni protein (CRP) je bjelančevina prstenaste strukture, čija je koncentracija indikator upalnog zbivanja u organizmu. Sintetizira se u hepatocitima, a razgrađuju je makrofazi. Kao što je već navedeno u uvodnom dijelu, psihosocijalni stres ima značajan doprinos bazalnoj sistenskoj upali u organizmu.

Na povišenje koncentracije CRP-a u krvi osim stresa utječu brojni faktori: poremećaji sna, pušenje, socioekonomski faktori, ekstremna hladnoća. Hormoni/citokini koji djeluju na povećanje koncentracije CRP-a su IL-6, IL-1 β , IL-17, TNF- α i leptin. Na smanjenje koncentracije CRP-a može utjecati životni stil u vidu tjelesne aktivnosti/vježbanja, umjerenoga gubitka na težini, uravnotežene prehrane, umjerene konzumacije alkohola, seksualne aktivnosti i optimizma. Normalan raspon vrijednosti CRP-a je od 1,0 do 3,0 mg/L. Poluživot mu je oko 19 sati.

2. HIPOTEZA

Poznato je da su zdravstveni radnici, a posebice liječnici izloženi velikim razinama stresa. Najčešći navedeni stresori u dostupnoj literaturi su bili hitna stanja, produljeno radno vrijeme, 24-satna dežurstva, noćni i smjenski rad. Dosadašnja istraživanja su pokazala da produljeno radno vrijeme i noćne smjene koreliraju s aktivacijom hemostatskog sustava narušavajući ravnotežu između sustava zgrušavanja i fibrinolize, što rezultira hiperkoagulabilnim stanjem.

Stres na radnom mjestu također ima značajan doprinos bazalnoj sistemske upali u organizmu posredstvom povećane razine cirkulirajućih interleukina i CRP-a što dovodi do stvaranja proinflamatornih promjena na endotelu krvnih žila. Sve posljedice kumulativne izloženosti liječničkom poslu nisu do kraja poznate. Obzirom da u dostupnoj literaturi zapravo nema puno radova koji su istraživali utjecaj produljenog radnog vremena, odnosno 24-satnog dežurstva na sustav hemostaze, reflektirajući zapravo stanje na endotelu krvnih žila, izazov je bio provesti ovo istraživanje kao dopunu dosadašnjim saznanjima. Obzirom na navedeno svrha ovog rada je bila istražiti da li produljeno radno vrijeme, odnosno 24-satna dežurstva kod liječnika na specijalističkom usavršavanju ima utjecaj na aktivaciju hemostatskog sustava.

Na temelju navedenih opservacija, postavljena je slijedeća hipoteza:

Produljeno radno vrijeme kod zdravstvenih djelatnika čiji je rad povremeno organiziran kroz dvadesetčetverosatna dežurstva ima utjecaj na aktivaciju hemostatskog sustava povećavajući koncentraciju i aktivnost prokoagulantnih parametara, a usporavajući fibrinolizu izazivajući hiperkoagulabilnost krvi.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Glavni cilj ovog istraživanja je bio istražiti da li rad liječnika organiziran u obliku povremenog dvadesetčetverosatnog dežurstva aktivira hemostatski sustav dovodeći do hiperkoagulabilnosti krvi, kao rizika za kasnije tromboembolijske i kardiovaskularne incidente uzrokujući povećani morbiditet i raniji mortalitet.

Specifični ciljevi istraživanja su:

1. Odrediti koncentracije fibrinogena, D-dimera, trombin-antitrombin i plazmin antiplazmin kompleksa, faktora VIII, aktivnost von Willebrandova faktora, odrediti protrombinsko vrijeme, INR, aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme, trombinsko vrijeme, vrijeme fibrinolize, CRP.
2. Odrediti dinamiku dobivenih vrijednosti i usporediti je s vrijednostima kontrolne skupine.
3. Istražiti da li postoje veće dnevne varijacije kod prve skupine ispitanika u odnosu na kontrolnu skupinu.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ispitanici

Ispitanici su liječnici na specijalističkom usavršavanju u dobi od 25 do 35 godina kojima je rad povremeno organiziran u obliku 24-satnog dežurstva. Ukupni broj sudionika je 60, od toga podjednak broj liječnika ispitanika (30) i liječnika u kontrolnoj skupini (30). U skupini ispitanika bilo je 15 žena i 15 muškaraca. Kontrolnu skupinu činili su liječnici iste etničke i dobne skupine, ali koji imaju dnevno radno vrijeme u trajanju od osam sati. U toj skupini bilo je 19 žena i 11 muškaraca.

Iz istraživanja su isključene trudnice, korisnice hormonske kontracepcije, osobe s pozitivnom anamnezom tromboembolijskih incidenata i endokrinoloških bolesti, nikotinizma, osobe s akutnom infektivnom bolesti (CRP ≥ 5 mg/L), BMI $< 18,5$ i > 25 kg/m², te oni ispitanici kod kojih je vrijeme proteklo od zadnjeg dežurstva kraće od pet dana kako bi dobiveni rezultati bili posljedica samo akutne izloženosti stresu na poslu.

Istraživanje je provedeno u Kliničkom bolničkom centru „Sestre milosrdnice“ , Zagreb u Centru za hitni prijem u razdoblju od travnja do srpnja 2017. godine. Sudjelovanje ispitanika u istraživanju je bilo dobrovoljno. Svi su ispitanici potpisali informirani pristanak i suglasnost na tri venepunkcije u aseptičnim uvjetima, izvedene od stručnog medicinskog osoblja bolničkog centra. Jedini osobni podaci uzeti od ispitanika bili su dob i spol. Prije potpisivanja informiranog pristanka i suglasnosti za venepunkciju, svaki sudionik bio je detaljno informiran s ciljevima i svrhom istraživanja koje je odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu.

4.2. Prikupljanje uzoraka krvi

Uzorci venske krvi ispitanika dobiveni su venepunkcijom iz kubitalne vene na radnome mjestu u tri navrata. Prvo vađenje krvi provedeno je 15 minuta prije početka 24-satnog dežurstva.

Drugo je provedeno 12 sati nakon početka dežurstva. Treće vađenje krvi provedeno je 24 sata nakon početka dežurstva, odnosno na kraju dežurstva. Kontrolama su uzorci venske krvi također vađeni u istim vremenskim točkama. Mjesto uboda trebalo je prethodno dezinficirati alkoholom i pustiti da se osuši, dok je podvezu, koja se koristi za povećanje tlaka u venama kako bi bile vidljivije, trebalo držati najviše minutu, kako ne bi došlo do hemokoncentracije. Korištene epruvete s vakuumom osigurale su odgovarajući volumen krvi, u epruветama s antikoagulansom omjer krvi i antikoagulansa bio je 10:1 (9 dijelova krvi i 1 dio antikoagulansa). Krv i antikoagulans trebali su se odmah promiješati kako bi se spriječilo in vitro zgrušavanje, a uzorcikoj i sadrže vidljive ugruške nisu se analizirali. Uzorci su se do laboratorija prenosili na sobnoj temperaturi jer hlađenjem može doći do aktivacije trombocita i FVII te do gubitka dijela FVIII i vWF.

Određivani parametri su koncentracija fibrinogena, D-dimera, trombin-antitrombin i plazmin-antiplazmin kompleksa, aktivnost faktora VIII, aktivnost von Willebrandova faktora, protrombinsko vrijeme, INR, aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme, trombinsko vrijeme, vrijeme fibrinolize, CRP.

Ispitanicima je krv uzorkovana u standardne epruvete s podtlakom, Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Austrija). Za pretrage hemostaze (PV, INR, APTV, TV, FVIII, vWF, TAT kompleksi, PAP kompleksi, fibrinogen, D-dimeri, fibrinoliza) korištene su epruvete s dodatkom 3,2 %-tnog natrijeva citrata, a serum za određivanje CRP-a dobiven je uzimanjem krvi u epruvete s dodatkom aktivatora zgrušavanja. Pola sata nakon uzorkovanja uzorci krvi su centrifugirani 10 minuta na 4000 okretaja. Pretrage PV, INR, APTV, TV, fibrinogen, fibrinoliza i CRP učinjeni su u roku dva sata od uzorkovanja, a uzorci za određivanje FVIII, vWF, TAT i PAP kompleksa i D-dimera skladišteni su na -20°C do analize, ne dulje od mjesec dana.

4.3. Laboratorijska obrada uzoraka krvi

Određivanje PV-a, INR-a, APTV-a, TV-a, aktivnosti FVIII i vWF, koncentracije fibrinogena i D-dimera učinjeno je na koagulacijskom analizatoru BCS XP (Siemens, Marburg, Njemačka) s originalnim reagensima i po protokolu proizvođača.

4.3.1. Protrombinsko vrijeme (PV) i INR

Za određivanje aktivnosti PV i INR korišten je reagens Innovin (Siemens, Marburg, Njemačka). Postotak aktivnosti PV-a mjeri se koagulometrijskom metodom pri čemu se mjeri vrijeme (u sekundama) potrebno za stvaranje fibrinskog ugruška nakon inkubacije plazme siromašne trombocitima s optimalnom količinom tkivnog tromboplastina i kalcijevih iona. Brzina stvaranja ugruška razmjerna je aktivnosti protrombinskog vremena u uzorku, a analizator preračunava izmjereno vrijeme u postotak aktivnosti od normale na temelju kalibracijske krivulje dobivene komercijalnim kalibracijskim plazmama.

Brzina stvaranja ugruška obrnuto je razmjerna INR-u. Izmjereno vrijeme u sekundama analizator preračunava u INR jedinice izračunane iz kalibracijske krivulje dobivene uporabom komercijalnih kalibracijskih plazmi.

4.3.2. Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTV)

Određivanje APTV-a učinjeno je pomoću reagensa Actin FS (Siemens, Marburg, Njemačka), a temelji se na koagulometrijskoj metodi. Inkubacijom plazme s optimalnom količinom fosfolipida i površinskog aktivatora uz dodatak kalcijevih iona pokreće se aktivacija čimbenika unutarnjeg puta zgrušavanja što rezultira pretvorbom fibrinogena u fibrin te se turbidimetrijski mjeri vrijeme (u sekundama) potrebno za stvaranje fibrinskog ugruška.

4.3.3. Trombinsko vrijeme (TV)

Trombinsko vrijeme određeno je koagulometrijskom metodom uz reagens BC Thrombin (Siemens, Marburg, Njemačka). Metoda se temelji na određivanju vremena zgrušavanja citratne plazme nakon dodatka optimalne količine trombinskog reagensa. Trombin iz reagensa prevodi fibrinogen u fibrin te se turbidimetrijski mjeri vrijeme (u sekundama) potrebno za stvaranje fibrinskog ugruška.

4.3.4. Faktor VIII (FVIII)

Određivanje aktivnosti čimbenika VIII učinjeno je pomoću plazme deficitantne čimbenikom VIII (FVIII, Siemens, Marburg, Njemačka). Aktivnost FVIII određuje se koagulometrijskom metodom koja se temelji na sposobnosti plazme ispitanika da korigira aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme u plazmi deficitantnoj čimbenikom VIII. Aktiviranjem unutarnjeg puta zgrušavanja krvi dodatkom APTV reagensa, brzina nastanka fibrinskog ugruška ovisi isključivo o prisutnosti čimbenika VIII u plazmi ispitanika. Analizator preračunava izmjereno vrijeme u postotak aktivnosti od normale na temelju kalibracijske krivulje dobivene komercijalnom kalibracijskom plazmom.

4.3.5. Aktivnost von Willebrandovog faktora (vWF)

Za određivanje aktivnosti vWF korišten je reagens BC von Willebrand (Siemens, Marburg, Njemačka). Ovom metodom određuje se funkcija vWFu adheziji trombocita posredovanom ristocetinom kao kofaktorom. Plazmi ispitanika dodaje se reagens koji sadrži ristocetin i stabilizirane trombocite pri čemu nastaju aglutinirani trombociti koji smanjuju zamućenost reakcijske smjese što se mjeri turbidimetrijski. Intenzitet promjene zamućenosti razmjernan je aktivnosti vWF u plazmi ispitanika. Aktivnost vWF čimbenika u plazmi izračunava se u postotak od normale na temelju kalibracijske krivulje.

4.3.6. D-dimeri

Koncentracija D-dimera određena je pomoću reagensa Innovance D-dimer (Siemens, Marburg, Njemačka), imunoturbidimetrijskom metodom s monoklonskim antitijelima specifičnima za epitope koji se nalaze na fibrinskom fragmentu D-dimer. Imunokemijska reakcija nastala reakcijom D-dimera u plazmi i monoklonskih antitijela detektira se turbidimetrijski pri čemu je porast apsorpcije na 405 nm razmjernan koncentraciji D-dimera u uzorku plazme.

4.3.7. Fibrinogen

Određivanje koncentracije fibrinogena učinjeno je pomoću reagensa Multifibrena (Siemens, Marburg, Njemačka). Uzorku plazme ispitanika dodaje se trombinski reagens u suvišku što dovodi do pretvorbe fibrinogena u fibrin. Mjeri se vrijeme zgrušavanja u sekundama pri čemu je brzina stvaranja ugruška razmjerna koncentraciji fibrinogena u plazmi. Analizator preračunava izmjereno vrijeme u koncentraciju (g/L) na temelju kalibracijske krivulje dobivene komercijalnim kalibracijskim plazmama.

4.3.8. Plazmin – antiplazmin kompleksi (PAP kompleksi)

Mjerenje koncentracije PAP kompleksa učinjeno je pomoću komercijalnog test paketa PAP ELISA (DRG Instruments GmbH, Marburg, Njemačka) „sendvič“enzim imunoabsorbent testom (ELISA). U prvoj reakciji PAP iz uzorka ispitanika veže se za monoklonsko antitijelo (PAP-6) kojim je obložena površina mikrotitarske pločice, a nevezani fragmenti se isperu. Potom se, u drugoj reakciji, slobodne PAP determinate vežu za peroksidazom konjugirana antitijela na plazminogen, a suvišak nevezanih konjugata se ispere. Dodatkom kromogenog supstrata odvija se enzimska reakcija koja se zaustavlja dodatkom razrijeđene sulfatne kiseline (stop-otopina) te se fotometrijski mjeri intenzitet nastalog obojenja na 450 nm. Intenzitet obojenja proporcionalan je koncentraciji PAP u uzorku ispitanika, a izračunava se pomoću kalibracijske krivulje.

4.3.9. Trombin – antitrombin kompleksi (TAT kompleksi)

Za određivanje koncentracije TAT kompleksa korišten je komercijalni test paket Enzygnost® TAT micro (Siemens, Marburg, Njemačka) koji se temelji na „sendvič“enzim imunotestu. U prvoj reakciji TAT iz uzorka se veže za antitijelo na trombin kojim je obložena mikrotitarska pločica, a suvišak TAT-a se ispere. U sljedećoj reakciji, slobodne determinante antitrombina vežu se za peroksidazom konjugirano antitijelo na ljudski antitrombin. Suvišak konjugata se ispere i određuje se aktivnost vezanog enzima. Enzimska reakcija peroksidaze i kromogena zaustavlja se dodatkom razrijeđene sulfatne kiseline (stop-otopina) te se fotometrijski

mjeri intenzitet nastalog obojenja na 492 nm. Intenzitet obojenja proporcionalan je koncentraciji TAT u uzorku, a izračunava se iz kalibracijske krivulje.

4.3.10. C-reaktivni protein (CRP)

Koncentracija CRP-a određivana je na automatiziranom, višekanalnom, selektivnom analizatoru Architect c8000 (Abbott, SAD). Analitička metoda temelji se na reakciji CRP-a i reagensa koji sadrži protutijela na CRP vezana za lateks čestice čime je postignuta optimalna osjetljivost.

4.3.11. Određivanje fibrinolize – euglobulinski test

Fibrinoliza – euglobulinski test je neautomatizirana metoda makroskopskog otkrivanja lize ugruška. U epruvetu od 10 mL otpipetira se 9 mL destilirane vode, 100 µL 1%-tne octene kiseline i 500 µL uzorka, epruveta se lagano promiješa i ostavi 30 min u hladnjaku, pri čemu nastaje precipitat, tzv. euglobulinska frakcija koja sadrži aktivator plazminogena, plazminogen, PAI-1 i fibrinogen. Nakon stajanja i centrifugiranja 10 minuta na 4000 okretaja, supernatant se odlije, a epruveta s preostalim sadržajem ostavi 5 minuta u obrnutom položaju na stalku. Epruveta se premjesti u vodenu kupelj na 37 C te joj se dodaje 500 µL boratnog pufera kako bi se nastali precipitat bogat fibrinolitičkim sastavnicama otopio, a dodatkom 500 µL CaCl₂ istaloži se fibrinogen te nastaje ugrušak. Vrijeme nastanka ugruška zabilježi se te se svakih 15 minuta makroskopski prati vrijeme liziranja tog ugruška. Rezultat se izražava kao vrijeme u minutama u kojem se makroskopskim pregledom utvrdi potpuna liza precipitata, odnosno kada on iz mliječno bijelog prijeđe u proziran. Normalno vrijeme fibrinolize iznosi od 150 do 210 minuta.

4.4. Statistička obrada podataka

U istraživanje je po skupini bilo potrebno uključiti 30 ispitanika temeljem analize snage testa za analizu varijance za ponavljana mjerenja pod slijedećim parametrima: snaga testa 90%, dvije ispitivane skupine (razlika u dinamici između tri ponavljana mjerenja), razina značajnosti $\alpha=0,05$ te učinak veličine uzorka $f=0,25$. U analizi snage testa je korištena programska podrška G*Power for Windows, verzija 3.1.3. U statističkoj analizi koristila se statistička podrška IBM SPSS Statistics, verzija 25.0 (www.spss.com).

U analizi razlika između ispitivane skupine (dežurnih liječnika) i kontrolne skupine (liječnici koji nisu bili dežurni) u pojedinim vremenima mjerenja koristio se nezavisni (studentov) t-test, a podaci su prikazani kroz prosječne vrijednosti, standardnu devijaciju, raspone, medijane i interkvartilne raspone.

Dinamika pojedinih kliničkih vrijednosti između tri vremena mjerenja analizirana je analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama, a međuodnosi između ispitivane i kontrolne skupine analizirani su procijenjenom marginalnom sredinom (engl. Estimated marginal mean) s odgovarajućim intervalom pouzdanosti (engl. confidence interval, CI) koji su dobiveni uzevši u obzir sva tri mjerenja za svaku skupinu. Sve P-vrijednosti manje od 0,05 smatrane su značajnima.

Podaci su prikazani tablično i grafički.

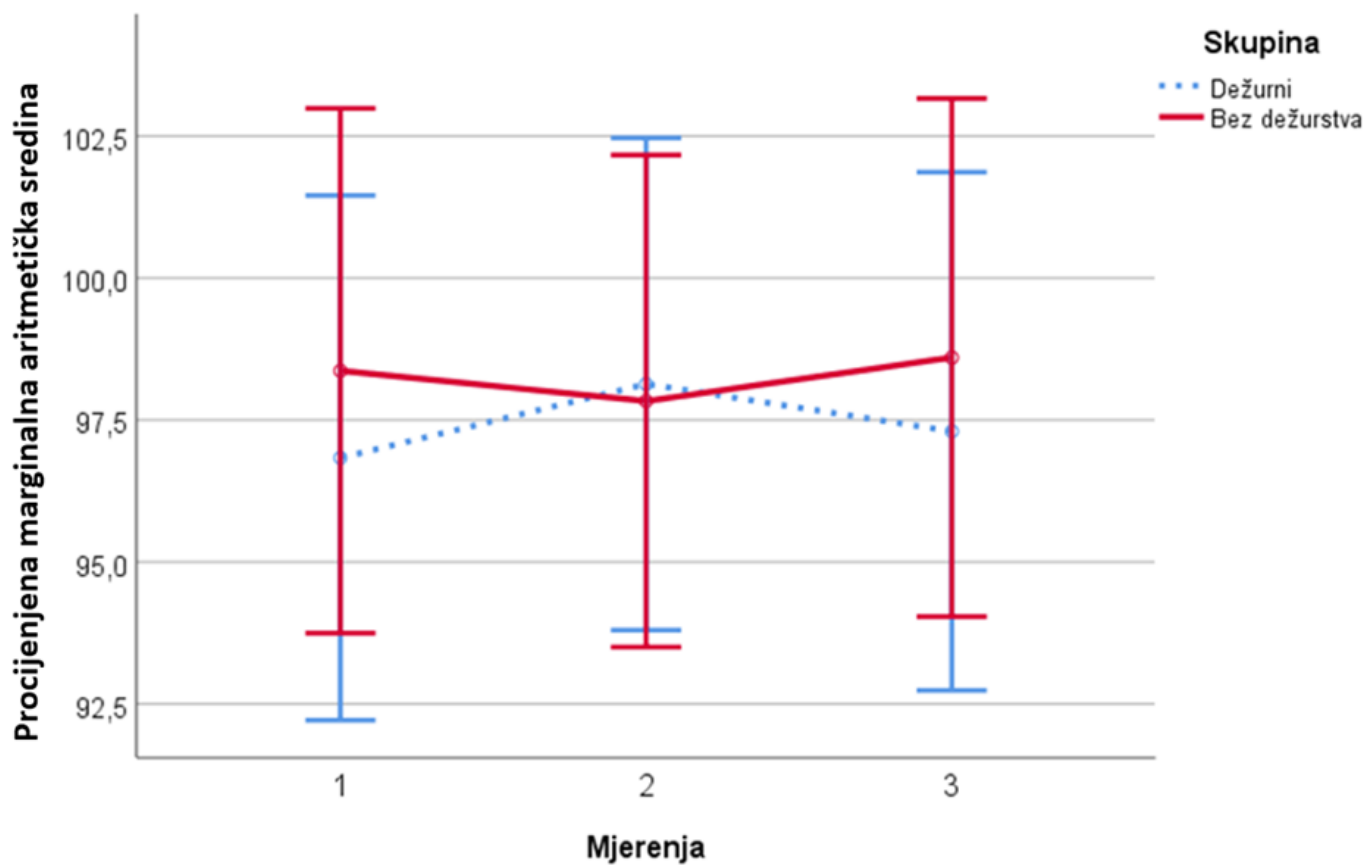
5. REZULTATI

Tablica 2. prikazuje usporedbe izmjerenih vrijednosti PV za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju. Promatrajući razlike u svakom vremenu mjerenja ponaosob, razvidno je da iako one postoje, one nisu statistički značajne.

Tablica 2. Usporedbe izmjerenih vrijednosti PV(%) za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju: nezavisni t-test

Skupina	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P	
						25.	Medijan	75.		
pV 1.vađenje	Dežurni Bez dežurstva	30 30	96,83 98,37	14,05 11,08	68,00 75,00	121,00 119,00	86,75 91,00	99,00 98,00	108,25 106,25	0,604
pV 2.vađenje	Dežurni Bez dežurstva	30 30	98,13 97,83	13,49 9,98	69,00 81,00	123,00 116,00	91,50 89,00	99,00 96,00	107,25 105,25	0,408
pV 3.vađenje	Dežurni Bez dežurstva	30 30	97,30 98,60	14,76 9,72	65,00 84,00	123,00 120,00	91,00 92,25	99,00 96,50	108,25 107,25	0,416

Dinamika vrijednosti PV tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura prikazana je na Slici 4, dok su parametri razlike dinamike PV tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama prikazani na Tablici 3. Nije bilo značajnih razlika u samoj dinamici mjerenog parametra ($P=0,540$), kao ni u procijenjenim marginalnim sredinama između ispitivane i kontrolne skupine ($P=0,780$).



Slika 4. Dinamika vrijednosti PV(%) tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura: analiza varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

Tablica 3. Parametri razlike dinamike PV tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

		Tip III zbroj kvadrata	df	Srednja vrijednost kvadrata	F	P
PV * Skupina	Pretpostavljena sferičnost	29,88	2	14,94	0,62	0,540
Greška (PV)	Pretpostavljena sferičnost	2798,04	116	24,12		

Skupina	Procijenjena marginalna sredina	SE	95% CI	
			Donja razina	Gornja razina
Dežurni	97,42	2,13	93,157	101,69
Bez dežurstva	98,27	2,13	94,001	102,53

(I) Skupina		Prosječna razlika	SE	P	95% CI	
					Donja razina	Gornja razina
Dežurni	Bez dežurstva	-0,84	3,014	0,78	-6,88	5,188
Bez dežurstva	Dežurni	0,84	3,014	0,78	-5,19	6,877

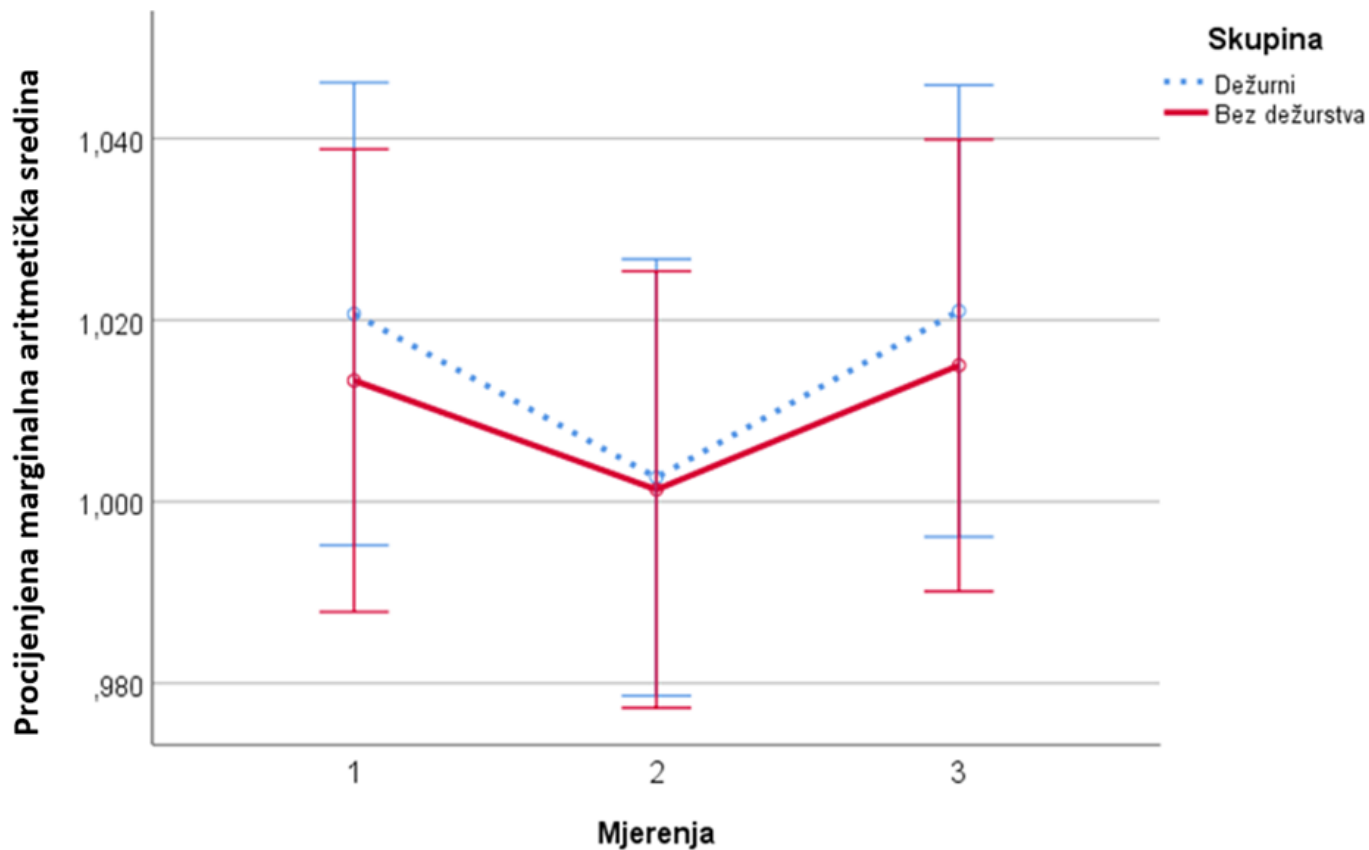
Tablica 4. prikazuje usporedbe izmjerenih vrijednosti INR za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju. Promatrajući svako vrijeme mjerenja ponaosob, nije bilo značajnih razlika između ispitivane i kontrolne skupine.

Tablica 4. Usporedbe izmjerenih vrijednosti INR za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju: nezavisni t-test

Skupina	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P	
						25.	Medijan	75.		
INR 1.vađenje	Dežurni	30	1,02	0,08	0,89	1,21	0,97	1,01	1,07	0,634
	Bez dežurstva	30	1,01	0,06	0,91	1,15	0,97	1,01	1,05	
INR 2.vađenje	Dežurni	30	1,00	0,08	0,88	1,19	0,95	0,99	1,03	0,432
	Bez dežurstva	30	1,00	0,05	0,91	1,09	0,96	1,01	1,05	
INR 3.vađenje	Dežurni	30	1,02	0,08	0,88	1,24	0,96	1,02	1,06	0,427
	Bez dežurstva	30	1,02	0,05	0,91	1,10	0,97	1,02	1,05	

Dinamika vrijednosti INR tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura prikazana je na Slici 5, dok su parametri razlike dinamike INR tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama prikazani na Tablici 5.

Nije bilo značajnih razlika u samoj dinamici mjerenog parametra ($P=0,831$), kao ni u procijenjenim marginalnim sredinama između ispitivane i kontrolne skupine ($P=0,770$).



Slika 5. Dinamika vrijednosti INR tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura: analiza varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

Tablica 5. Parametri razlike dinamike INR tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

		Tip III zbroj kvadrata	Df	Srednja vrijednost kvadrata	F	P
Mjerenja * Skupina	Pretpostavljena sferičnost	0,00	2	0,00	0,19	0,831
Greška(INR)	Pretpostavljena sferičnost	0,09	116	0,00		

Skupina	Procijenjena marginalna sredina	SE	95% Confidence Interval	
			Donja razina	Gornja razina
Dežurni	1,01	0,01	0,991	1,04
Bez dežurstva	1,01	0,01	0,987	1,03

(I) Skupina	Prosječna razlika	SE	P	95% CI	
				Donja razina	Gornja razina
Dežurni Bez dežurstva	0,00	0,016	0,77	-0,03	0,038
Bez dežurstva Dežurni	0,00	0,016	0,77	-0,04	0,028

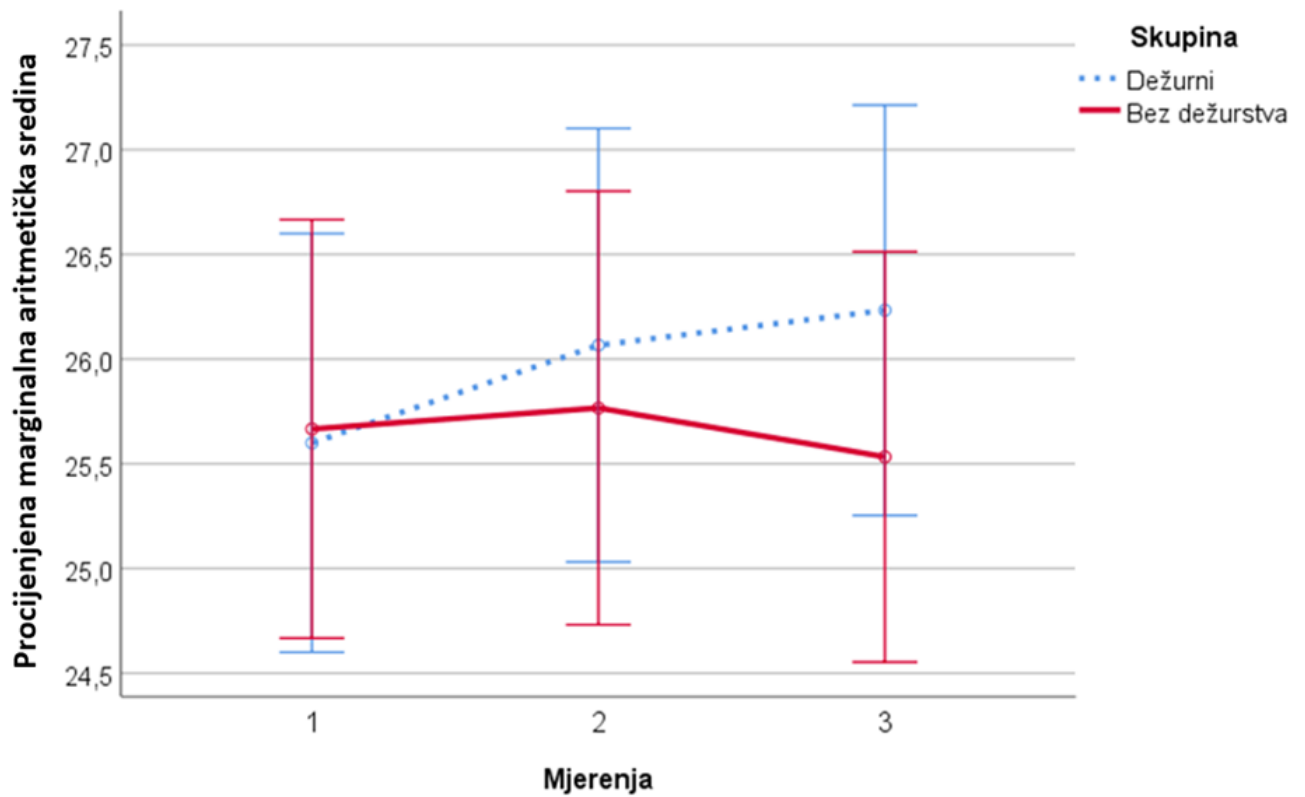
Tablica 6. prikazuje usporedbe izmjerenih vrijednosti APTV za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju. Promatrajući svako vrijeme mjerenja ponaosob, nije bilo značajnih razlika između ispitivane i kontrolne skupine.

Tablica 6. Usporedbe izmjerenih vrijednosti APTV(s) za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju: nezavisni t-test

Skupina	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P	
						25.	Medijan	75.		
APTV 1.vađenje	Dežurni	30	25,60	2,70	21,00	34,00	24,00	25,00	27,00	0,919
	Bez dežurstva	30	25,67	2,77	21,00	34,00	24,00	25,00	27,00	
APTV 2.vađenje	Dežurni	30	26,07	2,70	23,00	34,00	24,00	26,00	27,00	0,757
	Bez dežurstva	30	25,77	2,96	21,00	32,00	24,00	25,00	28,25	
APTV 3.vađenje	Dežurni	30	26,23	2,88	22,00	36,00	24,00	26,00	27,25	0,555
	Bez dežurstva	30	25,53	2,46	21,00	31,00	23,75	26,00	28,00	

Dinamika vrijednosti APTV tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura prikazana je na Slici 6, dok su parametri razlike dinamike APTV tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama prikazani na Tablici 7.

Nije bilo značajnih razlika u samoj dinamici mjerenog parametra ($P=0,085$), kao ni u procijenjenim marginalnim sredinama između ispitivane i kontrolne skupine ($P=0,650$).



Slika 6. Dinamika vrijednosti APTV(s) tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura: analiza varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

Tablica 7. Parametri razlike dinamike APTV tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

		Tip III zbroj kvadrata	Df	Srednja vrijednost kvadrata	F	P
Mjerenja *	Pretpostavljena sferičnost	4,41	2	2,21	2,52	0,085
Skupina	Pretpostavljena sferičnost	101,38	116	0,87		

Skupina	Procijenjena marginalna sredina	SE	95% CI	
			Donja razina	Gornja razina
Dežurni	25,97	0,48	25,001	26,93
Bez dežurstva	25,66	0,48	24,690	26,62

(I) Skupina		Prosječna razlika	SE	P	95% CI	
					Donja razina	Gornja razina
Dežurni	Bez dežurstva	0,31	0,682	0,65	-1,05	1,677
Bez dežurstva	Dežurni	-0,31	0,682	0,65	-1,68	1,054

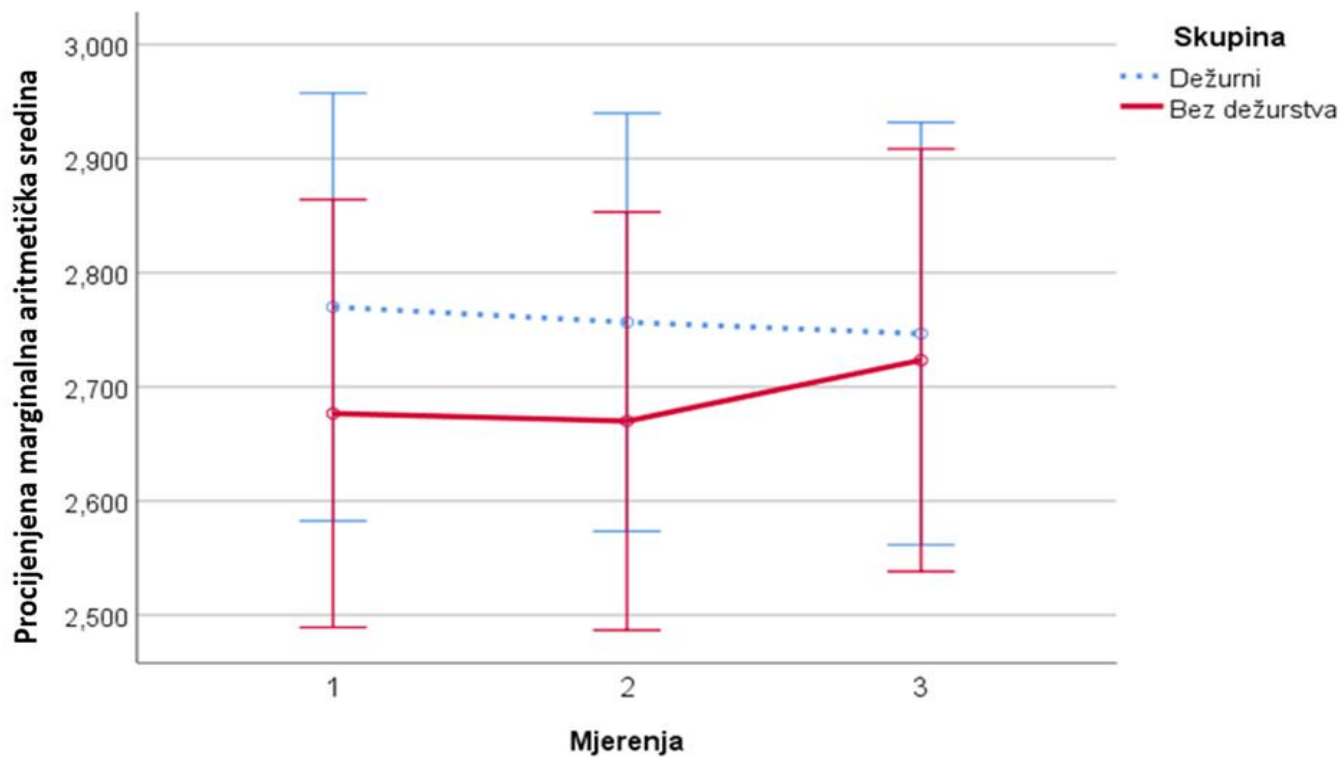
Tablica 8. prikazuje usporedbe izmjerenih vrijednosti fibrinogena za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju. Promatrajući svako vrijeme mjerenja ponaosob, nije bilo značajnih razlika između ispitivane i kontrolne skupine.

Tablica 8. Usporedbe izmjerenih vrijednosti fibrinogena(g/L) za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju: nezavisni t-test

Skupina	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P
						25.	Medijan	75.	
Fibrinogen Dežurni	30	2,77	0,54	1,90	3,70	2,38	2,60	3,20	0,186
1.vađenje Bez dežurstva	30	2,68	0,48	2,00	4,10	2,30	2,60	3,00	
Fibrinogen Dežurni	30	2,76	0,54	2,00	3,90	2,30	2,70	3,05	0,406
2.vađenje Bez dežurstva	30	2,67	0,46	2,10	3,80	2,30	2,60	2,85	
Fibrinogen Dežurni	30	2,75	0,55	2,00	3,90	2,30	2,60	3,15	0,332
3.vađenje Bez dežurstva	30	2,72	0,45	2,10	3,80	2,38	2,70	2,95	

Dinamika vrijednosti fibrinogena tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura prikazana je na Slici 7, dok su parametri razlike dinamike fibrinogena tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama prikazani na Tablici 9.

Nije bilo značajnih razlika u samoj dinamici mjerenog parametra ($P=0,350$), kao ni u procijenjenim marginalnim sredinama između ispitivane i kontrolne skupine ($P=0,600$).



Slika 7. Dinamika vrijednosti fibrinogena(g/L) tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura: analiza varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

Tablica 9. Parametri razlike dinamike fibrinogena tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

		Tip III zbroj kvadrata	df	Srednja vrijednost kvadrata	F	P
Mjerenja *	Pretpostavljena sferičnost	0,04	2	0,02	1,06	0,350
Greška(Mjerenja)	Pretpostavljena sferičnost	2,45	116	0,02		

Skupina	Procijenjena marginalna sredina	SE	95% CI	
			Donja razina	Gornja razina
Dežurni	2,76	0,09	2,578	2,94
Bez dežurstva	2,69	0,09	2,510	2,87

(I) Skupina	Prosječna razlika	SE	P	95% CI		
				Donja razina	Gornja razina	
Dežurni	Bez dežurstva	0,07	0,127	0,60	-0,19	0,323
Bez dežurstva	Dežurni	-0,07	0,127	0,60	-0,32	0,187

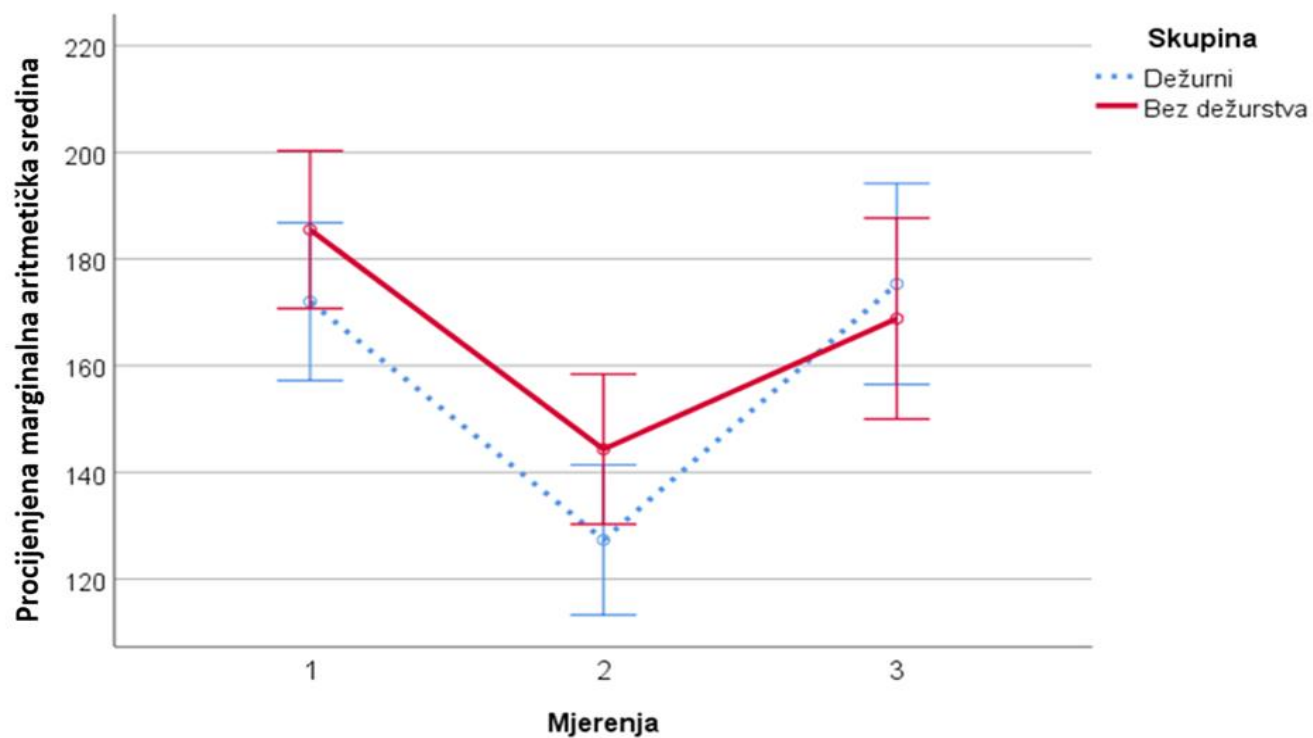
Tablica 10. prikazuje usporedbe izmjerenih vrijednosti fibrinolize za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju. Promatrajući svako vrijeme mjerenja ponaosob, nije bilo značajnih razlika između ispitivane i kontrolne skupine.

Tablica 10. Usporedbe izmjerenih vrijednosti fibrinolize (min) za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju: nezavisni t-test

Skupina	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P	
						25.	Medijan	75.		
Fibrinoliza 1.vađenje	Dežurni	30	172,00	43,10	80,00	210,00	120,00	185,00	210,00	0,149
	Bez dežurstva	30	185,50	37,65	80,00	210,00	175,00	200,00	210,00	
Fibrinoliza 2.vađenje	Dežurni	30	127,33	39,56	60,00	210,00	97,50	120,00	152,50	0,214
	Bez dežurstva	30	144,33	37,41	80,00	210,00	117,50	150,00	165,00	
Fibrinoliza 3.vađenje	Dežurni	30	175,33	51,78	70,00	210,00	117,50	210,00	210,00	0,698
	Bez dežurstva	30	168,83	51,34	80,00	210,00	115,00	205,00	210,00	

Dinamika vrijednosti fibrinolize tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura prikazana je na Slici 8, dok su parametri razlike dinamike fibrinolize tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama prikazani na Tablici 11.

Nije bilo značajnih razlika u samoj dinamici mjenenog parametra ($P=0,153$), kao ni u procijenjenim marginalnim sredinama između ispitivane i kontrolne skupine ($P=0,350$).



Slika 8. Dinamika vrijednosti fibrinolize (min) tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura: analiza varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

Tablica 11. Parametri razlike dinamike fibrinolize tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

		Tip III zbroj kvadrata	df	Srednja vrijednost kvadrata	F	P
Mjerenja *	Pretpostavljena sferičnost	4822,50	2	2411,25	1,91	0,153
Skupina	Pretpostavljena sferičnost	146703,89	116	1264,69		

Skupina	Procijenjena marginalna sredina	SE	95% CI	
			Donja razina	Gornja razina
Dežurni	158,22	6,01	146,195	170,25
Bez dežurstva	166,22	6,01	154,195	178,25

(I) Skupina		Prosječna razlika	SE	P	95% CI	
					Donja razina	Gornja razina
Dežurni	Bez dežurstva	-8,00	8,497	0,35	-25,01	9,009
Bez dežurstva	Dežurni	8,00	8,497	0,35	-9,01	25,009

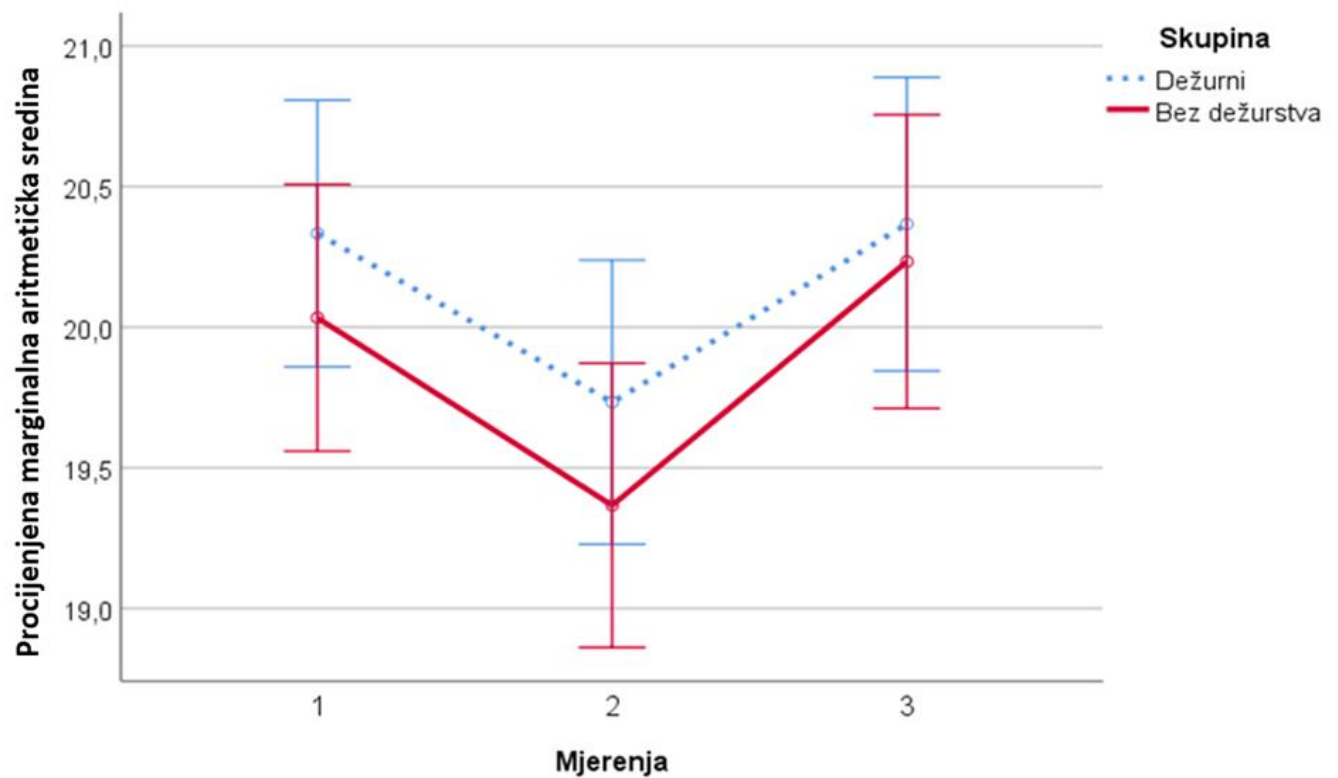
Tablica 12. prikazuje usporedbe izmjerenih vrijednosti TV za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju. Promatrajući svako vrijeme mjerenja ponaosob, nije bilo značajnih razlika između ispitivane i kontrolne skupine.

Tablica 12. Usporedbe izmjerenih vrijednosti TV (s) za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju: nezavisni t-test

Skupina	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P	
						25.	Medijan	75.		
TV 1.vađenje	Dežurni	30	20,33	1,56	18,00	23,00	19,00	20,00	21,25	0,876
	Bez dežurstva	30	20,03	0,96	18,00	22,00	19,00	20,00	21,00	
TV 2.vađenje	Dežurni	30	19,73	1,60	16,00	23,00	19,00	19,50	21,00	0,799
	Bez dežurstva	30	19,37	1,13	18,00	22,00	18,00	19,00	20,00	
TV 3.vađenje	Dežurni	30	20,37	1,50	17,00	23,00	19,00	21,00	22,00	0,600
	Bez dežurstva	30	20,23	1,36	17,00	23,00	19,00	21,00	21,00	

Dinamika vrijednosti TV tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura prikazana je na Slici 9, dok su parametri razlike dinamike TV tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama prikazani na Tablici 13.

Nije bilo značajnih razlika u samoj dinamici mjerenog parametra ($P=0,626$), kao ni u procijenjenim marginalnim sredinama između ispitivane i kontrolne skupine ($P=0,324$).



Slika 9. Dinamika vrijednosti TV (s) tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura: analiza varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

Tablica 13. Parametri razlike dinamike TV tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

		Tip III zbroj kvadrata	df	Srednja vrijednost kvadrata	F	P
Mjerenja * Skupina	Pretpostavljena sferičnost	0,43	2	0,22	0,47	0,626
Greška (Mjerenja)	Pretpostavljena sferičnost	53,36	116	0,46		

Skupina	Procijenjena marginalna sredina	SE	95% CI	
			Donja razina	Gornja razina
Dežurni	20,14	0,23	19,686	20,60
Bez dežurstva	19,88	0,23	19,420	20,34

(I) Skupina		Prosječna razlika	SE	P	95% CI	
					Donja razina	Gornja razina
Dežurni	Bez dežurstva	0,27	0,324	0,41	-0,38	0,915
Bez dežurstva	Dežurni	-0,27	0,324	0,41	-0,91	0,381

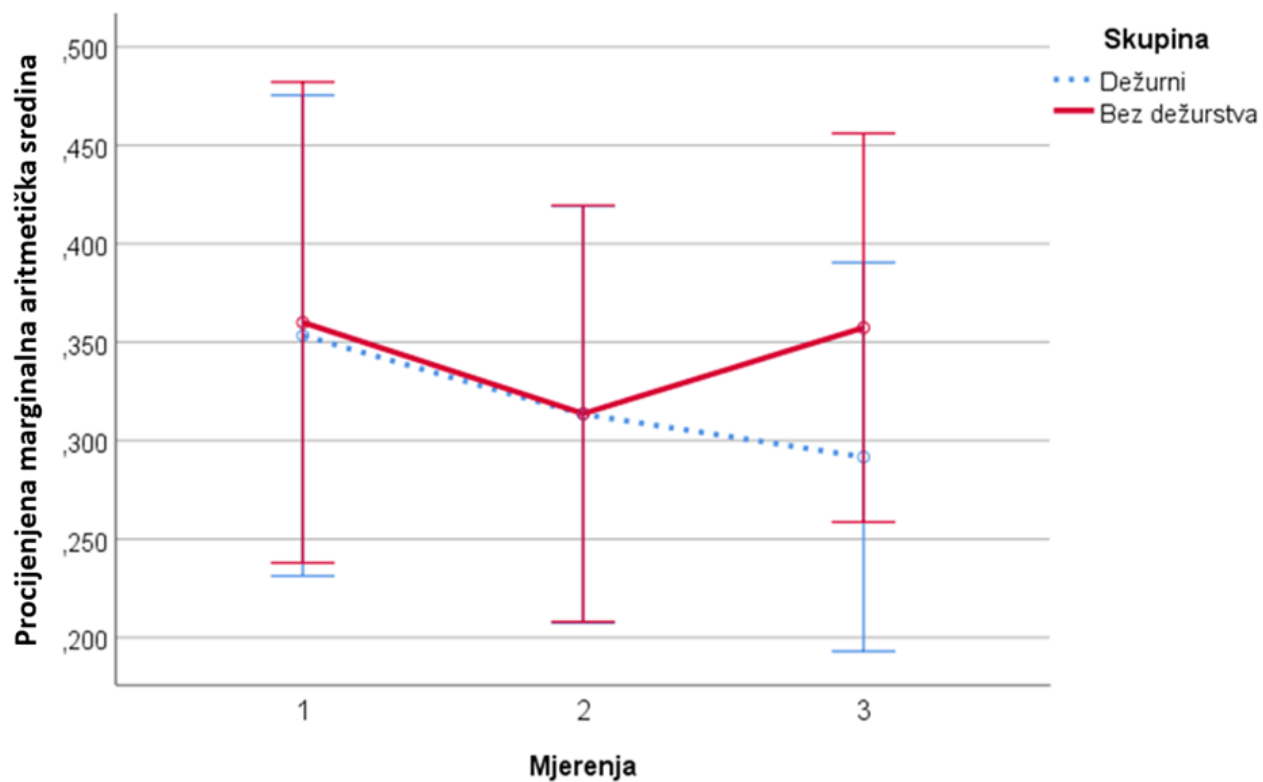
Tablica 14. prikazuje usporedbe izmjerenih vrijednosti D-dimera za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju. Promatrajući svako vrijeme mjerenja ponaosob, nije bilo značajnih razlika između ispitivane i kontrolne skupine.

Tablica 14. Usporedbe izmjerenih vrijednosti D-dimera ($\mu\text{g/ml}$) za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju: nezavisni t-test

Skupina	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P	
						25.	Medijan	75.		
D - dimeri 1.vađenje	Dežurni Bez dežurstva	30 30	0,35 0,36	0,42 0,21	0,17 0,17	2,48 1,17	0,17 0,21	0,24 0,30	0,38 0,44	0,463
D - dimeri 2.vađenje	Dežurni Bez dežurstva	30 30	0,31 0,31	0,36 0,19	0,17 0,17	2,14 0,93	0,17 0,19	0,20 0,26	0,31 0,37	0,573
D - dimeri 3.vađenje	Dežurni Bez dežurstva	30 30	0,29 0,36	0,30 0,24	0,17 0,17	1,77 1,19	0,17 0,21	0,18 0,31	0,28 0,38	0,965

Dinamika vrijednosti D-dimera tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura prikazana je na Slici 10, dok su parametri razlike dinamike D-dimera tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama prikazani na Tablici 15.

Nije bilo značajnih razlika u samoj dinamici mjerenog parametra ($P=0,051$), kao ni u procijenjenim marginalnim sredinama između ispitivane i kontrolne skupine ($P=0,750$). Statistička značajnost dinamike je na samoj granici da bude značajna ($P<0,050$) te se s povećanjem broja ispitanika može očekivati i promjena značajnosti s time da bi dežurni onda imali niže vrijednosti D-dimera nakon trećeg mjerenja.



Slika 10. Dinamika vrijednosti D-dimera ($\mu\text{g/mL}$) tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura: analiza varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

Tablica 15. Parametri razlike dinamike D-dimera tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

		Tip III zbroj kvadrata	df	Srednja vrijednost kvadrata	F	P
Mjerenja * Skupina	Pretpostavljena sferičnost	0,04	2	0,02	3,05	0,051
Greška (Mjerenja)	Pretpostavljena sferičnost	0,74	116	0,01		

Skupina	Procijenjena marginalna sredina	SE	95% CI	
			Donja razina	Gornja razina
Dežurni	0,32	0,05	0,213	0,43
Bez dežurstva	0,34	0,05	0,237	0,45

(I) Skupina		Prosječna razlika	SE	P	95% CI	
					Donja razina	Gornja razina
Dežurni	Bez dežurstva	-0,02	0,075	0,75	-0,18	0,127
Bez dežurstva	Dežurni	0,02	0,075	0,75	-0,13	0,175

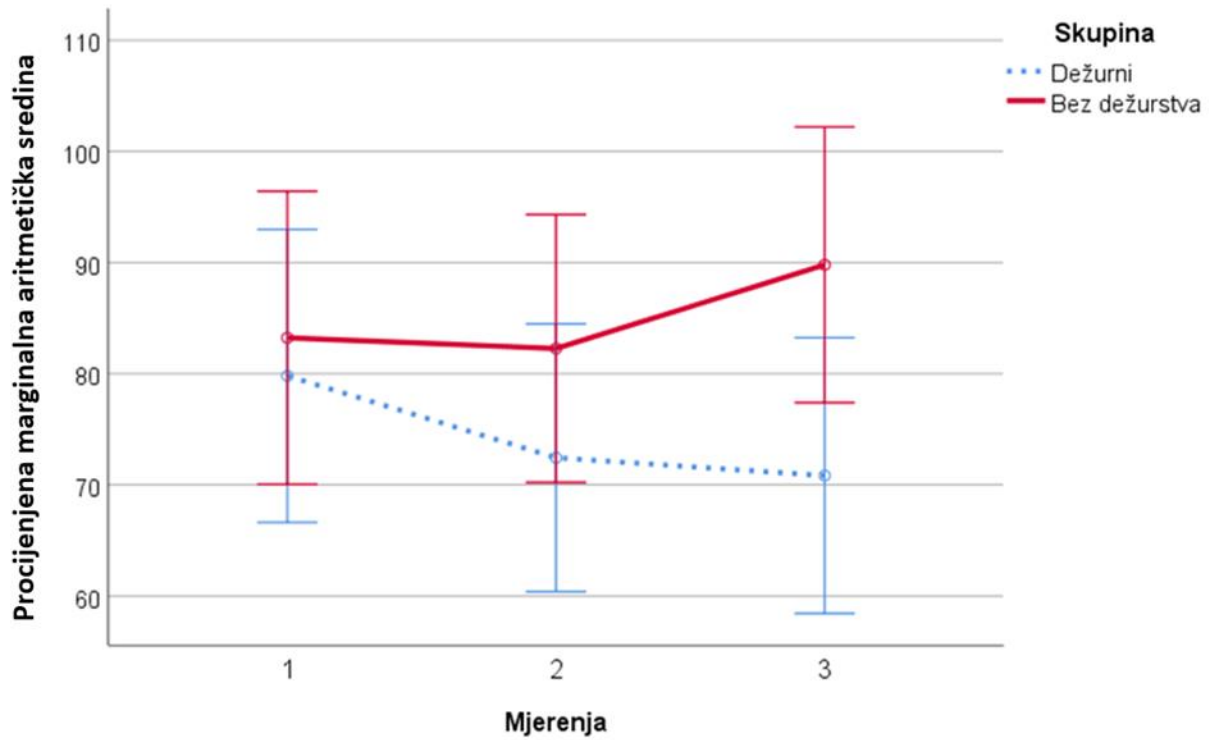
Tablica 16. prikazuje usporedbe izmjerenih vrijednosti vWF:RCo za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju. Promatrajući svako vrijeme mjerenja ponaosob, nije bilo značajnih razlika između ispitivane i kontrolne skupine.

Tablica 16. Usporedbe izmjerenih vrijednosti vWF:RCo (%) za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju: nezavisni t-test

Skupina	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P
						25.	Medijan	75.	
vWF:RCo Dežurni	30	79,80	34,82	36,00	150,00	55,75	67,00	94,50	0,857
1.vađenje Bez dežurstva	30	83,23	37,27	30,00	150,00	54,25	76,00	114,50	
vWF:RCo Dežurni	30	72,44	34,09	26,00	150,00	47,00	65,00	79,50	0,502
2.vađenje Bez dežurstva	30	82,27	31,81	25,00	150,00	59,00	78,50	104,50	
vWF:RCo Dežurni	30	70,83	32,68	30,00	150,00	47,00	65,00	76,25	0,364
3.vađenje Bez dežurstva	30	89,80	35,15	33,00	150,00	61,50	80,50	115,00	

Dinamika vrijednosti vWF:RCo tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura prikazana je na Slici 11, dok su parametri razlike dinamike vWF:RCo tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama prikazani na Tablici 17.

Prisutne su značajne razlike u dinamici mjerenog parametra vWF:RCo ($P=0,042$), dok značajnih razlika u procijenjenim marginalnim sredinama između ispitivane i kontrolne skupine nije bilo ($P=0,190$).



Slika 11. Dinamika vrijednosti vWF:RCo (%) tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura: analiza varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

Tablica 17. Parametri razlike dinamike vWF:RCo tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

		Tip III zbroj kvadrata	df	Srednja vrijednost kvadrata	F	P
Mjerenja * Skupina	Pretpostavljena sferičnost	1828,40	2	914,20	3,26	0,042
Greška (Mjerenja)	Pretpostavljena sferičnost	32542,04	116	280,53		

Skupina	Procijenjena marginalna sredina	SE	95% CI	
			Donja razina	Gornja razina
Dežurni	74,36	5,75	62,841	85,87
Bez dežurstva	85,10	5,75	73,584	96,62

(I) Skupina		Prosječna razlika	SE	P	95% CI	
					Donja razina	Gornja razina
Dežurni	Bez dežurstva	-10,74	8,136	0,19	-27,03	5,542
Bez dežurstva	Dežurni	10,74	8,136	0,19	-5,54	27,029

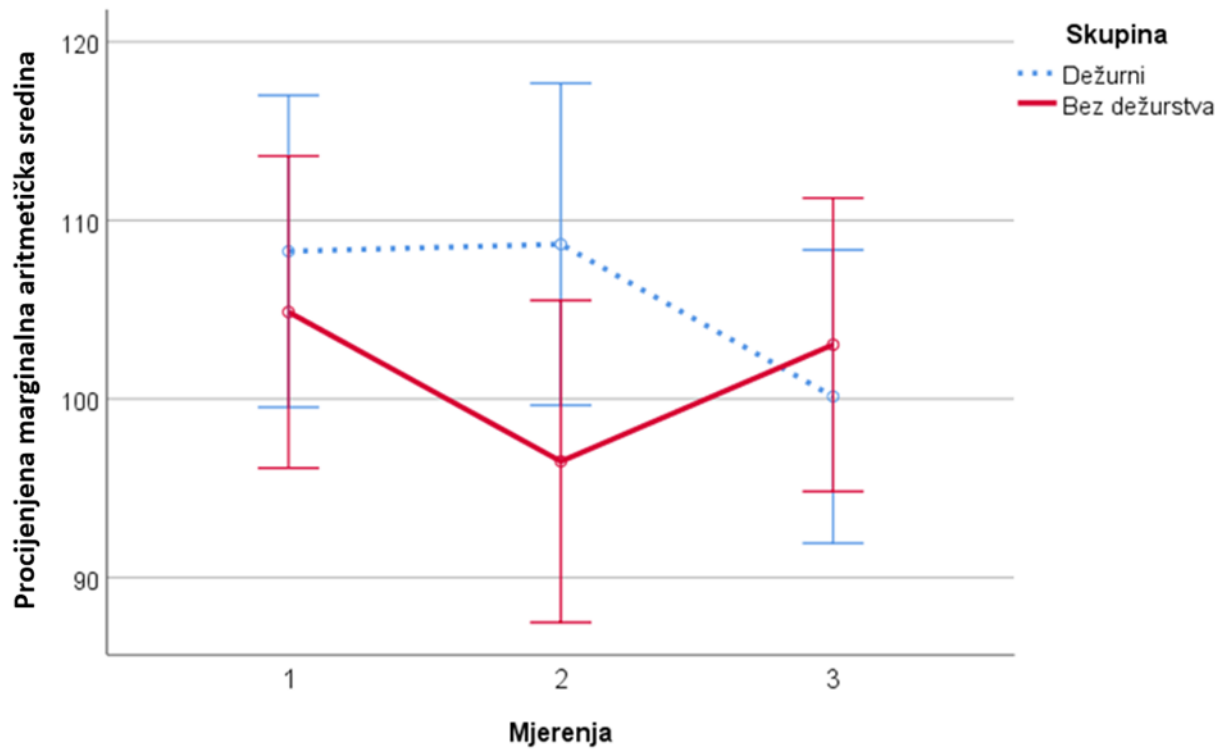
Tablica 18. prikazuje usporedbe izmjerenih vrijednosti Faktora VIII za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju. Promatrajući svako vrijeme mjerenja ponaosob, nije bilo značajnih razlika između ispitivane i kontrolne skupine iako je u drugom mjerenju ta razlika bila na graničnoj razini ($P=0,057$) u korist ispitivane skupine.

Tablica 18. Usporedbe izmjerenih vrijednosti Faktora VIII(%) za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju: nezavisni t-test

Skupina	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P	
						25.	Medijan	75.		
Faktor VIII 1.vađenje	Dežurni	30	108,27	19,71	82,00	158,00	93,00	101,00	123,00	0,177
	Bez dežurstva	30	104,87	27,47	67,00	189,00	90,00	99,00	115,00	
Faktor VIII 2.vađenje	Dežurni	30	108,67	27,53	78,00	208,00	89,75	100,50	122,50	0,057
	Bez dežurstva	30	96,50	21,44	52,00	148,00	83,75	97,50	106,25	
Faktor VIII 3.vađenje	Dežurni	30	100,13	15,13	84,00	148,00	87,75	97,00	107,00	0,928
	Bez dežurstva	30	103,03	27,96	57,00	208,00	85,25	99,50	111,75	

Dinamika vrijednosti Faktora VIII tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura prikazana je na Slici 12, dok su parametri razlike dinamike Faktora VIII tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama prikazani na Tablici 19.

Prisutne su značajne razlike dinamici mjerenog parametra Faktora VIII ($P=0,029$), dok nije bilo značajnih razlika u procijenjenim marginalnim sredinama između ispitivane i kontrolne skupine ($P=0,420$).



Slika 12. Dinamika vrijednosti Faktora VIII(%) tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura: analiza varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

Tablica 19. Parametri razlike dinamike Faktora VIII tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

		Tip III zbroj kvadrata	Df	Srednja vrijednost kvadrata	F	P
Mjerenja * Skupina	Pretpostavljena sferičnost	1717,74	2	858,87	3,65	0,029
Greška (Mjerenja)	Pretpostavljena sferičnost	27292,91	116	235,28		

Skupina	Procijenjena marginalna sredina	SE	95% CI	
			Donja razina	Gornja razina
Dežurni	105,69	3,67	98,334	113,04
Bez dežurstva	101,47	3,67	94,111	108,82

(I) Skupina		Prosječna razlika	SE	P	95% CI	
					Donja razina	Gornja razina
Dežurni	Bez dežurstva	4,22	5,197	0,42	-6,18	14,624
Bez dežurstva	Dežurni	-4,22	5,197	0,42	-14,62	6,180

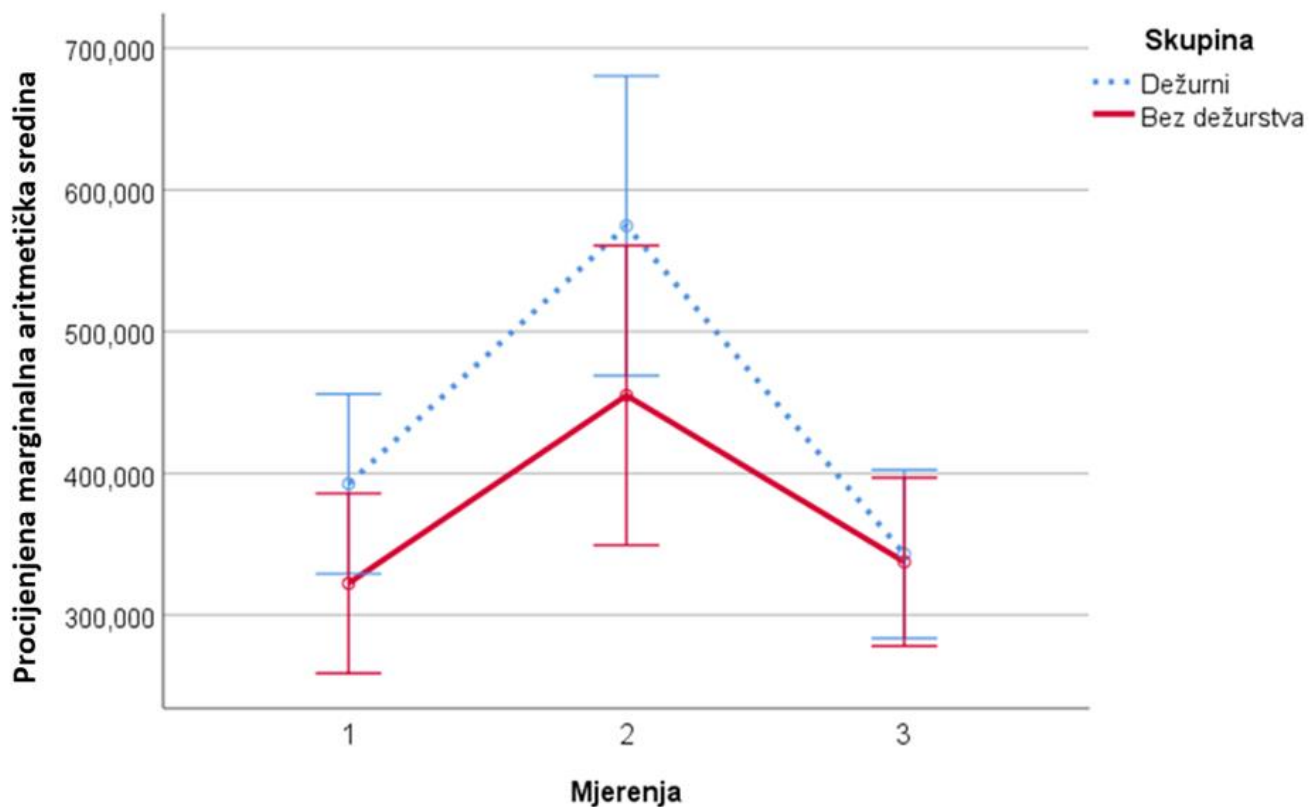
Tablica 20. prikazuje usporedbe izmjerenih vrijednosti PAP za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju. Promatrajući svako vrijeme mjerenja ponaosob, nije bilo značajnih razlika između ispitivane i kontrolne skupine iako je u drugom mjerenju ta razlika bila na graničnoj razini ($P=0,075$) u korist ispitivane skupine.

Tablica 20. Usporedbe izmjerenih vrijednosti PAP($\mu\text{g/L}$) za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju: nezavisni t-test

Skupina	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P	
						25.	Medijan	75.		
PAP 1.vađenje	Dežurni	30	392,61	203,60	135,60	963,64	256,24	320,25	455,50	0,783
	Bez dežurstva	30	322,38	137,04	128,47	761,85	224,70	304,99	383,25	
PAP 2.vađenje	Dežurni	30	574,61	350,97	152,02	1408,00	307,60	451,50	731,20	0,075
	Bez dežurstva	30	454,99	210,03	160,29	948,90	290,87	414,20	557,00	
PAP 3.vađenje	Dežurni	30	343,08	197,77	146,70	799,60	210,63	260,65	504,54	0,789
	Bez dežurstva	30	337,52	117,06	121,37	643,40	259,13	331,73	395,15	

Dinamika vrijednosti PAP tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura prikazana je na Slici 13, dok su parametri razlike dinamike PAP tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama prikazani na Tablici 21.

Nije bilo značajnih razlika u samoj dinamici mjenenog parametra ($P=0,127$), kao ni u procijenjenim marginalnim sredinama između ispitivane i kontrolne skupine ($P=0,160$).



Slika 13. Dinamika vrijednosti PAP ($\mu\text{g/L}$) tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura: analiza varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

Tablica 21. Parametri razlike dinamike PAP tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

		Tip III zbroj kvadrata	df	Srednja vrijednost kvadrata	F	P
Mjerenja * Skupina	Pretpostavljena sferičnost	98153,73	2	49076,86	2,10	0,127
Greška (Mjerenja)	Pretpostavljena sferičnost	2707943,60	116	23344,34		

Skupina	Procijenjena marginalna sredina	SE	95% CI	
			Donja razina	Gornja razina
Dežurni	436,77	32,23	372,253	501,28
Bez dežurstva	371,63	32,23	307,119	436,14

(I) Skupina		Prosječna razlika	SE	P	95% CI	
					Donja razina	Gornja razina
Dežurni	Bez dežurstva	65,13	45,578	0,16	-26,10	156,369
Bez dežurstva	Dežurni	-65,13	45,578	0,16	-156,37	26,101

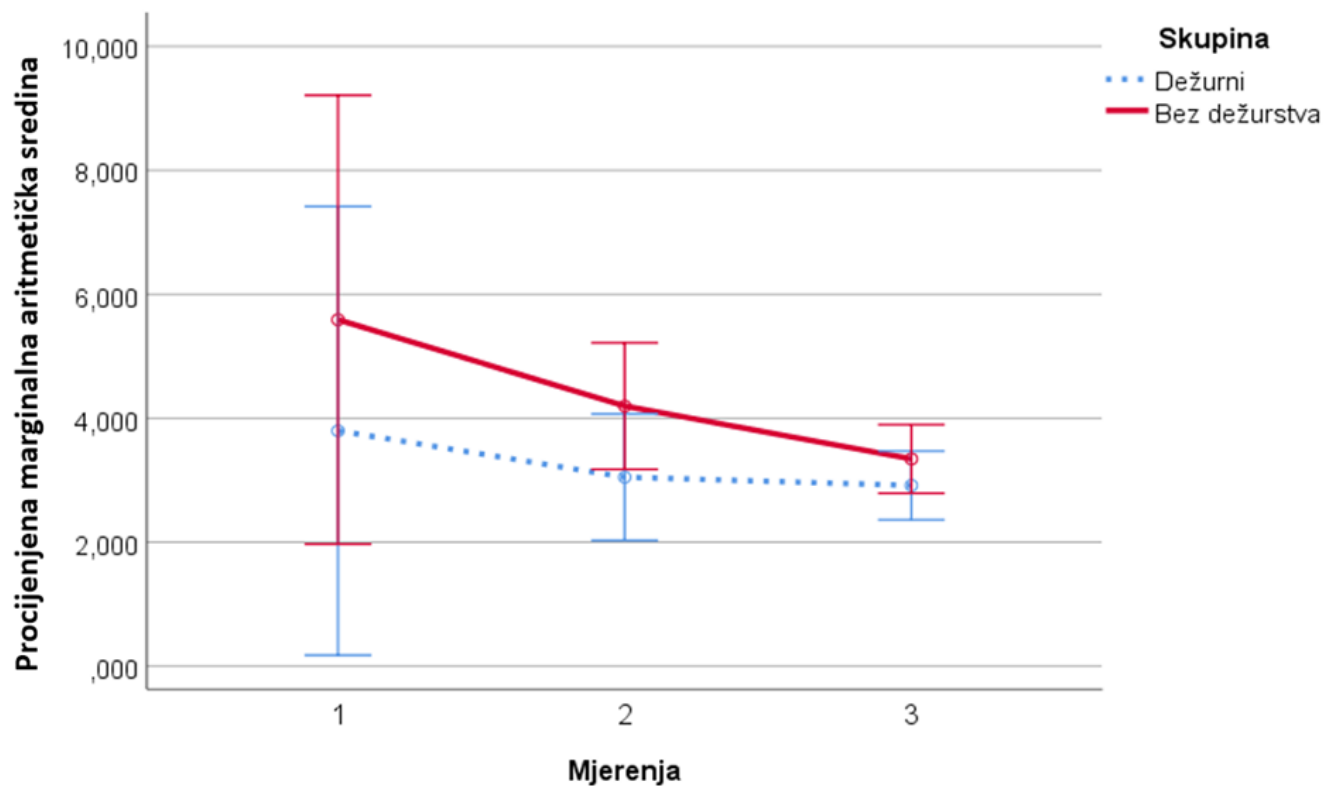
Tablica 22. prikazuje usporedbe izmjerenih vrijednosti TAT za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju. Promatrajući svako vrijeme mjerenja ponaosob, nije bilo značajnih razlika između ispitivane i kontrolne skupine.

Tablica 22. Usporedbe izmjerenih vrijednosti TAT ($\mu\text{g/L}$) za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju: nezavisni t-test

Skupina	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P	
						25.	Medijan	75.		
TAT 1.vađenje	Dežurni	30	3,80	3,16	1,90	19,00	2,28	2,75	4,63	0,395
	Bez dežurstva	30	5,59	13,65	2,10	77,70	2,58	2,85	3,60	
TAT 2.vađenje	Dežurni	30	3,05	0,75	1,80	5,20	2,50	2,90	3,30	0,418
	Bez dežurstva	30	4,20	3,88	2,20	23,90	2,60	3,40	4,15	
TAT 3.vađenje	Dežurni	30	2,92	0,99	1,80	7,10	2,30	2,70	3,10	0,263
	Bez dežurstva	30	3,34	1,90	2,10	11,20	2,50	2,80	3,33	

Dinamika vrijednosti TAT tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežuraprikazana je na Slici 14, dok su parametri razlike dinamike TAT tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama prikazani na Tablici 23.

Nije bilo značajnih razlika u samoj dinamici mjerenog parametra ($P=0,775$), kao ni u procijenjenim marginalnim sredinama između ispitivane i kontrolne skupine ($P=0,310$).



Slika 14. Dinamika vrijednosti TAT ($\mu\text{g/L}$) tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura: analiza varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

Tablica 23. Parametri razlike dinamike TAT tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

		Tip III zbroj kvadrata	df	Srednja vrijednost kvadrata	F	P
Mjerenja * Skupina	Pretpostavljena sferičnost	14,02	2	7,01	0,26	0,775
Greška (Mjerenja)	Pretpostavljena sferičnost	3177,47	116	27,39		

Skupina	Procijenjena marginalna sredina	SE	95% CI	
			Donja razina	Gornja razina
Dežurni	3,25	0,77	1,712	4,80
Bez dežurstva	4,38	0,77	2,834	5,92

(I) Skupina		Prosječna razlika	SE	P	95% CI	
					Donja razina	Gornja razina
Dežurni	Bez dežurstva	-1,12	1,090	0,31	-3,30	1,059
Bez dežurstva	Dežurni	1,12	1,090	0,31	-1,06	3,303

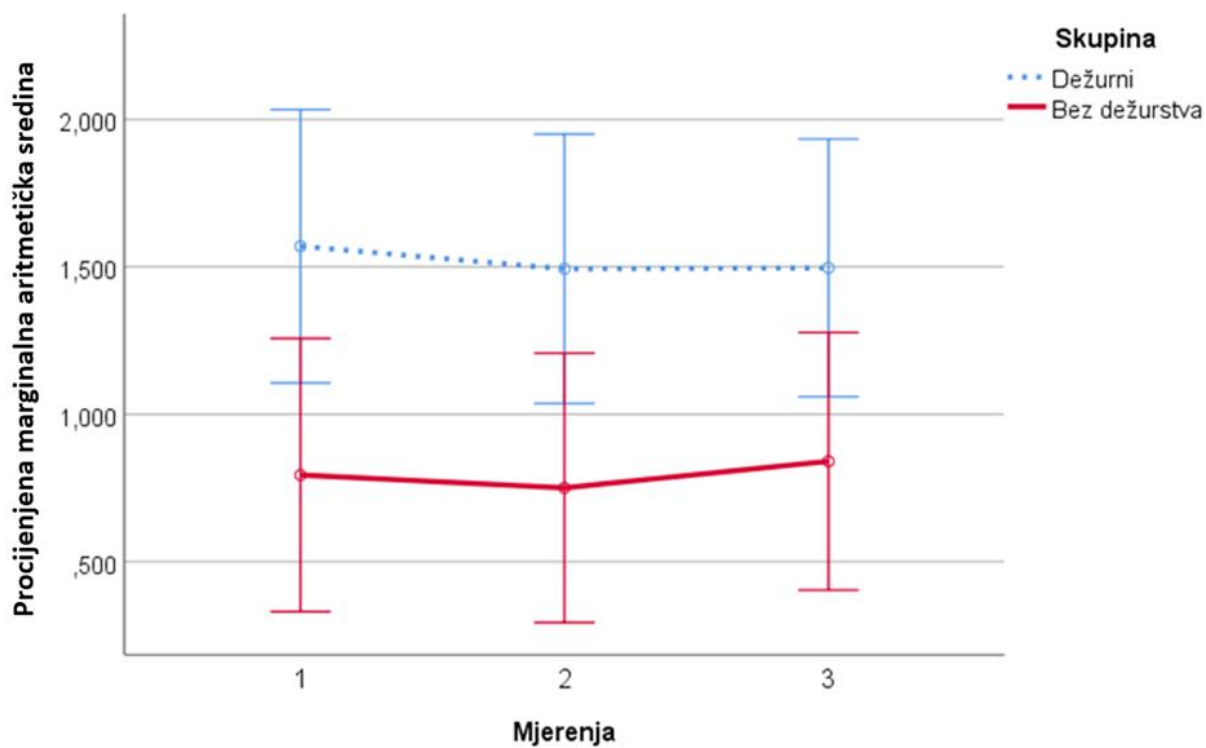
Tablica 24. prikazuje usporedbe izmjerenih vrijednosti CRP za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju. Promatrajući svako vrijeme mjerenja ponaosob u svakom vremenu mjerenja zabilježene su značajne razlike u korist skupine koja je dežurala.

Tablica 24. Usporedbe izmjerenih vrijednosti CRP (mg/L) za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju: nezavisni t-test

Skupina	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P	
						25.	Medijan	75.		
CRP 1.vađenje	Dežurni	30	1,57	1,64	0,20	6,80	0,38	0,95	2,45	0,024
	Bez dežurstva	30	0,79	0,72	0,20	3,20	0,30	0,55	1,03	
CRP 2.vađenje	Dežurni	30	1,49	1,63	0,20	6,30	0,30	0,95	2,02	0,020
	Bez dežurstva	30	0,75	0,69	0,20	3,00	0,30	0,50	1,00	
CRP 3.vađenje	Dežurni	30	1,50	1,57	0,20	5,70	0,38	0,75	2,00	0,030
	Bez dežurstva	30	0,84	0,63	0,20	2,40	0,38	0,65	1,00	

Dinamika vrijednosti CRP tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura prikazana je na Slici 15, dok su parametri razlike dinamike CRP tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama prikazani na Tablici 25.

Iako nije bilo značajnih razlika u dinamici CRP tijekom promatranog razdoblja ($P=0,536$), prisutna je značajna razlika u procijenjenim marginalnim sredinama između ispitivane i kontrolne skupine ($P=0,020$) prema kojima ispitivana skupina ima veće vrijednosti CRP-a u odnosu na kontrolnu skupinu.



Slika 15. Dinamika vrijednosti CRP (mg/L) tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura: analiza varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

Tablica 25. Parametri razlike dinamike CRP tijekom promatranog razdoblja dobiveni analizom varijance za ponavljana mjerenja s „within-between“ interakcijama

		Tip III zbroj kvadrata	df	Srednja vrijednost kvadrata	F	P
Mjerenja * Skupina	Pretpostavljena sferičnost	0,12	2	0,06	0,63	0,536
Greška (Mjerenja)	Pretpostavljena sferičnost	10,64	116	0,09		

Skupina	Procijenjena marginalna sredina	SE	95% CI	
			Donja razina	Gornja razina
Dežurni	1,52	0,22	1,076	1,96
Bez dežurstva	0,79	0,22	0,351	1,24

(I) Skupina		Prosječna razlika	SE	P	95% CI	
					Donja razina	Gornja razina
Dežurni	Bez dežurstva	,726*	0,314	0,02	0,10	1,353
Bez dežurstva	Dežurni	-,726*	0,314	0,02	-1,35	-0,098

6. RASPRAVA

24-satno dežurstvo liječnika je fizički i psihički naporno zbog više razloga. Ono uključuje kontinuirano opterećenje nepredvidivim zahtjevima te nedostatak odmora i sna. Psihičko opterećenje zbog odgovornosti za bolesnike, hitnost dijagnostike i terapije te potreba donošenja odluka koje su često od vitalne važnosti za pacijente prisutni su tijekom cijelog dežurstva. U studiji koju su proveli Tür i suradnici pokazano je da su liječnici različitih specijalnosti koji rade u noćnim smjenama izloženi stresnim situacijama. U toj studiji dokazano je da su mlađi liječnici često pod većim stresom od starijih kolega što je i očekivano zbog manjeg radnog iskustva⁵⁴.

U ispitivanje su uključeni liječnici na specijalističkom usavršavanju u dobi od 25 do 35 godina. Odabirom užeg raspona u godinama isključen je utjecaj oštećenja koja se kumuliraju sa životnom dobi na koagulacijske parametre i reaktante akutne upale⁵⁵.

U radu je određivana dinamika vrijednosti CRP-a, PV-a, INR-a, APTV-a, TV-a, fibrinolize, D-dimera, fibrinogena, TAT kompleksa, PAP kompleksa, aktivnosti faktora VIII i von Willebrandova faktora u skupini dežurnih liječnika na početku dežurstva, u sredini (nakon 12h) i na kraju dežurstva (nakon 24h). U kontrolnoj skupini navedeni su parametri određivani u istim vremenskim intervalima.

6.1. C-reaktivni protein

Dobiveni rezultati pokazali su statistički značajne razlike u vrijednosti CRP-a između ispitivane i kontrolne skupine u svim vremenskim točkama mjerenja, odnosno kroz cijelo 24-satno dežurstvo.

Kao što je već ranije navedeno, CRP je bjelančevina čija je koncentracija indikator upalnog zbivanja u organizmu. Na povišenje koncentracije CRP-a u krvi utječu brojni faktori između ostalog stres i poremećaji sna putem IL-6, IL-1 β , IL-17, TNF- α i leptina. Normalan raspon vrijednosti CRP-a je od 1,0 do 3,0 mg/L. U istraživanje su bili uključeni samo ispitanici i liječnici u kontrolnoj skupini s vrijednostima CRP-a do 5 mg/L čime smo isključili mogućnost akutnog infektivnog zbivanja.

Budući da dežurstvo predmnijeva povećanu psihičku i fizičku napetost, nespavanje i iscrpljenost, dobiveni rezultati uklapaju se u dosadašnje spoznaje o utjecaju stresa te nespavanja na CRP^{19,56}.

Statistički značajno povišene vrijednosti CRP-a u prvom mjerenju, tj. prije početka 24-satnog dežurstva u skupini dežurnih liječnika u odnosu na kontrolnu skupinu, mogu se objasniti činjenicom da je psihološka priprema za dežurstvo prisutna određeno vrijeme prije samog nastupa dežurstva. Vrijednosti u obje skupine nisu pokazale značajnu dinamiku tijekom tri mjerenja. Takav nalaz je očekivan s obzirom na to da poluživot ove bjelančevine iznosi oko 19 sati. Time objašnjavamo statistički značajnu razliku u zadnjem mjerenju kod dežurnih liječnika. Budući da dežurstvo traje 24 sata, nije bilo dovoljno vremena za spuštanje vrijednosti CRP-a na nižu razinu koja je zabilježena kod liječnika u kontrolnoj skupini.

CRP nije samo reaktant akutne upale. On je također lokalni proaterosklerotski čimbenik. On može uzrokovati očvršnuće arterijske stijenke⁵⁷. CRP ima proupalne učinke na stanice stijenke krvne žile i može predstavljati ključan čimbenik u patogenezi kardiovaskularnih bolesti⁵⁸. CRP može aktivirati stanice endotela krvnih žila uzrokujući njihovu disfunkciju. Čimbenik je koji reducira otpuštanje dušičnog oksida (NO) i prostaciklina iz stanica stijenki arterija i vena. Dušični oksid je važan jer uzrokuje relaksaciju i dilataciju suženih krvnih žila, povećavajući na taj način dotok kisika i hranjivih tvari⁵⁹. Prostaciklini također imaju vazodilatatorni učinak i inhibiraju agregaciju trombocita⁶⁰.

Rezultati brojnih radova ukazuju na to da je CRP neovisan rizični faktor za razvoj ateroskleroze, kardiovaskularnih događaja, aterotromboze, arterijske hipertenzije i akutnog srčanog infarkta⁶¹⁻⁶⁴. Vrijednosti CRP-a mogu biti neovisan predskazatelj kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih događaja⁶⁵⁻⁶⁷. CRP je prisutan lokalno u aterosklerotskom plaku, te može pridonijeti lakšem rastu i nestabilnosti aterosklerotskog plaka⁶⁷.

Istraživanja Haverkate i suradnika te Ridker i suradnika pokazala su da je CRP među brojnim upalnim reaktantima (IL-6, IL-1, TNF- α , fibrinogen) najznačajniji predskazatelj kardiovaskularnog rizika^{68,69}.

Upalni procesi su značajni u svim fazama nastanka aterosklerotskog plaka te pucanja nestabilnog plaka što dovodi do kliničkih manifestacija. CRP ima direktan utjecaj na aktivaciju

komplementa, apoptozu, aktivaciju stanica endotela, nakupljanje monocita i makrofaga, taloženje lipida i stvaranje ugruška^{67,70}.

CRP sudjeluje u povećanoj ekspresiji TF iz monocita pomoću limfocita i NK stanica te inhibiranju procesa fibrinolize povećavajući aktivnost PAI-1 u endotelnim stanicama^{71,72}. Na endotelnoj površini povećava sintezu adhezijskih molekula i kemokina, potičući prijanjanje trombocita te kemotaksiju monocita, makrofaga i limfocita. Makrofazi se unosom LDL-a pretvaraju u pjenušave stanice⁷⁰. CRP također sudjeluje u aktivaciji i proliferaciji glatkih mišićnih stanica krvne stijenke putem povećane ekspresije receptora za angiotenzin I⁷³.

Iz navedenog možemo zaključiti da su dežurni liječnici izloženi većem riziku razvoja ubrzane ateroskleroze i svih njenih komplikacija, uključujući kardiovaskularne i cerebrovaskularne incidente.

Istraživanje koje je ispitalo povezanost rada u noćnim smjenama i subkliničke pokazatelje ateroskleroze ukazalo je na značajno povećanje čvrstoće stijenki arterija, rezultirajući povećanjem brzine krvnog protoka kod pojedinaca izloženih noćnom radu u odnosu na kontrolnu skupinu s normalnim dnevnim radnim vremenom⁷⁴.

Zaključak proizašao iz pregleda literature koja je obuhvaćala podatke o smjenskom radu i njegovu utjecaju na razvoj kroničnih bolesti, poremećaja spavanja i incidenciju nezgoda, je da smjenski rad, uključujući noćni rad, može biti povezan s povećanjem rizika od razvoja kardiovaskularnih bolesti (akutni srčani infarkt), ishemijskog cerebrovaskularnog inzulta, šećerne bolesti tipa 2, povećanja tjelesne težine, odnosno pretilosti, karcinoma dojke, prostate i kolorektalnog karcinoma⁷⁵.

6.2. Fibrinoliza

Fibrinoliza je proces koji podrazumijeva razgradnju ugruška koji se formirao u krvnim žilama. Prilikom procesa fibrinolize, fibrinska mrežica koja je važan faktor u građi ugruška razgrađuje se plazminom, a manji dijelovi uklanjaju se djelovanjem proteaza bubrega i jetre. Vrijeme fibrinolize izražava se u minutama. Sustavi zgrušavanja i fibrinolize aktiviraju se paralelno kao odgovor na akutni stres, ali s pomakom ravnoteže prema hiperkoagulabilnosti. To

je evolucijska prilagodba koja priprema organizam na smanjenje gubitka krvi u situacijama „borbe ili bijega“¹⁵.

Poznato je već odavno da aktivnost fibrinolitičkog sustava pokazuje cirkadijalni ritam. Njezina aktivnost za vrijeme 24 sata može se opisati sinusoidalnom krivuljom: povećanje aktivnosti konstantno raste tijekom dana i doseže vrhunac u kasno poslijepodne, oko 18h, s kasnijim padom aktivnosti i postizanjem minimalne vrijednosti u ranojutarnjim satima, oko 4h.

U ovom istraživanju, pokazano je da je vrijeme fibrinolize bilo kraće u drugom mjerenju (20h) u obje skupine, što odgovara povećanoj fibrinolitičkoj aktivnosti u poslijepodnevnom/večernjim satima prateći cirkadijalni ritam. Povećana fibrinolitička aktivnost rezultira kraćim vremenom fibrinolize u poslijepodnevnom/večernjim satima što odgovara bržem vremenu razgradnje ugruška.

Rezultati ovog rada nisu pokazali statistički značajnu razliku u aktivnosti sustava fibrinolize između skupine dežurnih liječnika i liječnika s normalnim radnim vremenom.

6.3. D-dimeri

D-dimeri su jedinstveni pokazatelji razgradnje fibrinske mrežice. Nazvani su tako jer se sastoje od dva D-fragmenta povezana unakrsnom vezom⁴³. U fiziološkim uvjetima D-dimeri također su prisutni u plazmi zdravih pojedinaca, jer mali postotak fibrinogena fiziološki prelazi u fibrin uz kasniju degradaciju. Kod aktivacije sustava zgrušavanja i fibrinolize njihova se koncentracija povećava. Poluvrijeme razgradnje im je oko 8 sati. Odstranjuju se iz cirkulacije uglavnom putem bubrega i retikulo-endotelnog sustava.

Dosadašnja istraživanja pokazala su povećanje koncentracije D-dimera u brojnim studijama i skupinama kao odgovor na akutni psihosocijalni stres^{45,55,76,77} te ga ističu kao prediktora kardiovaskularnih bolesti u zdravih pojedinaca, ali i u onih s postojećom koronarnom bolesti⁷⁸.

Vrijednosti D-dimera u ispitivanoj i kontrolnoj skupini bile su jednake u prvom i drugom mjerenju, uz napomenu da se u drugom mjerenju (nakon 12 sati) vrijednost D-dimera smanjila u obje skupine. U trećem mjerenju zamijećen je daljnji pad vrijednosti D-dimera u ispitivanoj

skupini, dok su se u kontrolnoj skupini vrijednosti vratile na razinu zabilježenu u prvom mjerenju. Uzimajući u obzir svako mjerenje ponaosob, nije bilo statistički značajne razlike među skupinama.

Statistička analiza je također pokazala da nije bilo statistički značajnih razlika niti u samoj dinamici mjerenog parametra između dviju skupina, ali je statistička značajnost dinamike bila na samoj granici da bude značajna ($P=0,051$). Dakle, trend vrijednosti D-dimera u skupini koja dežura je bio prema sve nižim vrijednostima tijekom/krajem dežurstva, a u početku bez razlike u odnosu na kontrolu. Ovo istraživanje ostavlja prostora za daljnje ispitivanje, jer bi možda saznanje bilo potpunije da su vrijednosti D-dimera određivane u više vremenskih točaka, te višekratno nakon izloženosti dvadesetčetirisatnom dežurstvu.

Istraživanje koje je provedeno na 38 zdravih pojedinaca (nastavnika u Njemačkoj i Luksemburgu) izloženih hiperakutnom psihosocijalnom stresu trajanja 15-ak minuta u vidu javnog izlaganja i razgovora za posao, u grupi pojedinaca s većim osjećajem iscrpljenosti i tjeskobe ukazalo je na atenuaciju u odgovoru u vidu smanjenog porasta vrijednosti D-dimera na hiperakutni stres, s postizanjem vršnih koncentracija tek sat vremena nakon prestanka stresne situacije⁷⁹.

U ovom radu interval praćenja dinamike D-dimera je unutar 90 minuta od izloženosti stresu, dok smo u našem istraživanju pratili promjene vrijednosti D-dimera tijekom 24 sata uz stalno prisutan stres (dežurstvo). U dostupnoj literaturi nema podataka o istraživanju sličnom kao u ovoj disertaciji.

6.4. Faktor VIII

Faktor VIII (FVIII) je važan faktor koagulacijske kaskade te nakon odvajanja od VWF služi kao kofaktor aktiviranom faktoru IX. U daljnjem tijeku, kao što je već navedeno, njihovim djelovanjem dolazi do aktivacije faktora X koji s kofaktorom Va generira trombin. 94% faktora VIII je vezano na vWF, dok se samo 6% nalazi u slobodnom obliku.

Poluvrijeme života faktora VIII vezanog za vWF je prosječno oko 12 h. Nakon odvajanja od VWF, faktor VIII se brzo, nakon 1-2 h uklanja iz cirkulacije. Njegove se koncentracije povećavaju u odgovoru na infuziju adrenalina ili vazopresina⁸⁰, dakle u stresu, ali i vezano za vježbu, dob, trudnoću, operativni zahvat, odnosno kao sastavnica reakcije akutne faze. Faktor VIII je dakle, reaktant akutne upale. Njegovu sintezu u jetri povećava IL-6⁸¹.

Rezultati dosadašnjih istraživanja pokazuju da se povećane koncentracije faktora VIII dovode u vezu s povećanim rizikom za tromboembolijske incidente, kao što su duboka venska tromboza i plućna embolija⁸².

Zanimljivo je i istraživanje koje je uspoređivalo učestalost mortaliteta od kardiovaskularnih incidenata kod hemofilicara tipa A (smanjena aktivnost faktora VIII) u usporedbi sa zdravom populacijom. U grupi bolesnika s hemofilijom smrtnost od kardiovaskularnih bolesti bila je puno manja nego u zdravoj populaciji (gotovo za 80%). Ovo istraživanje je zanimljivo, jer je faktor VIII inače vezan za vWF, koji utječe i na aktivnost trombocita. U hemofilicara je narušena samo aktivnost faktora VIII te smo mogli zanemariti utjecaj vWF i trombocita. Istraživanje je također vrijedno, jer se očekivana životna dob kod hemofilicara nakon uvođenja supstitucijske terapije približila očekivanoj životnoj dobi zdrave populacije⁸³.

Istraživanje provedeno na muškim zaposlenicima u Koreji pokazalo je povezanost između zahtjeva na poslu s vrijednosti faktora VIII, s napomenom da su rizični faktori poput pušenja, krvnog tlaka, ukupnoga kolesterola i HDL kolesterola bili isključeni. Rezultati ukazuju na to da karakteristike posla koji obavljamo mogu biti neposredno povezane sa sustavom zgrušavanja, povećavajući na taj način rizik od razvoja kardiovaskularnih bolesti, dakle neovisno od ostalih dobro poznatih rizičnih faktora⁸⁴.

U ovom radu, aktivnost faktora VIII u prvom mjerenju je bila nešto veća u odnosu na kontrolnu skupinu, ali razlike u vrijednostima nisu bile statistički značajne. U drugom mjerenju dolazi do razmimoilaženja vrijednosti u skupinama. Aktivnost faktora VIII u skupini dežurnih liječnika je slična, gotova ista kao u prvom mjerenju. U kontrolnoj skupini došlo je do pada aktivnosti u odnosu na prvo mjerenje. Razlika aktivnosti u drugom mjerenju između dežurne i kontrolne skupine imala je statističku značajnost koja je bila na graničnoj razini ($P=0,057$). U trećem mjerenju aktivnost faktora VIII se u kontrolnoj skupini vratila očekivano na početnu

razinu, a u skupni dežurnih se aktivnost FVIII smanjila , otprilike na razinu kao u drugom mjerenju kontrolne skupine. Ukupna dinamika promjena aktivnosti faktora VIII između dežurne i kontrolne skupine bila je statistički značajna ($P=0.029$). Dakle, aktivnost faktora VIII ima statistički značajnu razliku u dinamici između ispitanika i kontrola, inicijalno je viši u ispitanika, ali se na kraju dežurstva snižava. U kontrolnoj skupini snizi se brže, već nakon 12h, moguće zato što je kontrolnoj skupini završilo redovno radno vrijeme od 8h.

Statistički značajna razlika u dinamici faktora VIII , koji je kao što je već ranije navedeno reaktant akutne upale, također govori u prilog pojačanog inflamatornog odgovora organizma uz moguće proaterogeno i hiperkoagulabilno djelovanje tijekom dežurstva, ali uz napomenu snižavanja vrijednosti na kraju dežurstva što bi upućivalo na hipokoagulabilno stanje u trenutku završetka dežurstva.

6.5. Von Willebrandov faktor

VWF je multimerni glikoprotein sastavljen od identičnih podjedinica koje sadrže vezna mjesta za trombocitne glikoproteinske receptore i kolagen. Sposobnost adhezije vWF ovisi o veličini multimeru. Njihove molekularne težine variraju od 500 do preko 10 000 kDa. Multimeri veće molekularne težine (od 5000 do 10 000 kDa) najučinkovitiji su u posredovanju vezivanja trombocita na kolagen. U normalnim okolnostima veliki multimeri se iz cirkulacije uklanjaju plazmatskim metaloproteinazama ADAMTS13, koje velike multimerne razgrađuju u manje. Multimeri manje molekularne težine imaju puno manju aktivnost od većih⁸⁵.

Von Willebrand Ristocetin Cofactor (vWF:RCo) test mjeri sposobnost bolesnikove plazme da aglutinira trombocite u prisutnosti antibiotika ristocetina. On inducira aglutinaciju koja je proporcionalna koncentraciji i funkcionalnoj aktivnosti vWF u plazmi. Normalne vrijednosti u postocima su 70 – 150%.

Prema radu Austina i suradnika, akutni psihosocijalni stres dovodi do kratkotrajnog povećanja aktivnosti faktora VIII, vWF Ag, te t-PA posredstvom kateholamina koji stimulacijom beta-2 adrenergičnih receptora potenciraju njihovo otpuštanje iz endotela⁹. Povećana aktivnost

vWF je neovisan rizični faktor za ishemijsku bolest srca, baš kao i povećana aktivnost faktora VIII⁸⁶.

U ovom radu dobiveni su drukčiji rezultati. U prvom mjerenju aktivnost vWF u obje skupine je bila slična, da bi u drugom mjerenju došlo do razmimoilaženja vrijednosti. U skupini dežurnih liječnika aktivnost vWF u drugom mjerenju bila je niža od ishodišne, dok je u kontrolnoj skupini aktivnost ostala jednaka ishodišnoj. U trećem mjerenju aktivnost se u dežurnoj skupini dalje smanjivala, a u kontrolnoj skupini nije. Nije bilo statistički značajne razlike među skupinama gledajući svako mjerenje ponaosob. Međutim, dokazana je statistički značajna razlika u dinamici među skupinama ($P=0,042$).

Dakle, skupina dežurnih liječnika je imala statistički značajnu dinamiku sve nižih vrijednosti aktivnosti vWF tijekom dežurstva što ukazuje na hipokoagulabilnost krvi ispitivane skupine u odnosu na kontrolnu tijekom i na kraju dežurstva. Navedeni rezultat je sličan rezultatu dobivenom za D-dimere.

Razliku između trenda nižih vrijednosti aktivnosti vWF i viših vrijednosti aktivnosti FVIII u dežurnoj skupini, ali samo u drugom mjerenju možda se može opravdati kompleksnom fiziologijom vWF i različitim poluvremenom života FVIII i vWF. U ovoj disertaciji nisu se određivali vWFag, multimeri vWF i ADAMT13, što bi uz veći broj ispitanika možda dalo bolja pojašnjenja dobivenih rezultata. U trećem mjerenju aktivnost vWF se u dežurnoj skupini pokazuje trend smanjenja vrijednosti, baš kao i aktivnost faktora VIII.

Navedene rezultate bismo možda mogli protumačiti istraživanjem koje ukazuje na to da faktor VIII ubrzava otprilike desetak puta odstranjivanje vWF iz cirkulacije putem metaloproteinaza ADAMT13. Analiza multimera pokazala je da su to uglavnom multimeri velike molekularne težine, koji imaju najveću sposobnost vezanja za kolagen i trombocite kao što je ranije navedeno⁸⁷. Obzirom na to da je dokazana veća aktivnost faktora VIII u drugom mjerenju kod dežurnih liječnika, ovom spoznajom bismo mogli protumačiti zašto je aktivnost vWF bila niža u dežurnoj skupini.

Mogli bismo zaključiti da je povećanje aktivnosti faktora VIII imalo utjecaj na brže odstranjenje multimera vWF iz cirkulacije te je zato zabilježena manja aktivnost vWF Ri:Co (pitanje povratne sprege).

Istraživanje Snieder i sur. o utjecaju akutnog mentalnog stresa na vWF, fibrinogena i t-PA Ag pokazalo je statistički značajno niže vrijednosti navedenih parametara nakon izlaganja mentalnom stresu. Ispitivanje je provedeno na 170 ispitanika srednje životne dobi, koji su bili izloženi rješavanju triju mentalnih testova, svakog u trajanju od 9 minuta. Uzorci krvi vađeni su dva puta, prije i poslije izlaganja stresu, interval između uzorkovanja krvi bio je tri sata. S obzirom na to da su u ovom istraživanju mjerene i vrijednosti hematokrita, koje su se također statistički značajno snizile, autori napominju moguću povezanost vrijednosti hematokrita, odnosno volumena plazme na dobivene rezultate⁸⁸.

Napominjemo da su istraživanja utjecaja stresa teško usporediva, s obzirom na to da je vrsta i trajanje stresa, te vremenske točke u kojem su pojedini parametri mjereni u svakom istraživanju različiti.

6.6. Fibrinogen

Fibrinogen je protein koji se sintetizira u jetri. Osim što je faktor koagulacijske kaskade, važan je i reaktant akutne upale. Njegova se koncentracija povećava ne samo u upalnim zbivanjima, nego i u stresnim situacijama, te se smatra rizičnim faktorom tromboembolijskih, odnosno kardiovaskularnih incidenata jer sudjeluje u formiranju ugruška⁴².

U ovom radu, nije bilo statistički značajne razlike u vrijednostima fibrinogena između promatranih skupina, kao niti u pojedinačnim mjerenjima. Iako se u literaturi akutni stres kratkotrajno dovodi u vezu s povećanjem koncentracije fibrinogena, u ovom radu nismo to dokazali.

Istraživanje Saharov i suradnika pokazalo je da noćni smjenski rad medicinskih sestara nije doveo do statistički značajnih promjena u vrijednostima fibrinogena, D-dimera, vWF i proteina C, ali je imao utjecaj na razinu PAI-1 i tkivnog faktora koje su bile signifikantno veće kod sestara u noćnoj smjeni⁸⁹.

6.7. Trombin-antitrombin kompleksi

Trombin-antitrombin kompleksi (TAT kompleksi) nastaju kada trombin pocijepa vezu blizu C terminalnog dijela AT III, stvarajući kovalentnu vezu s antitrombinom. TAT kompleksi se uklanjaju iz cirkulaciju vežući se na receptore koji se nalaze na hepatocitima, te imaju poluvijek života oko 15 minuta. Referentni raspon koncentracije TAT kompleksa kod zdravih ljudi je od 0,8 do 5 $\mu\text{g/L}$ ⁴⁴.

Povećane koncentracije TAT kompleksa ukazuju na prethodno povećano stvaranje trombina i fibrina, te se smatraju indikatorom hiperkoagulabilnosti, odnosno ukazuju na prethodnu aktivaciju koagulacijske kaskade. Istraživanje von Kanel i suradnika dokazalo je povezanost akutnog mentalnog stresa na povećanje koncentracije TAT kompleksa posredstvom kateholamina na beta-2 adrenergičke receptore^{45,46}.

U ovom radu vrijednosti TAT kompleksa u prvom su mjerenju bile nešto niže nego u kontrolnoj skupini s tendencijom blagog smanjivanja krivulje vrijednosti u drugom i trećem mjerenju u obje skupine. Međutim, nije bilo statistički značajne razlike između skupina, niti između promatranih točaka.

6.8. Plazmin-antiplazmin kompleksi

Plazmin je ključan enzim sustava fibrinolize. Njegovim proteolitičkim djelovanjem dolazi do razgradnje fibrinske mrežice ugruška. Glavni inhibitor njegova djelovanja je α 2-antiplazmin. Međusobno stvaraju kompleks plazmin- α 2-antiplazmin, odnosno PAP kompleks.

Kao što je već spomenuto u uvodnom dijelu, kada je plazmin vezan za fibrin, zaštićen je od inaktivacije α 2-antiplazminom. Međutim, kada dođe do potpune razgradnje fibrina, alfa-2 antiplazmin se odmah veže na oslobođeni plazmin^{48,49}. Ovi se kompleksi brzo uklanjaju iz cirkulacije putem jetre. Poluvrijeme života im je oko 12 h⁵¹. Referentni raspon koncentracije PAP kompleksa u plazmi kod zdravih odraslih ljudi je 368 \pm 188 $\mu\text{g/L}$ ⁵².

Plazmin-antiplazmin kompleksi su pokazatelji recentne fibrinolitičke aktivnosti. Njihova je koncentracija povećana u svim stanjima aktivirane fibrinolize⁵³. To su potvrdili i rezultati dobiveni u ovom istraživanju, jer su vrijednosti PAP kompleksa u dežurnoj i ispitivanoj skupini bile najviše u drugom mjerenju kada je i fibrinolitička aktivnost bila najveća, odnosno kada je vrijeme fibrinolize bilo najkraće u skladu s cirkadijanim ritmom.

Međutim, promatrajući svako pojedino mjerenje nije bilo statistički značajnih razlika među skupinama. Također nije dokazana niti statistički značajna razlika u dinamici vrijednosti PAP kompleksa između dežurnih liječnika i liječnika u kontrolnoj skupini.

6.9. Protrombinsko vrijeme i INR

Protrombinsko vrijeme (PV) je metoda kojom se mjeri vrijeme zgrušavanja plazme u prisutnosti optimalne koncentracije tkivnog tromboplastina i prikazuje djelotvornost vanjskog puta zgrušavanja koji uključuje faktore zgrušavanja II, V, VII, X i fibrinogen. Tromboplastin je tkivni ekstrakt dobiven od različitih izvora (ljudskog i životinskog ili pak rekombinantnom tehnologijom). Metoda se izvodi tako da se ispitanikovo plazmi doda kalcijev tromboplastin, te se registrira vrijeme stvaranja ugruška. Analiza se izvodi paralelno uz istodobno izvođenje analize s normalnom kontrolnom plazmom kao uzorkom⁴⁰.

Normalni raspon iznosi >0.70 (udjel). Rezultati se izražavaju i kao omjer (PR) srednjih vrijednosti protrombinskog vremena (s) ispitanikove i normalne kontrolne plazme. $INR = PR^{ISI}$ (ISI predočuje nagib pravca koji se dobije nakon sporedbe ispitivanog tromboplastina s referentnim pripravkom Svjetske zdravstvene organizacije ili sekundarnim standardom)⁴⁰.

U ovom radu nije dokazana statistički značajna razlika među skupinama uzimajući u obzir svako pojedino mjerenje. Također nije dokazana niti statistički značajna razlika u dinamici kretanja vrijednosti PV-a između skupina. Krivulja INR-a je bila obrnuto proporcionalna krivulji PV-a izraženog u postocima, također bez dokazane statističke značajnosti u razlikama vrijednosti unutar i među skupinama.

6.10. Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme

Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTV) spada u osnovne koagulacijske pretrage, a mjeri otklone unutarnjeg i zajedničkog puta zgrušavanja (prekalikrein, kininogen visoke molekulske mase, F I, II, V, VIII, IX, XI i XII). APTV ukazuje na manjak svih faktora zgrušavanja osim F VII (mjeri ga PV) i F XIII. Uredan rezultat ukazuje da plazma sadrži najmanje 30% svih navedenih faktora koagulacije.

U radu nije dokazana statistički značajna razlika vrijednosti APTV-a među skupinama u svakom pojedinačnom mjerenju, kao niti statistički značajna razlika u dinamici kretanja vrijednosti APTV-a između skupina, ali uz moguću tendenciju porasta APTV-a u točki 3 u skupini dežurnih liječnika.

6.11. Trombinsko vrijeme

Trombinsko vrijeme je metoda koja odražava pretvorbu fibrinogena u fibrinski monomer uz pomoć trombina te polimerizaciju fibrinskih monomera. Određuje se tako da se u citratnu plazmu dodaje mala količina trombina te se mjeri vrijeme nastajanja ugruška. Ovaj test ne daje podatke o unutarnjem i vanjskom putu zgrušavanja. Pruža uvid u abnormalnosti ili teškoće koje mogu postojati pri pretvaranju fibrinogena u fibrin.

U ovom radu nije dokazana statistički značajna razlika vrijednosti trombinskog vremenamedu skupinama u svakom pojedinačnom mjerenju, kao niti statistički značajna razlika u dinamici kretanja vrijednosti trombinskog vremena među skupinama.

7. ZAKLJUČAK

- U ovom su radu dokazane statistički značajno više vrijednosti CRP-a kroz sva tri mjerenjau skupini dežurnih liječnika ($P=0,024$, $P=0,020$, $P=0,030$), odnosno kroz cijelo dvadesetčetirisanatno dežurstvo. Ranije smo naveli da je CRP proaterosklerotski pokazatelj. Navedeno potvrđuje postojanje proinflamatornih promjena na endotelu krvnih žila što je čimbenik razvoja ubrzane ateroskleroze.
- Dokazana je statistički značajna razlika u dinamici aktivnosti faktora VIII između ispitivane i kontrolne skupine ($P=0,029$) s višim vrijednostima aktivnosti faktora VIII na početku i sredinom dežurstva u ispitivanoj skupini, ali kasnije s negativnom dinamikom kretanja vrijednosti. U kontrolnoj skupini se aktivnost faktora VIII snizila već nakon 12 h, moguće kao posljedica završetka redovnog radnog vremena. Faktor VIII je kao što je ranije navedeno protein akutne faze s mogućim proaterogenim i protrombotskim djelovanjem. Prokoagulantno i proaterogeno djelovanje faktora VIII je dakle, uzimajući u obzir kretanje vrijednosti kroz dežurstvo, prisutno samo u prvoj polovini dežurstva.
- Dokazana je statistički značajna razlika u dinamici kretanja aktivnosti vWF među skupinama ($P=0,042$). Aktivnost vWF je bila stabilna u kontrolnoj skupini, dok se u onih koji su radili 24 h, snizila na kraju promatranog razdoblja.
- Sličan rezultat je dobiven za D-dimere koji su kod skupine dežurnih liječnika pokazali pad koncentracije, ali uz statistički graničnu razinu značajnosti dinamike ($P=0,051$).
- Nisu dokazane statistički značajne razlike u vrijednostima fibrinogena, PV, INR, APTV, TV, fibrinolize, PAP i TAT kompleksa između liječnika u dežurnoj i kontrolnoj skupini.
- Razlika u dobivenim rezultatima i većini rezultata o utjecaju stresa na sustav zgrušavanja u dostupnoj literaturi možemo sagledati iz perspektive da je akutni stres u dostupnoj literaturi uglavnom bio provociran kratkotrajnim stresnim događajima u trajanju od nekoliko minuta, te su

se koagulacijski, fibrinolitički i upalni parametri pratili u kraćem vremenskom intervalu nego što je to bio slučaj u ovom radu.

- Ipak, obzirom na statistički značajno više vrijednosti CRP-a kroz cijelo dežurstvo i inicijalno više aktivnosti faktora VIII u skupini dežurnih liječnika, možemo zaključiti da je u 24-satnom dežurstvu pojačan inflamatorni odgovor organizma, dominantno preko CRP-a uz pro-aterogeno djelovanje.
- Potrebna su dodatna istraživanja zbog vrlo stresnog posla koji liječnici obavljaju. Tako bi se steklo više spoznaja o njihovu riziku za razvoj tromboembolijskih i aterosklerotskih incidenata te kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih bolesti. Ti bi rezultati mogli utjecati na eventualnu reorganizaciju rada u dežurstvima i uvođenje češćih preventivnih pregleda te određivanja korisnijih biokemijskih pokazatelja promjena uzrokovanih produljenim radnim vremenom.

8. SAŽETAK

Stres na radnom mjestu aktivira hemostatski sustav što može rezultirati prokoagulantnim stanjem. Također ima utjecaj na stvaranje proupalnih medijatora. Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj 24-satnog dežurstva na pretrage hemostaze: PV, INR, APTV, TV, D-dimere, vrijeme fibrinolize, fibrinogen, aktivnost faktora VIII i vWF, TAT i PAP komplekse, te CRP-a kao akutnog reaktanta upale.

Istraživanje je provedeno na 60 liječnika na specijalističkom usavršavanju životne dobi od 25 do 35 godina u KBC "Sestre milosrdnice" u Centru za hitni prijem (30 liječnika kojima je rad povremeno organiziran u obliku 24-satnog dežurstva i 30 liječnika u kontrolnoj skupini). U obje skupine je krv uzeta tri puta u istim vremenskim točkama (neposredno prije, nakon dvanaest sati, te na kraju 24-satnog dežurstva).

Rezultati su pokazali statistički značajno više vrijednosti CRP-a kroz sva tri mjerenja u skupini dežurnih liječnika ($P=0,024$, $P=0,020$, $P=0,030$). Također je dokazana statistički značajna razlika u dinamici aktivnosti faktora VIII ($P=0,029$) i vWF ($P=0,042$) između skupina.. Nisu dokazane statistički značajne razlike u ostalim mjerenim parametrima.

Zaključno, vrijednosti CRP su bile statistički značajno više u dežurnoj skupini. Faktor VIII je bio inicijalno viši u ispitanika, ali se snižavao na kraju dežurstva, dok iznenađujuće ostali pokazatelji hemostaze nisu pokazali prokoagulantnost krvi u liječnika koji dežuraju ili su čak pokazali hipokoagulabilnost na kraju dežurstva (niža aktivnost vWF, trend nižim D-dimerima i sniženju aktivnosti faktora VIII).

9. SUMMARY

Title: The effect of prolonged working time on activation of hemostatic system

Author: Hana Matijaca

Year: 2019

The workplace stress leads to the activation of the hemostatic system and can also generate proinflammatory mediators. The aim of this study was to examine the effect of the 24-hour shift on coagulation tests of PV, INR, APTV, TV, D-dimers, fibrinolysis, fibrinogen, activity of factor VIII and vWF, TAT and PAP complexes and on CRP as an acute inflammatory agent.

Sixty physicians (residents) between age of 25 and 35 at Clinical Hospital Centre “Sestre milosrdnice” in the Center for Emergency Reception participated (30 participants in the experimental and 30 participants in control group). Blood samples were collected on three occasions at the same points in both groups: shortly before the 24 hour shift, twelve hours after and at the end of the shift.

The results showed statistically significantly higher values of CRP in all three measurements in the experimental group ($P=0,024$, $P=0,020$, $P=0,030$). There was a statistically significant difference in factor VIII ($P=0,029$) and vWF ($P=0.042$) activity dynamics between the groups. There was no statistically significant difference in the values of other factors.

Thus, only the CRP values were statistically significantly higher in the experimental group. Factor VIII was initially higher in subjects but decreased at the end of 24 hour shift, while surprisingly other indicators of hemostatic system have not demonstrated blood procoagulant state in doctors who worked 24 hour shift or have even shown hypocoagulant state at the end of 24 hour shift (lower VWF activity, trend of lower D-dimers and reduction of factor VIII activity).

10. POPIS LITERATURE

1. McVicar A, Ravalier JM, Greenwood C. Biology of stress revisited: Intracellular mechanisms and the conceptualization of stress. *Stress and Health* 2014;30(4):272–9.
2. Havelka M. *Zdravstvena psihologija*. 2. izd. Zagreb: Naklada Slap; 2002, str. 59-77.
3. Knežević B, Golubić R, Milošević M, Matec L, Mustajbegović J. Zdravstveni djelatnici u bolnicama i stres na radu: Istraživanje u Zagrebu. *Sigurnost* 2009;51(2):85–92.
4. Gu H, Tang C, Yang Y. Psychological stress, immune response, and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2012;223(1):69–77.
5. Jankord R, Zhang R, Flak JN, Solomon MB, Albrecht J, Herman JP. Stress activation of IL-6 neurons in the hypothalamus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010;299(1):R343-51.
6. Koelsch S, Boehlig A, Hohenadel M, Nitsche I, Bauer K, Sack U. The impact of acute stress on hormones and cytokines, and how their recovery is affected by music-evoked positive mood. *Sci Rep* 2016;6:23008.
7. Slavish DC, Graham-Engeland JE, Smyth JM, Engeland CG. Salivary markers of inflammation in response to acute stress. *Brain, Behavior and Immunity* 2015;44:253-69.
8. von Känel R, Dimsdale JE. Effects of sympathetic activation by adrenergic infusions on hemostasis in vivo. *Eur J Haematol* 2000;65(6):357–69.
9. Austin AW, Wissmann T, von Känel R. Stress and hemostasis: an update. *Semin Thromb Hemost* 2013;39(8):902–12.

10. von Känel R. Acute mental stress and hemostasis: when physiology becomes vascular harm. *Thromb Res* 2015;135Suppl 1:52–5.
11. von Känel R. Psychosocial stress and cardiovascular risk : current opinion. *Swiss Med Wkly*. 2012;142:w13502.
12. von Känel R, Mills PJ, Fainman C, Dimsdale JE. Effects of psychological stress and psychiatric disorders on blood coagulation and fibrinolysis: a biobehavioral pathway to coronary artery disease? *Psychosom Med* 2001;63(4):531-44.
13. von Känel R, Kudielka BM, Hanebuth D, Preckel D, Fischer JE. Different contribution of interleukin-6 and cortisol activity to total plasma fibrin concentration and to acute mental stress-induced fibrin formation. *ClinSci* 2005;109(1):61–7.
14. Bellingrath S, Kudielka BM. Effort-reward-imbalance and overcommitment are associated with hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis responses to acute psychosocial stress in healthy working schoolteachers. *Psychoneuroendocrinology* 2008;33(10):1335–43.
15. Hjemdahl P, von Kanel R. Hemostatic effects of stress. U: Hjemdahl P, Rosengren A i Steptoe A, ur. *Stress and Cardiovascular Disease*. London: Springer; 2012, str. 89-110.
16. Mariotti A. The effects of chronic stress on health: new insights into the molecular mechanisms of brain – body communication. *Futur Sci OA* 2015;1(3): FSO23.
17. van der Pas R, Leebeek FWG, Hofland LJ, de Herder WW, Felders RA. Hypercoagulability in Cushing's syndrome: prevalence, pathogenesis and treatment. *Clin Endocrinol* 2013;78(4):481-8.
18. Steptoe A, Hamer M, Chida Y. The effects of acute psychological stress on circulating inflammatory factors in humans: A review and meta-analysis. *Brain, Behavior, and Immunity* 2007;21(7):901-12.
19. Johnson TV, Abbasi A, Master VA. Systematic review of the evidence of a relationship between chronic psychosocial stress and C-reactive protein. *Mol Diagn Ther* 2013;17(3):147-64.

20. Shrivastava AK, Singh HV, Raizada A, Singh SK. C-reactive protein, inflammation and coronary heart disease. *The Egyptian Heart Journal* 2015;67(2):89-97.
21. Mugabo Y, Li L, Renier G. The connection between C-reactive protein (CRP) and diabetic vasculopathy. Focus on preclinical findings. *Curr Diabetes Rev* 2010;6(1):27-34.
22. Romani M, Ashkar K. Burnout among physicians. *Libyan J Med* 2014;9:23556.
23. Chong A, Killeen O, Clarke T. Work-related stress among pediatric non-consultant hospital doctors. *Ir Med J* 2004;97(7):203–5.
24. Matejovic M, Chvojka J, Sykora R, i sur. A 24-h work shift in intensive care personnel: biological pathways between work stress and ill health. *J Int Med Res* 2011;39:629–36.
25. Vrijkotte TG, van Doornen LJ, de Geus EJ. Work stress and metabolic and hemostatic risk factors. *Psychosom Med* 1999;61(6):796-805.
26. von Känel R, Frey K, Fischer JE. Independent relation of vital exhaustion and inflammation to fibrinolysis in apparently healthy subjects. *Scandinavian Cardiovascular Journal* 2004;38(1):28-32.
27. Montagnana M, Salvagno GL, Lippi G. Circadian variation within hemostasis: an underrecognized link between biology and disease? *Semin Thromb Hemost* 2009;35(1):23-33.
28. Muller JE, Stone PH, Turi ZG, i sur. Circadian variation in the frequency of onset of acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1985;313(21):1315-22.
29. Undar L, Akkoç N, Alakavuklar MN, Cehreli C, Undar L. Flow cytometric analysis of circadian changes in platelet activation using anti-GMP-140 monoclonal antibody. *Chronobiol Int* 1999;16(3):335-42.
30. Tamura EK, Silva CL, Markus RP. Melatonin inhibits endothelial nitric oxide production in vitro. *J Pineal Res* 2006;41(3):267-74.

31. Bertolucci C, Pinotti M, Colognesi I, Foà A, Bernardi F, Portaluppi F. Circadian rhythms in mouse blood coagulation. *J Biol Rhythms* 2005;20(3):219-24.
32. Iversen PO, Groot PDE, Hjeltnes N, Andersen TO, Mowinckel MC, Sandset PM . Impaired circadian variations of haemostatic and fibrinolytic parameters in tetraplegia . *Br J Haematol* 2002;119(4):1011–6.
33. Blombäck M, Konkle BA, Manco-Johnson MJ, Bremme K, Hellgren M, Kaaja R. Preanalytical conditions that affect coagulation testing, including hormonal status and therapy. *J Thromb Haemost* 2007;5(4):855–8.
34. Rudnicka AR, Rumley A, Lowe GD, Strachan DP. Diurnal, seasonal, and blood-processing patterns in levels of circulating fibrinogen, fibrin D-dimer, C-reactive protein, tissue plasminogen activator, and von Willebrand factor in a 45-year-old population. *Circulation* 2007;115(8):996-1003.
35. Haus E, Cusulos M, Sackett-Lundeen L, Swoyer J. Circadian variations in blood coagulation parameters, alpha-antitrypsin antigen and platelet aggregation and retention in clinically healthy subjects. *Chronobiol Int* 1990;7(3):203-16.
36. Scheer FAJL , Shea SA. Human circadian system causes a morning peak in prothrombotic plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) independent of the sleep/wake cycle. *Blood* 2014; 123:590-3.
37. Chong NW, Codd V, Chan D, Samani NJ. Circadian clock genes cause activation of the human PAI-1 gene promoter with 4G/5G allelic preference. *FEBS Lett* 2006;580(18):4469-72.
38. Labar B, Hauptman E. Hematologija. Zagreb: Školska knjiga; 2007, str. 406-12.
39. Chapin JC, Hajjar KA. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Rev* 2015;29(1):17-24.
40. Zadro R. Laboratorijsko ispitivanje poremećaja hemostaze. U: Labar i sur. Hematologija. Zagreb: Školska knjiga; 2017, str. 717-18.

41. Lutze G, Breyer J, Zawta B. Useful Facts about Coagulation. Mannheim: Roche Diagnostics; 2000, str. 17.
42. Lazzarino AI, Hamer M, Gaze D, i sur. The association between fibrinogen reactivity to mental stress and high-sensitivity cardiac troponin T in healthy adults. *Psychoneuroendocrinology* 2015;59:37–48.
43. Adam SS, Key NS, Greenberg CS. D-dimer antigen: current concepts and future prospects. *Blood* 2009;113(13): 2878-87.
44. Hoek JA, Sturk A, ten Cate JW, Lamping RJ, Berends F, Borm JJ. Laboratory and clinical evaluation of an assay of thrombin-antithrombin III complexes in plasma. *Clin. Chem* 1988;34(10):2058-62.
45. von Känel R, Mills PJ, Ziegler MG, Dimsdale JE. Effect of β 2-adrenergic receptor functioning and increased norepinephrine on the hypercoagulable state with mental stress. *American Heart Journal* 2002;144(1):68-72.
46. Kawano TA, Aoki N, Homori M, i sur. Mental stress and physical exercise increase platelet-dependent thrombin generation. *Heart Vessels* 2000;15(6):280-8.
47. Haka AS, Grosheva I, Singh RK, Maxfield FR. Plasmin promotes foam cell formation by increasing macrophage catabolism of aggregated low-density lipoprotein. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2013;33:1768-78.
48. Sakata Y, Aoki N. Significance of cross-linking of α 2-antiplasmin inhibitor to fibrin in inhibition of fibrinolysis and in hemostasis. *J Clin Invest* 1982;69(3):536–42.
49. Aoki N, Harpel PC. Inhibitors of the fibrinolytic enzyme system. *Sem Thromb Hemostas* 1984; 10:24–41.
50. Hattey E, Haumer M, Binder A, Binder BR. Plasmin— α 2-antiplasmin complexes. U : Jespersen J, Bertina RM, Haverkate F, ur. *ECAT Assay Procedures A Manual of Laboratory Techniques*. Dordrecht: Springer; 1992, str.173-83.

51. Collen D, Wiman B. Turnover of antiplasmin, the fast-acting plasmin inhibitor of plasma. *Blood* 1979;53(2):313-24.
52. Meijer P, Kamerling SWA, van de Ham FJ, Kret R, Kluft C, Kraus J. Baseline levels of α 2-antiplasmin-plasmin complex in human plasma. *Fibrinolysis* 1994;8(2):124-5.
53. Montes R, Páramo JA, Anglès-Cano E, Rocha E. Development and clinical application of a new ELISA assay to determine plasmin- α 2-antiplasmin complexes in plasma. *Br J Haematol* 1996;92(4):979-85.
54. Tür FÇ, Toker İ, Şaşmaz CT, Hacı S, Türe B. Occupational stress experienced by residents and faculty physicians on night shifts. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2016;22:24-34.
55. Wirtz PH, Redwine LS, Baertschi C, Spillmann M, Ehlert U, von Känel R. Coagulation activity before and after acute psychosocial stress increases with age. *Psychosom Med* 2008;70(4):476-81.
56. Sang Baek Ko. Night Shift Work, Sleep Quality, and Obesity. *J Lifestyle Med* 2013;3(2):110-6.
57. Montecucco F, Mach F. New evidences for C-reactive protein (CRP) deposits in the arterial intima as a cardiovascular risk factor. *Clin Interv Aging* 2008;3(2):341-9.
58. Stancel N, Chen CC, Ke LY, et al. Interplay between CRP, atherogenic LDL, and LOX-1 and its potential role in the pathogenesis of atherosclerosis. *Clin Chem* 2016;62(2):320-7.
59. Devaraj S, Siegel D, Jialal I. Statin therapy in metabolic syndrome and hypertension Post-JUPITER: What is the value of CRP? *Curr Atheroscler Rep* 2011;13(1):31-42.
60. Venugopal SK, Devaraj S, Jialal I. C-reactive protein decreases prostacyclin release from human aortic endothelial cells. *Circulation* 2003;108(14):1676-8.

61. Libby P, Ridker PM. Inflammation and atherosclerosis : role of C-reactive protein in risk assesment. *Am J Med* 2004;116Suppl6A:9-16.
62. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein and atherothrombosis . *Ital Heart J* 2001;2(3):196-9.
63. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA* 2003;290(22):2945-51.
64. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the predicton of first cardiovascular events. *N Engl J Med*2002;347(20):1557-695.
65. Lagrand WK, Visser CA, Hermens WT, i sur.C-reactive protein as a cardiovascular risk factor: more than an epiphenomenon? *Circulation* 1999;100(1):96-102.
66. Everett BM, Kurth T, Buring JE, Ridker PM. The relative strength of C-reactive protein and lipid levels as determinants of ischemic stroke compared with coronary heart disease in women. *J Am Coll Cardiol* 2006;48(11):2235-42.
67. Paffen E, DeMaat MP. C-reactive protein in atherosclerosis : A causal factor? *Cardiovasc Res* 2006;71(1):30-9.
68. Haverkate F, Thompson SG, Pyke SD, Gallimore JR, Pepys MB. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis an Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet* 1997;349(9050):462-6.
69. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in woman. *N England J Med* 2000;342(12):836-43.

70. Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages :implications for atherosclerosis . *Circulation* 2001;103(9):1194-7.
71. Paffen E, Vos HL, Bertina RM. C-reactive protein does not directly induce tissue factor in human monocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:975-81.
72. Deveraj S, Xu DY, Jialal I. C-reactive protein increases plasminogen activator inhibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells : implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis. *Circulation* 2003;107(3):398-404.
73. Wang CH, Li SH, Weisel RD, i sur. C-reactive protein upregulates angiotensin type 1 receptors in vascular smooth muscle. *Circulation* 2003; 107(13):1783-90.
74. Jankowiak S, Backe E, Liebers F, i sur. Current and cummulative night shift work and subclinical atherosclerosis: results of the Gutenberg Health Study. *Int Arch Occup Environ Health* 2016;89(8):1169-82.
75. Kecklund G, Axellson J. Health consequences of shift work and insufficient sleep. *Clinical Review. BMJ* 2016;355:i5210.
76. von Känel R, Dimsdale JE, Patterson TL, Grant I. Acute procoagulant stress response as a dynamic measure of allostatic load in Alzheimer caregivers.*Ann Behav Med* 2003;26(1):42-8.
77. Wirtz PH, Ehlert U, Emini L, i sur. Anticipatory cognitive stress appraisal and the acute procoagulant stress response in men. *Psychosom Med* 2006;68(6):851-8.
78. Danesh J, Whincup P, Walker M, i sur. Fibrin D-dimer and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *Circulation* 2001; 103(19):2323-7.
79. von Känel R, Bellingrath S, Kudielka BM. Association of vital exhaustion and depressive symptoms with changes in fibrin D-dimer to acute psychosocial stress. *Journal of Psychosomatic Research* 2009;67(1):93-101.

80. Ingram GIC, Vaughan Jones R. The rise in clotting factor VIII induced in man by adrenaline:effect of alfa- and β - blockers. *The Journal of Physiology* 1966;187:447-54.
81. Begbie M, Notley C, Tinlin S, Sawyer L, Lillicrap D. The Factor VIII acute phase response requires the participation of NFkappaB and C/EBP. *Thromb Haemost* 2000;84(2):216-22.
82. Jenkins PV, Rawley O, Smith OP, O'Donnell JS. Elevated factor VIII levels and risk of venous thrombosis. *Br J Haemat* 2012;157(6):653–63.
83. Rosendaal FR. Factor VIII and coronary heart disease. *Eur J Epidemiol* 1992;8(1):71-5.
84. Chang SJ, Koh SB, Cha BS, Park JK. Job Characteristics and Blood Coagulation Factors in Korean male workers. *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 2002;44(11):997-1002.
85. Stocksclaeder M, Schneppenheim R, Budde U. Update on von Willebrand factor multimers: focus on high-molecular-weight multimers and their role in hemostasis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2014;25(3):206–16.
86. Rumley A, Lowe GD, Sweetnam PM, Yarnell JW, Ford RP. Factor VIII, von Willebrand factor and the risk of major ischaemic heart disease in the Caerphilly Heart Study. *Br J Haematol* 1999;105(1):110-6.
87. Cao W, Krishnaswamy S, Camire RM, Lenting PJ, Zheng XL. Factor VIII accelerates proteolytic cleavage of von Willebrand factor by ADAMTS13. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105(21):7416–21.
88. Snieder H, Huizink AC, Boomsma DI, van Doornen LJP. Influence of mental stress on fibrinogen, von Willebrand factor and tissue-type plasminogen activator antigen. *Fibrinolysis* 1996;10(2):137-9.

89. Saharov G , Nadir Y, Zoran I , Keren A , Brenner B, Shochat T. Hemostatic markers in shift working female nurses. *Sleep Medicine* 2013;14(1):265-6.

11. ŽIVOTOPIS

Hana Matijaca rođena je 13. prosinca 1984. godine. Osnovnu školu završila je u Splitu. Prvu jezičnu gimnaziju također je završila u Splitu. Upisala je Medicinski fakultet u Zagrebu 2003. g., diplomirala je 2009. godine. Tijekom studija obavljala je dužnost demonstratora na nekoliko katedri. Dobitnica je Dekanove nagrade u akademskoj godini 2004./2005. Pripravnički staž obavljala je u Kliničkom bolničkom centru „Sestre milosrdnice“ . Godine 2010. položila je stručni ispit za doktora medicine. Doktorski studij „Biomedicina i zdravstvo“ na Medicinskom fakultetu u Zagrebu upisala je 2011. godine. Specijalistički ispit iz interne medicine položila je 2015. godine. Zaposlena je u Kliničkom bolničkom centru „Sestre milosrdnice“. Radi na Zavodu za hematologiju kao odjelni liječnik. Užu specijalizaciju iz hematologije započela je 2016.godine. Članica je Hrvatskog zbora liječnika. Govori i piše engleski i talijanski jezik.

POPIS TABLICA

1. Tablica 1. Prikaz promjena parametara hemostaze u akutnom stresu
2. Tablica 2. Statistika - usporedbe izmjerenih vrijednosti PV za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju
3. Tablica 3. Statistika - parametri razlike dinamike PV tijekom promatranog razdoblja
4. Tablica 4. Statistika -usporedbe izmjerenih vrijednosti INR za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju
5. Tablica 5. Statistika -parametri razlike dinamike INR tijekom promatranog razdoblja
6. Tablica 6. Statistika - usporedbe izmjerenih vrijednosti APTV za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju
7. Tablica 7. Statistika - parametri razlike dinamike APTV tijekom promatranog razdoblja
8. Tablica 8. Statistika -usporedbe izmjerenih vrijednosti fibrinogena za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju
9. Tablica 9. Statistika -parametri razlike dinamike fibrinogena tijekom promatranog razdoblja
10. Tablica 10. Statistika -usporedbe izmjerenih vrijednosti fibrinolize za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju
11. Tablica 11. Statistika -parametri razlike dinamike fibrinolize tijekom promatranog razdoblja
12. Tablica 12. Statistika -usporedbe izmjerenih vrijednosti TV za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju
13. Tablica 13. Statistika -parametri razlike dinamike TV tijekom promatranog razdoblja
14. Tablica 14. Statistika -usporedbe izmjerenih vrijednosti D-dimera za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju
15. Tablica 15. Statistika -parametri razlike dinamike D-dimera tijekom promatranog razdoblja
16. Tablica 16. Statistika -usporedbe izmjerenih vrijednosti vWF:RCo za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju
17. Tablica 17. Statistika -parametri razlike dinamike vWF:RCo tijekom promatranog razdoblja

18. Tablica 18. Statistika -usporedbe izmjerenih vrijednosti Faktora VIII za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju
19. Tablica 19. Statistika -parametri razlike dinamike Faktora VIII tijekom promatranog razdoblja
20. Tablica 20. Statistika -usporedbe izmjerenih vrijednosti PAP za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju
21. Tablica 21. Statistika -parametri razlike dinamike PAP tijekom promatranog razdoblja
22. Tablica 22. Statistika -usporedbe izmjerenih vrijednosti TAT za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju
23. Tablica 23. Statistika -parametri razlike dinamike TAT tijekom promatranog razdoblja
24. Tablica 24. Statistika -usporedbe izmjerenih vrijednosti CRP za svako promatrano mjerenje između ispitanika koji dežuraju i koji ne dežuraju
25. Tablica 25. Statistika -parametri razlike dinamike CRP tijekom promatranog razdoblja

POPIS SLIKA

1. Slika 1. Pojednostavljeni prikaz koagulacijske kaskade
2. Slika 2. Prikaz aktivatora i inhibitora sustava fibrinolize
3. Slika 3. Prikaz D-dimera
4. Slika 4. Grafički prikaz dinamike vrijednosti PV tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura
5. Slika 5. Grafički prikaz dinamike vrijednosti INR tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura
6. Slika 6. Grafički prikaz dinamike vrijednosti APTV tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura
7. Slika 7. Grafički prikaz dinamike vrijednosti fibrinogena tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura
8. Slika 8. Grafički prikaz dinamike vrijednosti fibrinolize tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura
9. Slika 9. Grafički prikaz dinamike vrijednosti TV tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura
10. Slika 10. Grafički prikaz dinamike vrijednosti D-dimera tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura
11. Slika 11. Grafički prikaz dinamike vrijednosti vWF:RCo tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura
12. Slika 12. Grafički prikaz dinamike vrijednosti Faktora VIII tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura

13. Slika 13. Grafički prikaz dinamike vrijednosti PAP tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura
14. Slika 14. Grafički prikaz dinamike vrijednosti TAT tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura
15. Slika 15. Grafički prikaz dinamike vrijednosti CRP tijekom promatranog razdoblja i usporedba dinamike promjena između skupine koja dežura u odnosu na skupinu koja ne dežura