Uloga markera endotelne disfunkcije

Dragičević, Maro

Doctoral thesis / Disertacija

2021

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:682772

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository





SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Maro Dragičević

Uloga markera endotelne disfunkcije: asimetričnoga dimetil arginina i dušičnoga oksida u procjeni kardiovaskularnoga rizika nakon transplantacije jetre

DISERTACIJA

Zagreb, 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Maro Dragičević

Uloga markera endotelne disfunkcije: asimetričnoga dimetil arginina i dušičnoga oksida u procjeni kardiovaskularnoga rizika nakon transplantacije jetre

DISERTACIJA

Zagreb, 2021.

Disertacija je izrađena na Klinici za unutarnje bolesti Kliničke bolnice Merkur i Kliničkom zavodu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinsku dijagnostiku Kliničke bolnice Merkur.

Voditeljice rada: izv. prof. dr. sc. Anna Mrzljak, dr. med. i dr. sc. Marijana Vučić Lovrenčić

Iskreno se zahvaljujem mentoricama, izv. prof. dr. sc. Anni Mrzljak i dr. sc. Marijani Vučić Lovrenčić na neizmjernom strpljenju, podršci i stručnom vodstvu koji su doveli do nastanka ove disertacije.

Hvala mojoj obitelji i prijateljima na moralnoj podršci.

Sadržaj

1. Uvod i svrha rada 1
   1.1. Transplantacija jetre 1
      1.1.1. Komplikacije nakon transplantacije jetre 1
      1.1.2. Komorbiditeti bolesnika prilikom transplantacije jetre 2
   1.2. Kardiovaskularne bolesti prije i nakon transplantacije jetre 2
   1.3. Asimetrični dimetilarginin i dušični oksid 4
      1.3.1. Povezanost ADMA i NO s kardiovaskularnim bolestima 8
      1.3.2. ADMA i NO u terminalnoj bolesti jetre i nakon transplantacije jetre 8
   1.4. Svrha rada 9
2. Hipoteza 10
3. Ciljevi rada 11
4. Ispitanici i metode 12
   4.1. Ustroj istraživanja 12
   4.2. Protokol studije 12
   4.3. Izračun MELD 14
   4.4. Biokemijski parametri 15
   4.5. Analize ADMA i NO 15
      4.5.1. ADMA 15
      4.5.2. NO 17
   4.6. Definicije kardiovaskularnih čimbenika rizika 19
   4.7. Određivanje bubrežne funkcije i stadiji kronične bubrežne bolesti 20
   4.8. Ehokardiografski parametri 21
   4.9. SCORE 21
   4.10. Antropološka mjerenja i mjerenja krvnoga tlaka 22
   4.11. Statističke metode 22
5. Rezultati 23
   5.1. Karakteristike bolesnika prije transplantacije jetre 23
   5.2. Klinički, metabolički i biokemijski parametri prije transplantacije jetre 24
   5.3. Parametri kardiovaskularnog pobola i rizika prije transplantacije jetre 26

5.4. Povezanost ADMA i NO s kardiovaskularnim rizikom prije transplantacije jetre 27

5.4.1. Utjecaj težine i etiologije jetrene bolesti na koncentraciju ADMA i NO prije transplantacije jetre 28

5.4.2. Utjecaj kardiovaskularnog rizika na koncentraciju ADMA i NO prije transplantacije jetre 31

5.4.3. Povezanost ADMA i NO s kardiovaskularnim rizikom prije transplantacije jetre 32

5.5. Parametri kardiovaskularnog pobola i rizika nakon transplantacije jetre....34

5.5.1. Incidencije kardiovaskularnih bolesti i rizičnih čimbenika 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre 34

5.5.2. Prevalencije kardiovaskularnih bolesti i rizičnih čimbenika 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre 35

5.5.3. Pušenje i tjelesna aktivnost nakon transplantacije jetre 37

5.5.4. SCORE indeks kardiovaskularnog rizika nakon transplantacije jetre 38

5.6. Kardiometabolička i imunosupresivna terapija nakon transplantacije jetre 39

5.7. Karakteristike bolesnika nakon transplantacije jetre 40

5.7.1. Dinamika kretanja laboratorijskih i kliničkih parametara nakon transplantacije jetre 40

5.7.2. Dinamika kretanja i povezanosti ADMA i NO nakon transplantacije jetre 44

5.7.3. Prediktivni čimbenici koncentracije ADMA i NO nakon transplantacije jetre 46

5.8. Povezanost ADMA i NO s kardiovaskularnim rizikom nakon transplantacije jetre....49

5.9. Prediktivni čimbenici kardiovaskularnog rizika nakon transplantacije jetre....50

5.10 Preživljenje nakon transplantacije jetre 52

6. Rasprava....54

7. Zaključci....63

8. Sažetak na hrvatskom jeziku....64

9. Naslov i sažetak na engleskom jeziku....66

10. Popis literature 68

11. Životopis....82

POPIS OZNAKA I KRATICA

ADMA	asimetrični dimetilarginin
ALP	alkalna fosfataza
ALT	alanin aminotransferaza
ARDS	akutni respiratorni distres sindrom
AST	aspartat aminotransferaza
BMI	indeks tjelesne mase (engl. body mass index)
CCC	kolangiocelularni karcinom (engl. cholangiocellular carcinoma)
CI	interval pouzdanosti (engl. confidence interval)
CK	cirotična kardiomiopatija
CNI	kalcineurinski inhibitor (engl. calcineurin inhibitor)
CRP	C reaktivni protein
CVI	cerebrovaskularni inzult
DDAH	dimetilarginin dimetilaminohidrolaza
DNA	deoksiribonukleinska kiselina
EAS	European Atherosclerosis Society
eGFR	procijenjena brzina glomerularne filtracije (engl. estimated glomerular filtration rate)
EKG	elektrokardiogram
eNOS	endotelna sintaza dušičnog oksida
ESC	European Society of Cardiology
ESH	European Society of Hypertension
GGT	gama glutamiltransferaza
GUP	glikemija u plazmi
HbA1c	hemoglobin A1c

HBV	hepatitis B virus
HCC	hepatocelularni karcinom (engl. hepatocellular carcinoma)
HCV	hepatitis C virus
HDL-kolesterol	kolesterol u lipoproteinima visoke gustoće (engl. high density lipoprotein-cholesterol)
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry
iNOS	inducibilna sintaza dušičnog oksida
IVS	interventrikulski septum
KBB	kronična bubrežna bolest
KOL	ukupni kolesterol
KV	kardiovaskularni
LDL-kolesterol	kolesterol u lipoproteinima niske gustoće (engl. low density lipoprotein-cholesterol)
LVPW	stražnja stijenka lijevog ventrikula srca (engl. left ventricular posterior wall)
MDRD	formula za procjenu bubrežne funkcije iz serumskog kreatinina (engl. modification in diet of renal disease)
MELD	prognostički model preživljavanja jetrene bolesti (engl. model for end stage liver disease)
mj	mjeseci
MMF	mikofenolat mofetil
NAFLD	nealkoholna masna bolest jetre (engl. non-alcoholic fatty liver disease)
NET	neuroendokrini tumor
NGSP	National Glycohemoglobin Standardization Programme
nNOS	neuronalna sintaza dušičnog oksida

NO	dušični oksid
NOS	sintaza dušičnog oksida
P	p vrijednost
PBC	primarni bilijarni kolangitis (engl. primary biliary cholangitis)
PSC	primarni sklerozirajući kolangitis (engl. primary sclerosing cholangitis)
PV-INR	protrombinsko vrijeme-internacionalni normirajući omjer
RNA	ribonukleinska kiselina
RR	Riva Rocci
SCORE	tablice za izračunavanje kardiovaskularnog rizika (engl. Systematic COronary Risk Evaluation)
SD	standardna devijacija
Sr	srednja
TJ	transplantacija jetre
TM	tjelesna masa
TV	tjelesna visina
UZV	ultrazvuk
VEGF	vaskularni endotelni čimbenik rasta (engl. vascular endothelial growth factor)

1. UVOD I SVRHA RADA

1.1. Transplantacija jetre

Transplantacija jetre (TJ) je etablirana metoda liječenja terminalne kronične bolesti jetre, akutnog zatajenja jetre i određenih tumora jetre. Kao rezultat napretka kirurških tehnika, imunosupresivnog liječenja i intenzivne skrbi, jednogodišnje preživljenje danas iznosi 83%, a 10-godišnje preživljenje 60% (1). Današnja alokacija organa temelji se na bodovnom sustavu modela za terminalnu bolest jetre (eng. Model for End stage Liver Disease, MELD). MELD obuhvaća tri varijable: ukupni bilirubin, kreatinin te INR (2) i predstavlja procjenu kratkoročnog preživljenja bolesnika s terminalnom bolesti jetre (3). Imunosupresivna terapija nužan je dio transplantacijskog liječenja i ima za cilj sprječavanje odbacivanja presatka te produženje života presatka i primatelja. U kontroli imunološkog odgovora nakon transplantacije najčešće se koristi nekoliko lijekova različitih mehanizama djelovanja na imunološki sustav. Imunosupresivna terapija zahtijeva pažljivu ravnotežu između sprječavanja odbacivanja organa i neželjenih nuspojava imunosupresivnih lijekova (4). Nuspojave imunosupresije se mogu očitovati metaboličkim komplikacijama, poremećajem bubrežne funkcije, neurotoksičnosti kao i infektivnim i neoplastičnim komplikacijama (5).

1.1.1 Komplikacije nakon transplantacije jetre

Komplikacije nakon transplantacije jetre se dijele na rane i kasne. Rane komplikacije nastaju u prvih 6 mjeseci nakon TJ i uključuju kirurške komplikacije samoga zahvata poput krvarenja, opstrukciju protoka u krvnim žilama, bilijarne strikture i 'leakove' (6), akutno odbacivanje jetrenog presatka i infekcije (7). Kasne komplikacije nakon TJ se javljaju u periodu od 6 mjeseci nakon TJ. Obuhvaćaju kronično odbacivanje jetrenog presatka, recidive

osnovnih bolesti, poremećenu funkciju bubrega, pojavu novonastalih tumora, infekcija kao i metaboličkih bolesti (7).

1.1.2. Komorbiditeti bolesnika prilikom transplantacije jetre

Komorbiditeti imaju važnu ulogu u transplantacijskom liječenje. Neki od njih predstavljaju apsolutnu prepreku za transplantaciju poput nekontrolirane ekstrahepatične maligne bolesti, nekontrolirane sistemske infekcije, aktivni abusus alkohola, visoka životna dob, teška kardiovaskularna bolest, moždana smrt ili psihosocijalni razlozi (8, 9).

Međutim, većina komorbiditeta poput šećerne bolesti, arterijske hipertenzije, hiperlipidemije, cerebrovaskularne bolesti, kardiovaskularne bolesti, kronične bubrežne bolesti (10-14) s kojima bolesnik ulazi u transplantaciju, predstavljaju dodatni rizik i mogu utjecati na ishode liječenja.

Kardiovaskularne bolesti su danas jedne od najznačajnijih komorbiditeta u različitim skupinama bolesnika, pa tako i kod kandidata za transplantaciju jetre (15), a njihov značaj osobito raste nakon transplantacije uslijed uvođenja metabolički aktivnih imunosupresivnih lijekova. Tome također doprinosi i činjenica da su kandidati za TJ danas stariji čime neminovno imaju više dobno vezanih komorbiditeta i veći mortalitet (16).

1.2. Kardiovaskularne bolesti prije i nakon transplantacije jetre

Bolesnici s cirozom jetre imaju jedinstvene hemodinamske i kardiovaskularne značajke u sklopu hiperdinamskog sindroma koje su karakterizirane povišenim srčanim minutnim volumenom, ubrzanom srčanom frekvencijom, niskom perifernom vaskularnom rezistencijom i krvnim tlakom (17) što može pridonijeti razvoju kardiovaskularnih komplikacija u ranom

postoperativnom periodu (18). Nadalje, bolesnici s cirozom jetre imaju redistribuciju volumena plazme u korist splanhičnog krvotoka i posljedičnu centralnu hipovolemiju (19). Cirotična kardiomiopatija (CK) je definirana kombinacijom sistoličke i dijastoličke disfunkcije kao i elektrokardiografskim poremećajima u vidu produženog QTc intervala (17, 19). Patofiziološki mehanizmi oštećenja sistoličke funkcije leže u poremećaju beta adrenergičkih receptora, povišenja endogenih kanabinoida te kardiosupresivnih molekula kao što su dušični oksid i upalni citokini. Poremećaj dijastoličke funkcije svoj patofiziološki mehanizam nastanka duguje aktivaciji renin-angiotenzin sustava i zadržavanju soli koji imaju za posljedicu i hipertrofiju srca. QTc prolongacija je posljedica defekta ionskih kanala kao i poremećene fluidnosti membrana (20).

Bolesnici s cirozom jetre imaju sličnu prevalenciju koronarne bolesti srca kao i opća populacija (21). Neopstruktivna i/ili asimptomatska koronarna bolest je prisutna i do 60 % bolesnika s cirozom jetre, dok 2-13% bolesnika ima značajnu koronarnu bolest srca (14,17, 22).

Klasični čimbenici KV rizika su također prisutni u populaciji bolesnika s cirozom jetre i pridonose razvoju KV bolesti (17, 23). Uzevši u obzir navedeno, pažljiva evaluacija kandidata za TJ je od velike važnosti.

Kardiovaskularne bolesti su vodeći uzrok mortaliteta u ranom i kasnom posttransplantacijskom razdoblju. U prvih 30 dana nakon TJ, uzrok su smrti u oko 40% pacijenata (24). Najčešće se manifestiraju srčanim arestom, moždanim udarom, zatajenjem srca i plućnom embolijom. Akutni infarkt miokarda se javlja u oko 5% bolesnika nakon TJ već u prvih 10 dana nakon TJ (25). Transplantacija jetre je svakako događaj koji sa sobom donosi određene patofiziološke promjene organizma. Reperfuzija jetrenog grafta je praćena poremećajem elektrolita, acidozom, hipotermijom i hipotenzijom koja ima za posljedicu postperfuzijski sindrom pri čemu se oslobađanjem citokina uzrokuje hemodinamska

nestabilnost (26). Dodatno, tromboza portalne vene potiče endotelnu disfunkciju koja je povezana s akutnim infarktom miokarda (27).

Kardiovaskularna smrtnost u kasnom posttransplantacijskom razdoblju je povezana s koronarnom bolesti (28). Tijekom života, transplantiranim bolesnicima se povisuje KV rizik kao i općoj populaciji. Tijekom prve godine nakon TJ, kardiovaskularni morbiditet iznosi oko 15%, dok KV smrtnost iznosi oko 3% (25). KV bolesti nakon TJ su i posljedica pojave metaboličkog sindroma (29). Dosadašnje studije ukazuju na prevalenciju koja se kreće u rasponu od 44% do 58% (30). Njegove sastavnice: pretilost, povišeni krvni tlak, poremećen metabolizam glukoze i dislipidemija, nezavisni su čimbenici KV rizika (31). Pretilost prije TJ je jedna od ključnih prediktora nastanka metaboličkog sindroma nakon TJ (32). Bolesnici s kriptogenom cirozom jetre često u pozadini bolesti imaju nealkoholnu masnu bolest jetre (NAFLD, engl. non-alcoholic fatty liver disease) i češće su pretili (33). Pojava metaboličkog sindroma nakon TJ se dovodi u vezu i s imunosupresivnom terapijom, poglavito kalcineurinskim inhibitorima (CNI) (31).

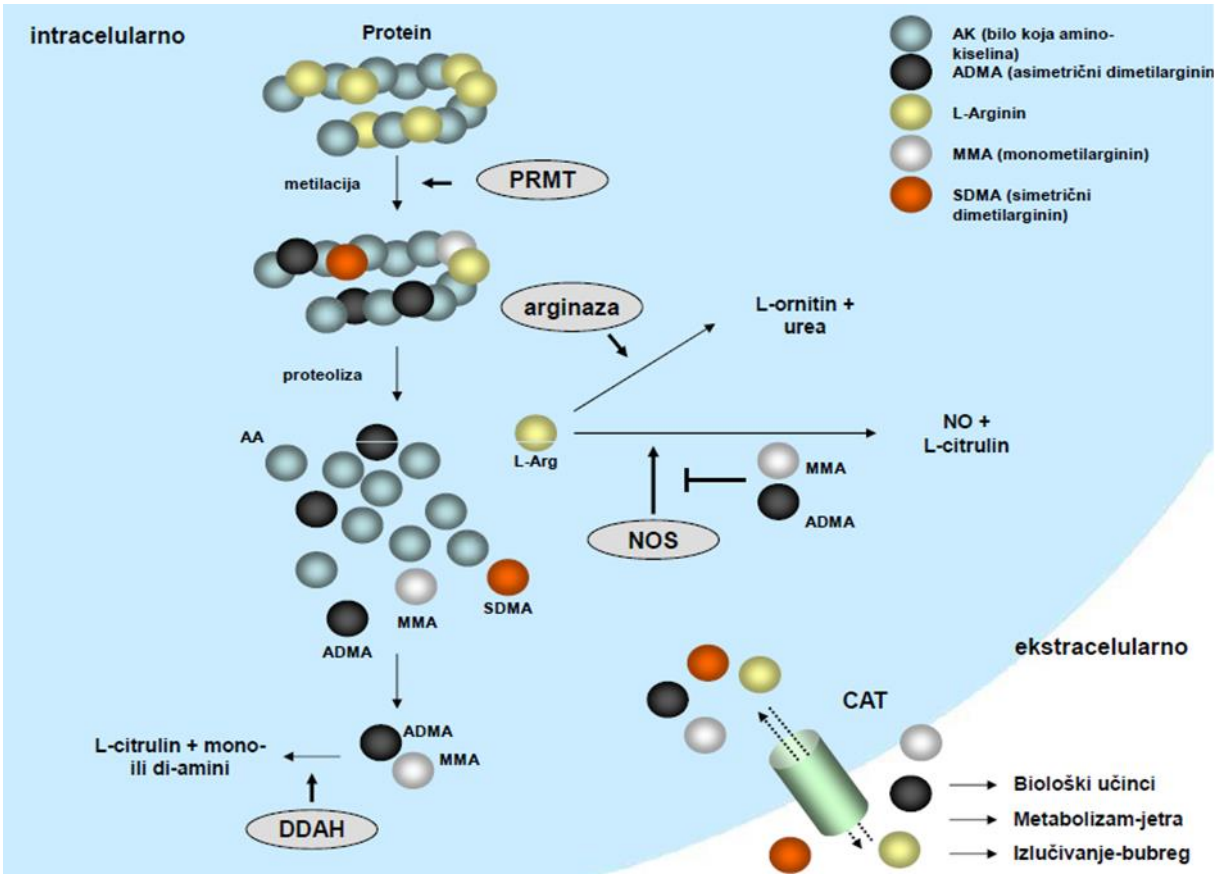
1.3. Asimetrični dimetilarginin i dušični oksid

Osnovu za razvoj kardiovaskularnih bolesti predstavlja ateroskleroza, dok endotelna disfunkcija predstavlja prvi korak u njezinom razvoju. Endotelna disfunkcija rezultat je disbalansa vazokonstrikcijskih i vazodilatacijskih molekula koji na endotelu krvnih žila dovodi do razvoja upale i posljedične migracije miofibroblasta što rezultira razvojem aterosklerotske vaskularne bolesti (34-36).

Dušični oksid (NO) je molekula koja ima mnogostruke uloge u tkivima: djeluje vazodilatatorno na endotel krvnih žila, utječe na hemostazu inhibirajući kontrakcije i rast glatkih mišića, agregaciju trombocita te adheziju leukocita na endotel (37-40). Sintetizira se iz

aminokiseline L- arginina pomoću skupine enzima NO sintaza (NOS) (41). U ljudskom organizmu postoje tri glavne izoforme NOS: endotelna, neuronalna te inducibilna (42) (Slika 2). Neuronalna NOS je prisutna u centralnom i perifernom živčanom sustavu. Odgovorna je za centralnu regulaciju krvnoga tlaka, relaksaciju glatkih mišićnih stanica te vazodilataciju putem perifernih živaca. Inducibilna NOS je dio imunološkog obrambenog sustava u kojem producira velike količine NO u sklopu imunološkog odgovora. Endotelna NOS se nalazi u endotelnim stanicama. Utječe na vazodilataciju, kontrolu krvnoga tlaka te ima protektivno djelovanje na krvne žile kao i antiaterosklerotski učinak. Mnogi kardiovaskularni čimbenici reduciraju djelovanje endotelne NOS i time dovode do endotelne disfunkcije (42). Inhibicija NOS također smanjuje bubrežno izlučivanje soli što pridonosi razvoju hipertenzije (43).

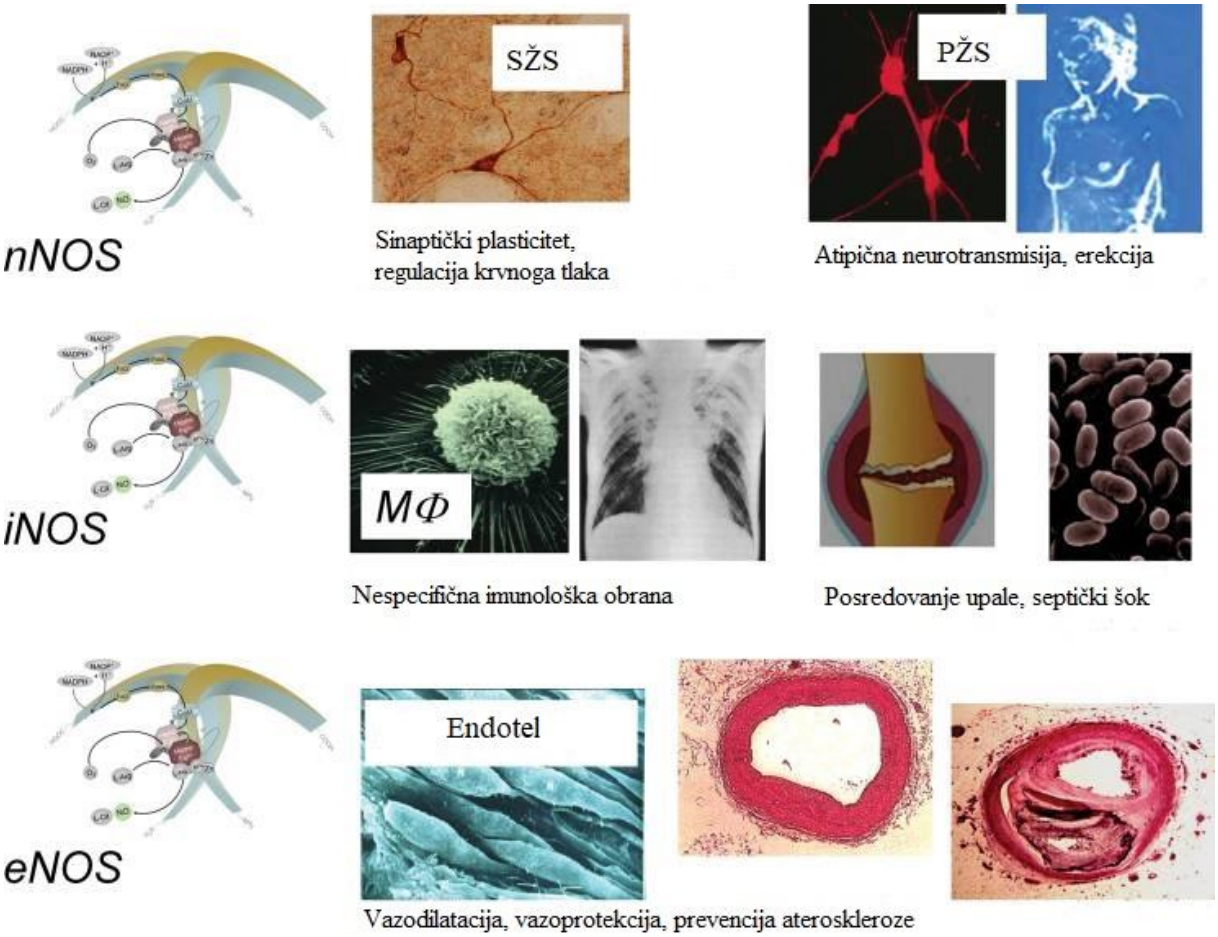
Aktivnost NOS je pod utjecajem endogenih inhibitora, među kojima je najistaknutiji asimetrični dimetilarginin (ADMA) (44). ADMA se sintetizira proteolizom u svim stanicama organizma, djeluje parakrino inhibirajući NOS čime dovodi do supresije produkcije NO (44) (Slika 1). ADMA se razgrađuje pomoću enzima dimetilarginin dimetilaminohidrolaze (DDAH) u jetri (44). Inhibirajući NOS, ADMA uzrokuje vazokonstrikciju i povišenje krvnoga tlaka, onemogućava relaksaciju endotela i povećava adhezivnost endotelnih stanica. ADMA također smanjuje srčanu frekvenciju i srčani minutni volumen. Rezultati brojnih istraživanja upućuju na ADMA kao potencijalni marker kardiovaskularnih bolesti.



Slika 1. Metabolizam metilarginina

PRMT – protein-arginin N-metiltransferaza, DDAH – dimetilarginin-dimetilaminohidrolaza, NOS – sintaza dušičnog oksida, CAT – transporter kationskih aminokiselina

Prilagođeno prema: Zakrzewicz D, Eickelberg O. From arginine methylation to ADMA: A novel mechanism with therapeutic potential in chronic lung diseases. BMC Pulm Med. 2009;9,5 https://doi.org/10.1186/1471-2466-9-5 (45)



Slika 2. NOS - regulacija i funkcija

nNOS – neuronalna NOS (NOS I), iNOS – inducibilna NOS (NOS II), eNOS – endotelna NOS (NOS III), SŽS – središnji živčani sustav, PŽS – periferni živčani sustav

Prilagođeno prema : Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. Eur Heart J. 2012;33(7):829-837. doi:10.1093/eurheartj/ehr304 (46).

1.3.1. Povezanost ADMA i NO s kardiovaskularnim bolestima

Brojne studije u općoj populaciji su identificirale ADMA kao nezavisni čimbenik KV rizika, pri čemu su povišene vrijednosti ADMA u serumu povezane s povećanom incidencijom KV incidenata u rizičnim populacijama (47-59). Kod bolesnika u kojih je kateterizacijom dokazana koronarna bolest srca, povišene vrijednosti ADMA predstavljaju nezavisni faktor rizika za nepovoljne KV ishode (kardiovaskularna smrt, nefatalni infarkt miokarda, ishemijski moždani udar) (60). U bolesnika s infarktom miokarda sa ST elevacijom, ADMA se pokazala kao značajan faktor rizika za jednogodišnji mortalitet (61,62). Vrijednosti ADMA u serumu značajno su povišene kod bolesnika s ishemijskim moždanim udarom (63). Zanimljivo je da se omjer ADMA/NO pokazao boljim prediktivnim markerom za težinu koronarne bolesti srca i rizika od infarkta miokarda, nego samostalne vrijednosti ADMA u serumu (64). Hipertrofija lijevog ventrikula srca je također posljedica sniženja koncentracije NO (65). Sve to upućuje na značajnu ulogu aberacija u metabolizmu metilarginina u kardiovaskularnim bolestima. Vrijednosti ADMA su povišene u bolesnika s hiperlipidemijom, aterosklerozom, povišenim krvnim tlakom, srčanim zatajenjem, šećernom bolesti te kroničnom bubrežnom bolesti (47). Nadalje, povišene vrijednosti ADMA u kroničnoj bubrežnoj bolesti su se pokazale kao nezavisni rizični čimbenik za nastanak KV bolesti (66). Također, NO se dovodi u vezu s metaboličkim i vaskularnim komplikacijama u pretilosti, hipertenziji i šećernoj bolesti (67, 68).

1.3.2. ADMA i NO u terminalnoj bolesti jetre i nakon transplantacije jetre

Dosadašnje studije u kojima je istraživana uloga ADMA/NO u kontekstu terminalne jetrene bolesti i transplantacije jetre pokazuju da je u bolesnika s terminalnom bolesti jetre razina ADMA u serumu povećana i da korelira s težinom portalne hipertenzije (69) te da snižena

produkcija NO povećava vaskularnu rezistenciju i portalnu hipertenziju (70,71). Studije koje istražuju ulogu markera endotelne disfunkcije (ADMA/NO) kod TJ su oskudne i vezane su uz peritransplantacijsko razdoblje (72-76). U neposrednom periodu nakon TJ, dolazi do sniženja razine ADMA u serumu, što se objašnjava oporavkom aktivnosti DDAH (72), dok je povišenje razine ADMA uočeno u sklopu odbacivanja jetrenog presatka (72), kao i u sklopu bubrežne lezije (73).

1.4. Svrha rada

Većina studija KV bolesti nakon TJ bazirana je na dugoročnom praćenju bolesnika. Tijekom duljeg praćenja bolesnika, veća je vjerojatnost razvitka KV bolesti na čije štetne ishode je u kasnijoj fazi teže utjecati. Studije koje se bave procjenom KV rizika u ranom posttransplantacijskom razdoblju su oskudne i nemaju u fokusu aterosklerotsku bolest (77). Od interesa je stoga istražiti dinamiku i ulogu markera endotelne disfunkcije (ADMA/NO) te utvrditi njihovu korelaciju s poznatim KV faktorima s ciljem unapređenja procjene rizika, iznalaženja odgovarajućih ranih intervencija i posljedičnog smanjenja KV mortaliteta i morbiditeta kod bolesnika nakon transplantacije jetre.

2. HIPOTEZA

Nakon transplantacije jetre dolazi do pada razine ADMA i porasta razine NO u serumu bolesnika, a povećanje razine ADMA, odnosno pad NO u posttransplantacijskom razdoblju, kod bolesnika sa stabilnom funkcijom jetrenog presatka korelira s povećanjem KV rizika.

3. CILJEVI RADA

OPĆI CILJ: Istražiti dinamiku, ulogu i značaj markera endotelne disfunkcije: asimetričnog dimetilarginina (ADMA) i dušičnog oksida (NO) u populaciji bolesnika nakon transplantacije jetre te njihovu korelaciju s drugim kliničkim i laboratorijskim pokazateljima KV rizika u razdoblju od godinu dana nakon TJ.

SPECIFIČNI CILJEVI:

- odrediti prevalenciju faktora KV rizika u populaciji kandidata za TJ
- odrediti incidenciju i prevalenciju faktora KV morbiditeta i mortaliteta
- odrediti i utvrditi promjene KV rizika u populaciji nakon TJ

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj istraživanja

Istraživanje je provedeno u obliku prospektivne studije u Kliničkoj bolnici Merkur na skupini od 177 bolesnika u kojih je izvršena TJ u razdoblju od travnja 2014. godine do travnja 2018. godine. Istraživanje se provodilo uz odobrenje Etičkog povjerenstva KB Merkur i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu uz poštivanje etičkih načela i bioetičkih principa koji su u skladu s Nürnberškim kodeksom i najnovijom revizijom Helsinške deklaracije.

4.2. Protokol studije

Uključni kriteriji:

- punoljetni kandidat za transplantaciju jetre
- potpisani informirani pristanak
- stabilna funkcija jetrenog presatka u jednogodišnjem praćenju: definirana odsutnosti biopsijom dokazanog akutnog odbacivanja ili/i vrijednosti jetrenih enzima (AST/ALT) do 2x gornje granice normale ili/i odsutnosti vaskularne jetrene ili bilijarne patologije i odsutnosti akutne infekcije.

Isključni kriteriji:

- bolesnici s prethodnom transplantacijom solidnog organa
- kandidati za transplantaciju s akutnim zatajenjem jetre
- multiorganska transplantacija
- kronična bubrežna bolest (GFR< 60 ml/min/1.73m^2) duže od 6 mjeseci prije TJ i/ili histološki dokaz oštećenja bubrega

Bolesnicima koji su zadovoljili uključne kriterije za studiju, prikupljeni su demografski, laboratorijski, morfološki i klinički parametri prije TJ kao i u unaprijed definiranim periodima nakon TJ.

Parametri istraživanja

Ispitanicima koji su ispunili uključne kriterije i potpisali informirani pristanak prikupljeni su klinički, antropometrijski i laboratorijski pokazatelji prije transplantacije jetre te 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre (Tablica 1).

Tablica 1. Parametri istraživanja

Parametar	Prije transplantacije jetre	6 mjeseci nakon transplantacije jetre	12 mjeseci nakon transplantacije jetre
Dob/Spol	x	-	-
BMI	x	x	x
Opseg struka	-	x	x
Etiologija jetrene bolesti	x	-	-
MELD	x	-	-
Prethodne KV bolesti[1]	x	-	-
Prethodne pridružene bolesti[2]	x	-	-
Kardiovaskularni incidenti[3]	-	x	x
Periferna vaskularna bolest[4]	-	x	x
Novonastala šećerna bolest	-	x	x
Imunosupresivna terapija	-	x	x
Ostala terapija[5]	-	x	x
Tjelesna aktivnost[6]	-	x	x
Pušenje	x	x	x
Krvni tlak	x	x	x
EKG[7]	x	x	x
Ultrazvuk srca[8]	x	-	x
SCORE[9]	x	x	x
Pokazatelji glukoregulacije[10]	x	x	x
Kreatinin / eGFR	x	x	x
Lipidogram[11]	x	x	x
AST, ALT, GGT, AP	x	x	x
CRP	x	x	x
ADMA	x	x	x
NO	x	x	x

[1]Kardiovaskularne bolesti: koronarna bolest srca, periferna aterosklerotska bolest, cerebrovaskularna bolest

[2]Prethodne pridružene bolesti: šećerna bolest, kronična bolest bubrega, arterijska hipertenzija, dislipidemija
[3]Kardiovaskularni incidenti: nefatalni infarkt miokarda, cerebrovaskularni incident, kardiovaskularna smrt, potreba za kirurškom revaskularizacijom miokarda ili perkutanom koronarnom intervencijom
[4]Periferna aterosklerotska bolest: definirana kao aterosklerotska bolest karotidnih, vertebralnih, mezenterijalnih i renalnih arterija te arterija gornjih i donjih ekstremiteta (78)
[5]Ostala terapija: antidijabetička i antihipertenzivna terapija, hipolipemici
[6]Tjelesna aktivnost: mjerena međunarodnim upitnikom tjelesne aktivnosti dostupnim na: https://sites.google.com/site/theipaq/home
[7]EKG: promjene ST spojnice, T valova, blokovi grana, znakovi hipertrofije lijeve klijetke
[8]Ultrazvuk srca: debljina miokarda (IVS i LVPW), stupanj dijastoličke disfunkcije
[9]SCORE: klasifikacija u 4 skupine rizika: vrlo visoki rizik, visoki rizik, umjereni rizik, niski rizik
[10]Pokazatelji glukoregulacije: glukoza u plazmi, HbA1c
[11]Lipidogram: ukupni kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol i trigliceridi

BMI – indeks tjelesne mase (engl: Body Mass Index); MELD – engl: Model for End Stage Liver Disease; KV-kardiovaskularni; EKG – elektrokardiogram; SCORE – engl: Systematic Coronary Risk Estimation, eGFR – procijenjena glomerularna filtracija (engl: estimated Glomerular Filtration Rate), ADMA – asimetrični dimetilarginin; NO – dušični oksid

Svi bolesnici u studiji nakon transplantacije jetre su imali sličan imunosupresivni protokol koji se inicijalno sastojao od kortikosteroida (ukinut unutar 3 mjeseca nakon TJ), mikofenolne kiseline i kalcineurinskog inhibitora (ciklosporina ili takrolimusa). Odabir tipa kalcineurinskog inhibitora se temeljio na odluci liječnika prilikom transplantacije.

4.3. Izračun MELD

Izračun MELD-a za pojedinačnog kandidata bazira se na vrijednosti tri laboratorijska parametra u serumu (bilirubina, kreatinina i INR-a) (79) prema niže navedenoj formuli:

MELD = 10 * ((0.957 * ln(Kreatinin)) + (0.378 * ln(Bilirubin)) + (1.12 * ln(INR))) + 6.43

Formula je dostupna na: https://reference.medscape.com/calculator/meld-score-end-stage-liver-disease

Objašnjenje formule: MELD se množi s 10 i zaokružuje na najbliži cijeli broj. Vrijednosti MELD-a kreću se od 6 do 40. Maksimalna vrijednost MELD-a je 40, a više vrijednosti se

prilagođavaju na 40. Više vrijednosti MELD-a upućuju na teže stanje bolesnika i urgentniju potrebu za transplantacijom.

4.4. Biokemijski parametri

Svi biokemijski parametri korišteni u studiji učinjeni su u Kliničkom zavodu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu KB Merkur akreditiranom prema normi HRN EN ISO15189 (Medical laboratories — Requirements for quality and competence). Krvni uzorci su procesuirani prema preanalitičkom protokolu uključujući centrifugiranje (3000xg, 10 min) i odvajanje od plazme, odnosno seruma za daljnje laboratorijske pretrage. Svježi uzorci su korišteni za rutinske laboratorijske testove dok su alikovoti seruma pohranjeni na -70 ^{0}C odmah nakon odvajanja od stanica za analizu specifičnih biomarkera. Lipidni profil (ukupni kolesterol, HDL-, LDL- kolesterol i trigliceridi), glukoza, AST, ALT, GGT, ALP i bilirubin su mjereni na automatskoj analitičkoj platformi (AU680, Beckman Coulter, USA). INR je izračunat iz protrombinskog vremena određenog automatskim koagulacijskim analizatorom u citratnoj plazmi (Sysmex 2100i, Siemens Healthineers, Germany). HbA1c je mjeren u EDTA-antikoaguliranom uzorku krvi pomoću turbidimetrijske imunoinhibicijske analize (HbA1c Gen 3, Cobas Integra 400 Plus, Roche Diagnostic, Switzerland), koja je slijediva prema IFCC referentnom sustavu, a rezultati izvještavani u NGSP jedinicama (%).

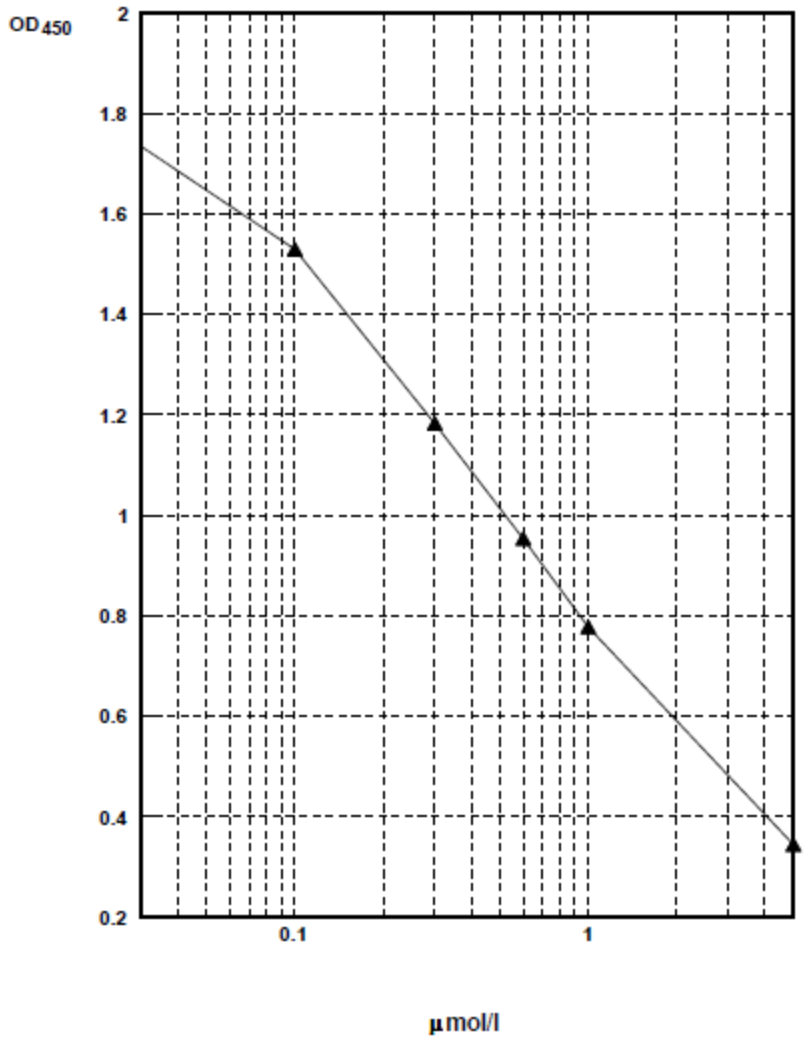
4.5. Analize ADMA i NO

4.5.1. ADMA

Koncentracija ADMA u serumu je mjerena validiranim kompetitivnim enzim-imunokemijskim postupkom koristeći ADMA – ELISA reagens (DLD Diagnostics, GmbH, Hamburg, Germany) (80). U navedenom postupku, ADMA iz uzoraka seruma pipetiranih na reakcijsku mikrotitarsku pločicu (8x12 jažica) najprije se acilira pomoću reagensa za

acilaciju. Nakon završene inkubacije (90 minuta, sobna temperatura, na orbitalnoj miješalici), pipetira se po 0.05 ml aciliranog uzorka u jažice na ADMA-impregniranoj mikrotitarskoj pločici. Potom se dodaje po 0.05 ml antiseruma s poliklonskim zečjim ADMA antitijelima te se, tijekom prekonoćne inkubacije (2-8°C), ADMA iz uzorka seruma natječe s ADMA-om s površine mikrotitarske pločice za fiksni broj veznih mjesta u dodanom antiserumu. Nevezane komponente uklanjaju se višekratnim ispiranjem mikrotitarske pločice, nakon čega se dodaje konjugat – sekundarno antizečje antitijelo obilježeno enzimom peroksidazom. Nakon inkubacije (1 sat, sobna temperatura, orbitalna miješalica) i ispiranja, reakcijskoj smjesi dodaje se kromogeni supstrat (3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin), slijedi daljnja inkubacija (15-20 minuta, sobna temperatura) te konačni prekid reakcije dodatkom 0.3 M H_2SO_4. Optička gustoća očitava se spektrofotometrijski (450/600 nm), a intenzitet boje je obrnuto razmjeran koncentraciji ADMA u serumu.

Očekivane vrijednosti u ljudskom serumu kreću se od 0.40 to 0.85 μmol/L, a metoda ima osjetljivost od 0.05 μmol/L i ukupnu preciznost, izraženu kao koeficijent varijacije, do 10.3%. Mjerenja se standardiziraju sa svakom serijom rezultata izradom kalibracijske krivulje za koju se koriste originalne otopine standarda s tvornički deklariranim koncentracijama ADMA (0; 0.1; 0.3; 0.6; 1.0; 5.0), a koncentracije ADMA iz uzoraka seruma očitavaju iz kalibracijske krivulje (Slika 3).

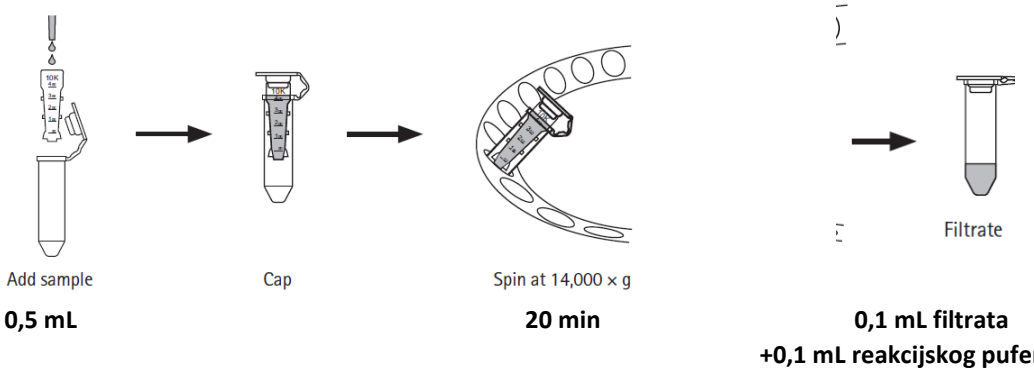


Slika 3. Tipična kalibracijska krivulja enzim-imunokemijske metode za mjerenje ADMA u serumu (preneseno iz DLD ADMA – ELISA korisničkog priručnika).

4.5.2. NO

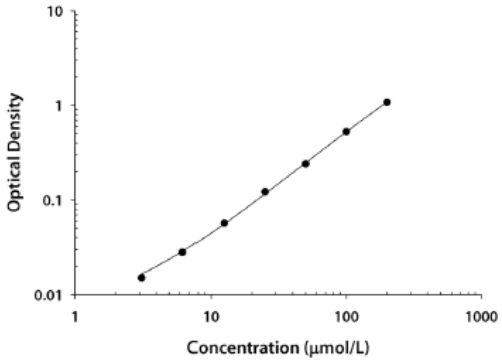
Zbog vrlo kratkog poluživota, NO je određivan indirektno, kao suma ukupne koncentracije nitrata i nitrita mjerene indirektnom enzimsko-kolorimetrijskom metodom po Griessu (Total Nitric Oxide and Nitrate/Nitrite Parameter Assay Kit, R&D Systems MN, USA). Razina nitrata i nitrita je određivana u uzorcima seruma pročišćenim od proteina ultrafiltracijom

koristeći filtere s granicom filtracije od 10,000 molekularne mase (Amicon Ultra 0,5, Millipore, USA,) Slika 4).



Slika 4. Shematski prikaz ultrafiltracije uzoraka (Preneseno iz Amicon Ultra 0,5 korisničkog priručnika)

Ultrafiltrati uzoraka pipetiraju se u jažice na mikrotitarskoj pločici te im se dodaje enzim nitrat-reduktaza i kofaktor NADH. Nakon inkubacije (30 min, 37°C) i konverzije endogenog nitrata u nitrit, dodatkom odgovarajućih reagensa provodi se diazotacija nitrita i njegovo vezanje s N-(1-naftil) etilendiaminom te se količina kromogenog produkta kvantificira spektrofotometrijski (540-5870 nm). Metoda je standardizirana pomoću laboratorijski priređene serijske dilucije kalibratora (0.0; 3.12; 6.25; 12.5; 25.0; 50.0; 100.0; 200.0 μM) koji se analiziraju sa svakom serijom uzoraka. Koncentracije NO iz uzorka očitavaju se iz dobivene kalibracijske krivulje (Slika 5).



(µmol/L)	O.D.	Average	Corrected
0	0.014 0.016	0.015	—
3.12	0.030 0.030	0.030	0.015
6.25	0.041 0.044	0.043	0.028
12.5	0.070 0.073	0.072	0.057
25	0.133 0.140	0.137	0.122
50	0.254 0.257	0.256	0.241
100	0.528 0.557	0.543	0.528
200	1.071 1.118	1.095	1.080

Slika 5. Tipična kalibracijska krivulja enzim-kolorimetrijske metode za mjerenje ukupnih metabolita NO (nitrati+nitriti) u serumu (preneseno iz Total Nitric Oxide and Nitrate/Nitrite Parameter Assay Kit korisničkog priručnika).

4.6. Definicije kardiovaskularnih čimbenika rizika

Arterijska hipertenzija je definirana prema ESC/ESH smjernicama (81) kao sistolički krvni tlak ≥ 140 mmHg i/ili dijastolički krvni tlak ≥ 90 mmHg

Dislipidemija je također definirana prema ESC/EAS smjernicama (82) kao: ukupni kolesterol ≥ 5 mmol/L, LDL – kolesterol ≥ 3 mmol/L, HDL – kolesterol ≤ 1 mmol/L ili trigliceridi ≥ 1.7 mmol/L

Šećerna bolest je definirana prema smjernicama Svjetske zdravstvene organizacije (83):

- Simptomi šećerne bolesti- poliurija, polidipsija, gubitak tjelesne težine + slučajna vrijednost glukoze u plazmi (GUP) ≥ 11,1 mmol/l

  ili

- GUP natašte (minimalno 8 sati gladovanja) ≥ 7,0 mmol/l ili slučajna vrijednost GUP ≥ 11,1 mmol/l u dva uzastopna mjerenja kroz dva dana kod osoba bez simptoma šećerne bolesti

  ili

- GUP natašte ≥ 7,0 mmol/l ili GUP ≥ 11,1 mmol/L tijekom peroralnog testa opterećenja sa 75 g glukoze

  ili

- HbA1c ≥ 6,5%

4.7. Određivanje bubrežne funkcije i stadiji kronične bubrežne bolesti:

Za procjenu glomerularne filtracije (eGFR) u studiji je korištena MDRD formula koja se temelji na vrijednostima kreatinina u serumu [100]. Veličina eGFR određena je pomoću sljedeće formule:

eGFR *(mL/min/1.73m 2) = 32788 × (kreatinin u serumu (µmol/L)) -1.154 × (dob u godinama) -0.203 × (0.742 kod žena)*

Formula je dostupna pod: https://www.mdcalc.com/mdrd-gfr-equation

Definirani stadiji kronične bubrežne bolesti (84) su prikazani u tablici 2.

Tablica 2: Stadiji kronične bubrežne bolesti (84)

Stadij	Opis	GFR (mL/min/1.73 m2)
1.	oštećenje bubrega s normalnom ili povišenom GFR	>90
2.	blago oštećenje	60–89
3.	umjereno oštećenje	30–59
4.	teško oštećenje	15–29
5.	bubrežno zatajenje	<15 ili dijaliza

GFR – glomerularna filtracija (eng: glomerular filtration rate)

4.8. Ehokardiografski parametri

Procjena kardijalnog statusa je učinjena ehokardiografijom. Određivani su debljina interventrikulskog septuma (IVS), debljina stražnjeg zida lijevog ventrikula (LVPW) te dijastolička disfunkcija. Debljine IVS i LVPW su određivane u M-modu u dugoj parasternalnoj poziciji. Dijastolička disfunkcija je mjerenja pomoću signala mitralnog utoka i tkivnog doplera u apikalnoj poziciji.

4.9. SCORE

SCORE (engl: Systematic COronary Risk Estimation) je stratifikator kardiovaskularnog rizika predložen od strane Europskog kardiološkog društva (82). Procjenjuje 10-godišnji rizik od fatalne kardiovaskularne bolesti. Temelji se na sljedećim varijablama: dob, spol, pušenje, sistolički krvni tlak i ukupni kolesterol. Postoje 4 kategorije KV rizika: vrlo visoki rizik, visoki rizik, umjereni rizik, niski rizik. Određeni kardiovaskularni rizični čimbenici mogu bolesnika svrstati u višu kategoriju (Tablica 3).

Tablica 3. Kategorije kardiovaskularnog rizika (82)

Vrlo visoki rizik	Prisutna aterosklerotska kardiovaskularna bolest: koronarna bolest srca, cerebrovaskularna bolest ili periferna aterosklerotska bolest. Šećerna bolest s oštećenjem ciljnih organa ili najmanje tri rizična čimbenika. Teška kronična bolest bubrega s eGFR <30 mL/min/1.73 m2 Izračunati SCORE ≥ 10% Obiteljska hiperkolesterolemija s aterosklerotskom KV bolesti ili rizičnim čimbenikom
Visoki rizik	Pacijenti s pojedinačnim rizičnim čimbenicima i to posebno: ukupni kolesterol >8 mmol/L, LDL-kolesterol >4.9 mmol/L, ili krvni tlak ≥180/110 mmHg. Pacijenti s obiteljskom hiperkolesterolemijom bez rizičnih čimbenika. Pacijenti sa šećernom bolesti bez oštećenja ciljnih organa i bez rizičnih čimbenika. Umjerena kronična bubrežna bolest s eGFR 30-59 mL/min/1.73 m2) Izračunati SCORE ≥ 5% and <10%
Umjereni rizik	Mladi pacijenti sa šećernom bolesti (tip 1 <35 godina; tip 2 <50 godina) s trajanjem bolesti <10 godina, bez rizičnih čimbenika Izračunati SCORE ≥ 1 % and <5%
Niski rizik	Izračunati SCORE <1%

4.10. Antropološka mjerenja i mjerenja krvnoga tlaka

Antropološka mjerenja su uključivala tjelesnu masu (TM, kg) mjerenu vagom i tjelesnu visinu (TV, m) mjerenu vertikalnim antropometrom/stadiometrom. Indeks tjelesne mase (BMI, kg/m^2) se izačunavao prema formuli: $TM/(TV)^{2.}$

Krvni tlak se mjerio sfingomanometrom s manžetom odgovarajuće veličine. Pacijent je bio u sjedećem položaju s fleksiranom rukom i laktom u razini srca.

4.11. Statističke metode

Podaci su prikazani tablično i grafički. Napravljena je analiza normalnosti raspodjele podataka (Smirnov-Kolmogorovljev test) te su se shodno dobivenim rezultatima primijenili odgovarajući neparametrijski statistički testovi i načini prikaza podataka. Kvantitativni podaci su prikazani kroz raspone, medijane i interkvartilne raspone. Kategorijski podaci su prikazani kroz apsolutne frekvencije i pripadajuće udjele. Izračunate su prevalencija i incidencija pojedinih kliničkih kategorijskih varijabli s pripadajućim 95% intervalima pouzdanosti. Razlike u kvantitativnim vrijednostima između pojedinih skupina, s obzirom na promatrana vremena mjerenja, procijenile su se Friedmanovim testom (razlika između početnih vrijednosti, nakon 6 i 12 mjeseci), odnosno Wilcoxonovim testom kada su se usporedile razlike između dvaju vremena. Izračunati su Spearmanovi koeficijenti korelacije rho između vrijednosti ADMA i NO te ostalih parametara. Kaplan Meier krivuljama s pripadajućim log-rank testom se analiziralo preživljenje ispitanika s obzirom na kardiovaskularni rizik, vrstu dijagnoze i etiologiju osnovne bolesti. Ordinary least squares (OLS) regresijskim modelima se analizirala predikcija pojedinih kliničkih varijabli na promjenu vrijednosti ADMA i NO nakon 6 i nakon 12 mjeseci.

Sve P vrijednosti manje od 0,05 se smatraju značajnima. U analizi se koristila programska podrška IBM SPSS Statistics, verzija 25.0.0.1.

5. REZULTATI

5.1. Karakteristike bolesnika prije transplantacije jetre

U studiju je uključeno 177 bolesnika koji su zadovoljili uključne kriterije. Najveći udio ispitanika činili su muškarci (70.1%), prosječne dobi 57±9.70 godina. Većina (90.4%) je transplantirana zbog ciroze jetre dok je tumorska bolest bila prisutna u 33.9% bolesnika. Prosječni laboratorijski MELD prilikom transplantacije iznosio je 16 (11-20).

Vodeća indikacija za TJ je bila alkoholna bolest jetre (49.2%) dok je distribucija ostalih dijagnoza bila sljedeća: ostali uzroci jetrene bolesti (21.5%), virusne bolesti jetre (hepatitis B i C virus) (20.3%) te kolestatske bolesti jetre (primarni sklerozirajući kolangitis i primarna bilijarna ciroza) (9%). Karakteristike bolesnika su prikazane u tablici 4.

Od ukupno 60 bolesnika (33.9%) koji su imali tumorsku bolest, većina je imala hepatocelularni karcinom (78.3%), dok su drugi tumori bili rjeđe zastupljeni: kolangiocelularni karcinom (CCC) (11.7%), neuroendokrini tumor (5%) te drugi rijetki tumori (adenom, epiteloidni hemangioteliom).

Tablica 4. Osnovne karakteristike ispitivane populacije (N=177).

Karakteristika	**Medijan (interkvartilni raspon)**	
Dob (godina)	57 (52 – 60)	
MELD	16 (11-20)	
Karakteristika	**Udio**	
	N	**%**
Muškarci	124	70.1
Ciroza	160	90.4
Tumorska bolest	60	33.9
Etiologija jetrene bolesti		
Alkoholna	87	49.2
Virusna	36	20.3
Kolestatska	16	9.0
Ostalo	38	21.5

MELD zbroj - prognostički model preživljavanja jetrene bolesti (engl. Model for End-Stage Liver Disease)

5.2. Klinički, metabolički i biokemijski parametri prije transplantacije jetre

Klinički, metabolički i biokemijski parametri prije transplantacije jetre su prikazani u tablici 5.

Tablica 5. Klinički, metabolički i biokemijski parametri prije transplantacije jetre (N=177)

Parametar	Medijan (interkvartilni raspon)
ADMA (µmol/l)	0.73 (0.58-0.92)
NO (µmol/l)	21.60 (13.90-31.30)
Sistolički krvni tlak (mmHg)	120 (110-130)
Dijastolički krvni tlak (mmHg)	80 (70-80)
GUP (mmol/L)	5.3 (4.9-6.1)
HbA1c (%)	4.9 (4.5-5.3)
Kreatinin (µmol/l)	71.0 (61.0-93.0)
CRP (mg/L)	7.70 (2.80-19.45)
Trigliceridi (mmol/L)	0.85 (0.60-1.25)
Kolesterol (mmol/L)	3.40 (2.50-4.58)
HDL-kolesterol (mmol/L)	0.87 (0.61-1.19)
LDL-kolesterol (mmol/L)	2.00 (1.40-3.10)
AST (U/L)	62.50 (39.00-94.00)
ALT (U/L)	39.00 (23.00-76.00)
GGT (U/L)	62.00 (34.00-129.50)
ALP (U/L)	122.50 (86.00-181.00)
Bilirubin (um/L)	47.00 (26.00-93.50)
Parametar	**Srednja vrijednost ± SD**
BMI (kg/m^2)	26.4 ± 4.6
eGFR (mL/min/1.73m2)	93.4 ± 34.8

SD - standardna devijacija;
ADMA – asimetrični dimetilarginin; NO – dušični oksid; BMI – indeks tjelesne mase (engl: Body Mass Index);
GUP – glukoza u plazmi; HbA1c – glikirani hemoglobin; eGFR – procijenjena brzina glomerularne filtracije (engl. estimated Glumerular Filtration Rate); CRP – C reaktivni protein;
HDL-kolesterol - kolesterol u lipoproteinima visoke gustoće (engl: High - Density Lipoproteins);
LDL-kolesterol - kolesterol u lipoproteinima male gustoće (engl: Low - Density Lipoproteins);
AST-aspartat aminotransferaza; ALT-alanin aminotransferaza;
GGT-gama glutamiltransferaza; ALP-alkalna fosfataza

5.3. Parametri kardiovaskularnog pobola i rizika prije transplantacije jetre

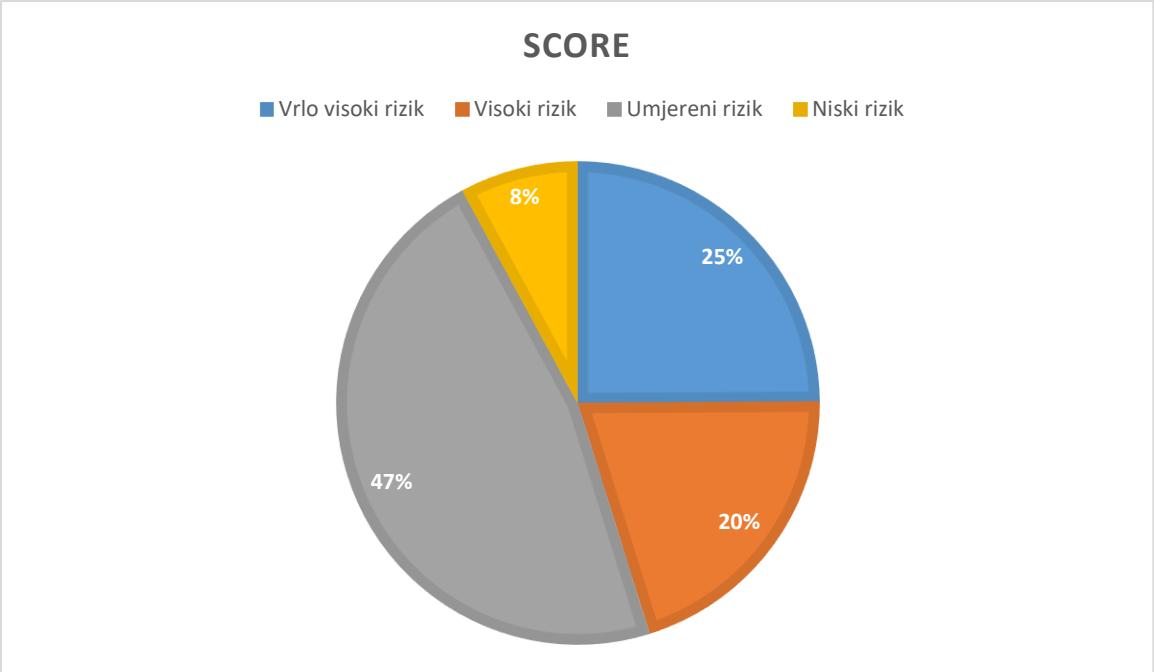
Od ukupnog broja bolesnika, 6.2% je imalo kardiovaskularnu bolest. Koronarna bolest srca je bila prisutna u 4.5% bolesnika, a 1.7% bolesnika preboljelo je cerebrovaskularni inzult. Šećerna bolest je bila prisutna u 5.6% bolesnika prije TJ. Arterijska hipertenzija bila je prisutna kod 28.2% , a dislipidemija kod 13.6% bolesnika. Ukupno 21.5% bolesnika bili su pušači. Navedeni parametri su prikazani u tablici 6.

Analizirajući SCORE bolesnika prije TJ, najveći broj bolesnika (46.9%) imalo je umjereni rizik od fatalnog kardiovaskularnog incidenta kroz 10 godina. Ukupno 24.9% bolesnika je imalo vrlo visoki rizik, za kojim su slijedili bolesnici s visokim rizikom (20.3%) te bolesnici s niskim rizikom (7.9%). Vrijednosti SCORE su prikazani prema rizičnim skupinama na slici 6.

Tablica 6. Prisutnost kardiovaskularnih bolesti i klasičnih kardiovaskularnih čimbenika rizika (N=177)

KV bolest/čimbenik rizika		**N**	**%**
Dosadašnje KV bolesti	Ne	166	93.8
	Koronarna bolest srca	8	4.5
	Periferna aterosklerotska bolest	0	0.0
	CVI	3	1.7
Šećerna bolest		10	5.6
Arterijska hipertenzija		50	28.2
Kronična bubrežna bolest		0	0
Dislipidemija		24	13.6
Pušenje		38	21.5

KV – kardiovaskularne; CVI – cerebrovaskularni inzult



Slika 6. SCORE bolesnika prije transplantacije jetre (N=177)

Na ultrazvuku srca, medijani debljine IVS i LVPW su iznosili 1.20 cm (1.10-1.30). Najveći broj bolesnika imao je prvi stupanj dijastoličke disfunkcije (48.1%), za kojima su slijedili bolesnici s urednom dijastoličkom funkcijom (27.8%) te oni sa dijastoličkom disfunkcijom drugoga stupnja (22.8%) i trećega stupnja (1.2%).

5.4. Povezanost ADMA i NO s kardiovaskularnim rizikom prije transplantacije jetre

Radi predmnijevanog utjecaja ciroze jetre na endotelnu disfunkciju i metaboličke čimbenike kardiovaskularnog rizika te malog broja bolesnika bez ciroze, s izrazito heterogenim indikacijama za transplantaciju (9%), povezanost ADMA i NO s kardiovaskularnim rizikom prije transplantacije jetre istražena je u populaciji bolesnika s cirozom (N=160).

5.4.1. Utjecaj težine i etiologije jetrene bolesti na koncentraciju ADMA i NO prije transplantacije jetre

Težina jetrene bolesti je klasificirana prema MELD u dvije kategorije: MELD <18 te MELD≥18. Kliničke i laboratorijske karakteristike bolesnika su prikazane u tablici 7. Pacijenti s MELD ≥ 18 su imali višu ADMA, NO i CRP te niže ukupni-, HDL- , LDL – kolesterol kao i trigliceride, nego bolesnici s MELD <18. GUK, kao i prethodne KV bolesti i dijabetes, se nisu razlikovali među grupama. Međutim, hipertenzija i HCC su bili češće zastupljeni u grupi s MELD <18.

SCORE kategorije (1-4) su bile ravnomjerno zastupljene među grupama ($\chi 2$ test, P=0.391).

Vrijednosti ADMA i NO se nisu razlikovale među ispitanicima ovisno o etiologiji jetrene bolesti. (P=0.619 and P=0.884, Kruskal-Wallis test) (Tablica 8).

Tablica 7. Kliničke karakteristike bolesnika s cirozom, ukupno, i u podskupinama prema težini jetrene bolesti (MELD kategorije: <18, ≥ 18).

Karakteristika	**Ukupno (N=160)**	**MELD < 18 (N=100)**	**MELD ≥ 18 (N=60)**	**P** (MELD<18 *vs* ≥ 18)
ADMA (µmol/L)	0.75 [0.59-0.94]	0.70 [0.58-0.91]	0.84 [0.64-0.97]	**0.013**
NO (µmol/L)	22.4 [14.2-31.8]	19.9 [13.0-27.9]	27.1 [18.7-47.3]	**<0.001**
Dob (godine)	60 [52-64]	60 [54-64]	59 [51-64]	0.971
Muški spol (%)	71	72	68	0.623
Arterijska hipertenzija (%)	29	36	18	**0.018**
KV bolesti (%)	7	5	10	0.324
Šećerna bolest (%)	6	6	5	0.791
HCC (%)	28	39	10	**<0.001**
KV rizik				
Manji (%)	54	57	50	0.391
Veći (%)	46	43	50	
BMI (kg/m^2)	25.9 [23.3-29.0]	26.3 [23.6-29.1]	25.5 [23.0-28.7]	0.388
CRP (mg/L)	7.9 [2.9-18.7]	5.2 [2.7-12.4]	11.7 [6.6-25.2]	**<0.001**
Ukupni kolesterol (mmol/L)	3.35 [2.50-4.50]	3.80 [2.90-4.90]	2.60 [1.60-3.50]	**<0.001**
HDL-kolesterol (mmol/L)	0.87 [0.60-1.20]	0.97 [0.70-1.29]	0.69 [0.35-1.00]	**<0.001**
LDL-kolesterol (mmol/L)	2.00 [1.40-2.98]	2.35 [1.60-2.95]	1.70 [1.00-3.24]	**0.010**
Trigliceridi (mmol/L)	0.80 [0.60-1.20]	0.91 [0.68-1.23]	0.60 [0.51-1.88]	**<0.001**
GUP (mmol/L)	5.4 [4.9-6.2]	5.4 [5.0-6.2]	5.4 [4.8-6.1]	0.564

Podaci su prikazani kao medijan [interkvartilni raspon]. Mann -Witney U test između MELD kategorija.
ADMA – asimetrični dimetilarginin; NO – dušični oksid; HCC – hepatocelularni karcinom; MELD – eng: Model for End-stage Liver Disease; BMI – indeks tjelesne mase (eng. Body Mass Index), CRP – C reaktivni protein; GUP – glukoza u plazmi; P – p vrijednost
Veći KV rizik = SCORE kategorije 1 i 2 (vrlo visoki i visoki rizik)
Manji KV rizik = SCORE kategorije 3 i 4 (umjereni i mali rizik)

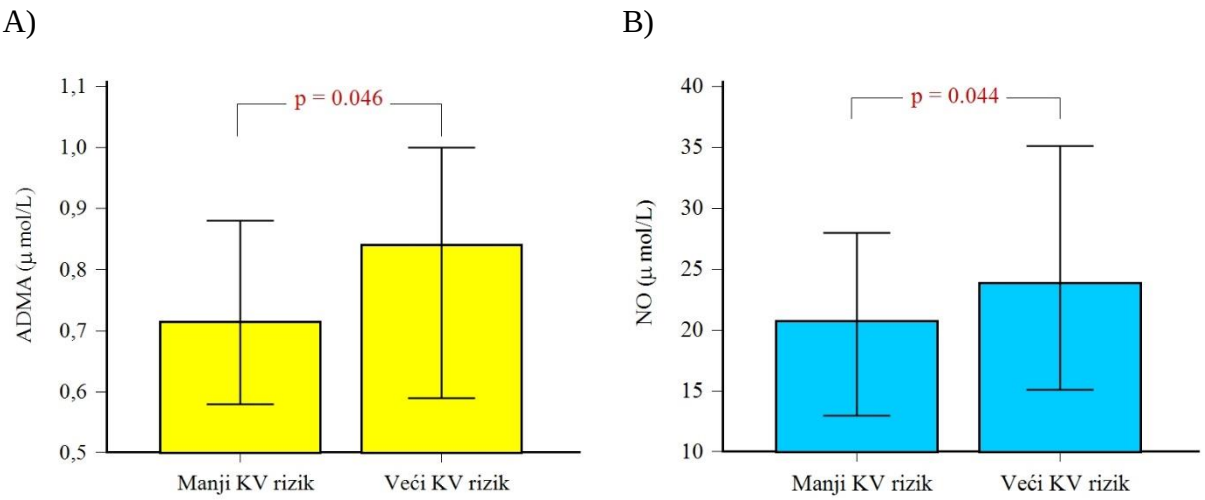
Tablica 8. Koncentracije ADMA i NO u odnosu na etiologiju ciroze jetre, klasificiranu u četiri grupe: alkoholna, virusna, kolestatska i ostale.

Varijabla	**Etiologija**				**P**
	Alkoholna	**Virusna**	**Kolestatska**	**Ostalo**	
N	87	36	16	21	-
ADMA (μmol/L)	0.74 (0.9-0.93)	0.78 (0.58-0.96)	0.86 (0.66-0.96)	0.68 (0.58-0.91)	0.619
NO (μmol/L)	21.4 (14.3-31.4)	21.6 (12.6-29.4)	24.8 (12.7-35.1)	22.6 (14.2-41.1)	0.884

Vrijednosti su prikazane kao medijan (interkvartilni raspon).
Kruskal-Wallis test
ADMA – asimetrični dimetilarginin; NO – dušični oksid, P - p vrijednost

5.4.2. Utjecaj kardiovaskularnog rizika na koncentraciju ADMA i NO prije transplantacije jetre

Bolesnici s cirozom jetre su prema SCORE klasifikaciji svrstani u dvije kategorije: većeg (N=73) i manjeg KV rizika (N=87). Grupa bolesnika s većim KV rizikom je imala značajno višu vrijednost ADMA i NO (slika 7), kao i vrijednosti GUP i CRP, dok su vrijednosti HDL- i LDL- kolesterola bile niže (tablica 9). Nije utvrđena statistički značajna razlika među ostalim kliničkim i laboratorijskim parametrima (tablica 9). Također, nije bilo razlike u odnosu na etiologiju jetrene bolesti između bolesnika s većim i manjim KV rizikom ($\chi 2$ test, P=0.919).



Slika 7. Koncentracije ADMA (A) i NO (B) između kategorija KV rizika.

Vrijednosti su prikazane kao medijan (interkvartilni raspon).
ADMA = 0.72 (0.58-0.88) *vs.* 0.84 (0.59-0.99) µmol/L, P=0.046; NO = 20.8 (13.0-28.0) *vs.* 23.9 (15.1-35.1) µmol/L, P=0.044 u grupama bolesnika s cirozom jetre s većim i manjim KV rizikom.
Veći KV rizik = SCORE kategorije 1 i 2 (vrlo visoki i visoki rizik)
Manji KV rizik = SCORE kategorije 3 i 4 (umjereni i mali rizik)
Mann-Whitney U test
ADMA – asimetrični dimetilarginin; NO – dušični oksid; KV – kardiovaskularni

Tablica 9. Kliničke karakteristike bolesnika s cirozom bolesti jetre prema kategorijama KV rizika.

Karakteristika	**Manji KV rizik (N=87)**	**Veći KV rizik (N=73)**	P
Muški spol (%)	64	78	0.058
HCC (%)	23	34	0.114
MELD	16 (13-19)	17 (11-21)	0.515
BMI (kg/m^2)	26.0 (23.1-28.8)	25.59 ([23.6-29.4)	0.546
CRP (mg/L)	6.0 (2.6-13.0)	10.8 (3.6-28.9)	**0.012**
HDL-kolesterol (mmol/L)	0.97 (0.63-1.28)	0.75 (0.52-1.04)	**0.022**
LDL-kolesterol (mmol/L)	2.30 (1.60-3.10)	1.80 (1.06-2.70)	**0.041**
Trigliceridi (mmol/L)	0.80 (0.63-1.22)	0.77 (0.58-1.16)	0.844
GUP (mmol/L)	5.2 (4.8-5.8)	5.7 (5.0-6.6)	**0.001**

Podaci se prikazani kao medijani (interkvartilni raspon). Mann-Witney U test između kategorija KV rizika prema SCORE
Veći KV rizik = SCORE kategorije 1 i 2 (vrlo visoki i visoki rizik)
Manji KV rizik = SCORE kategorije 3 i 4 (umjereni i mali rizik)
KV – kardiovaskularni; HCC – hepatocelularni karcinom; MELD – eng: Model for End-stage Liver disease; GUP – glukoza u plazmi.

5.4.3. Povezanost ADMA i NO s kardiovaskularnim rizikom prije transplantacije jetre

Analiza korelacije ranga je pokazala značajnu ($p<0.05$) slabu do umjereno pozitivnu korelaciju između ADMA i MELD (Spearman $\rho=0.161$) te između NO i MELD (Spearman $\rho =0.331$). Također je utvrđena značajna negativna korelacija ($p<0.05$) između ADMA i ukupnog- kao i LDL- kolesterola (Spearman $\rho = -0.179$ i -0.195), te između NO i ukupnog- HDL- kao i LDL – kolesterola (Spearman $\rho =-0.326$, -0,273 i -0.269).

Multivarijatna logistička regresijska analiza je korištena za procjenu prediktora KV rizika. Model je uključivao kategorije KV rizika prema SCORE kao binarnu ovisnu varijablu, dok su ADMA, NO, CRP, GUP, MELD i HDL-kolesterol prikazani kao kontinuirani nezavisni prediktori, a prisutnost/odsutnost HCC kao pridruženi čimbenik (Tablica 10). Model je bio

statistički značajan [$\chi 2$ (5)=27.4, P<0.001] te je mogao objasniti 24.6% varijance (Nagelkerke R^2). Vrijednosti GUP, ADMA, NO i HDL-kolesterola su identificirane kao značajni prediktori KV rizika, s HCC kao pridruženim biološkim čimbenikom. Model je točno klasificirao 68% slučajeva i pokazao površinu ispod krivulje dijagnostičke osjetljivosti 0.737 (ROC – engl. *Receiver Operating Characteristic*).

Tablica 10. Mutlivarijatna logistička regresijska analiza varijabli povezanih s KV rizikom u bolesnika s terminalnom bolesti jetre

Parametar	**OR**	**95% Interval Pouzdanosti**	**P**
ADMA (µmol/L) za 1 µmol/L povećanja	3.6629	1.0442-12.8376	**0.042**
NO (µmol/L) za 1 µmol/L povećanja	1.0180	1.0002-1.0361	**0.048**
GUP (mmol/L) za 1 mmol/L povećanja	1.6514	1.0923-2.4966	**0.017**
HDL-kolesterol (mmol/L) za 1 mmol/L povećanja	0.4064	0.1672-0.9877	**0.047**
HCC odsutnost *vs.* prisutnost	0.6221	0.3921-0.9866	**0.044**

Varijable uključene u model:
Ovisna: Veći KV rizik = SCORE kategorije 1 i 2 (vrlo visoki i visoki rizik); Manji KV rizik = SCORE kategorije 3 i 4 (umjereni i mali rizik).
Kontinuirana neovisna: ADMA – asimetrični dimetilarginin, NO – dušični oksid; CRP – C - reaktivni protein; GUP –glukoza u plazmi; MELD – eng: Model for End-stage Liver Disease; HDL-K - HDL-kolesterol
Kategorička kovarijacija: HCC – hepatocelularni karcinom
OR – omjer izgleda (engl. *Odds Ratio*)

5.5. Parametri kardiovaskularnog pobola i rizika nakon transplantacije jetre

U točkama praćenja 6 i 12 mjeseci nakon TJ, utvrđene se incidencije i prevalencije KV bolesti i rizičnih čimbenika.

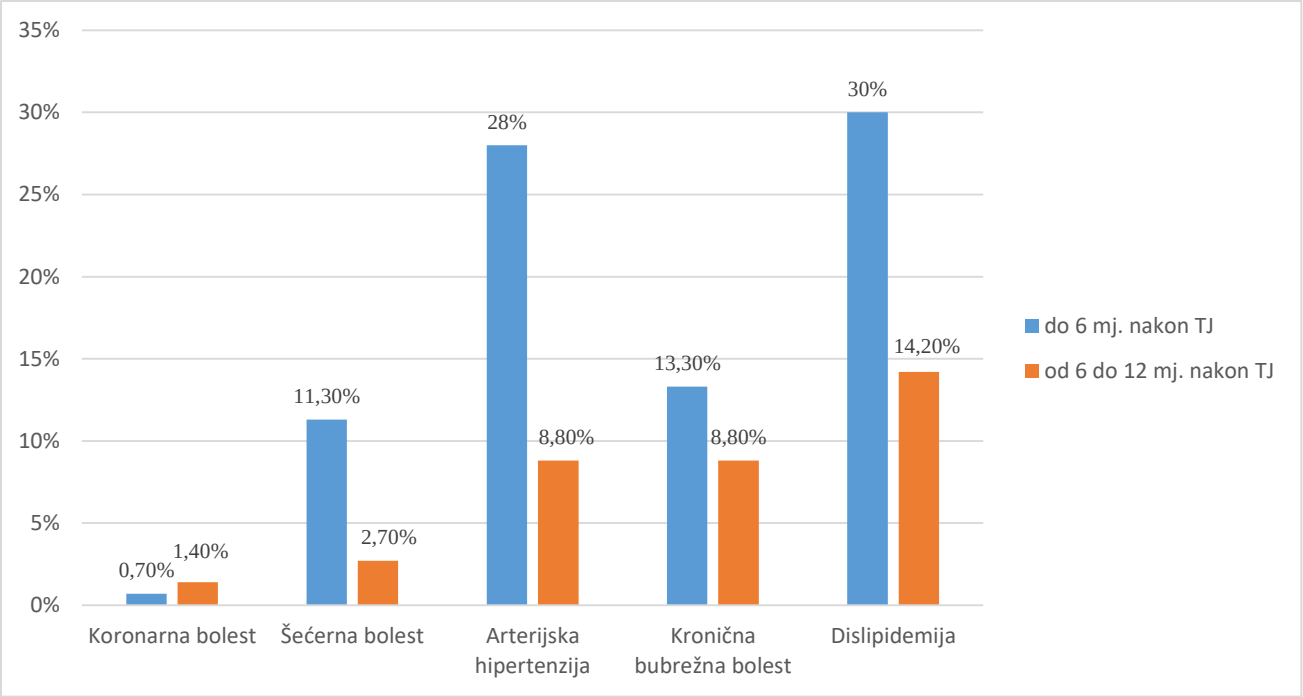
5.5.1. Incidencije kardiovaskularnih bolesti i rizičnih čimbenika 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre

U definiranom vremenu praćenja bolesnika nakon TJ, od novonastalih KV bolesti zabilježena je incidencija koronarne bolesti u ranom razdoblju (do 6 mjeseci) od 0.7%, a nakon 6 mjeseci 1.4%.

11.3% bolesnika je u prvih 6 mjeseci razvilo novonastalu šećernu bolesti, a nakon 6 mjeseci 2.7%. Novonastala arterijska hipertenzija zabilježena je u 28% bolesnika u periodu do 6 mjeseci nakon TJ, a nakon 6 mjeseci je iznosila 8.8%.

Incidencija kronične bubrežne bolesti je u razdoblju do 6 mjeseci nakon TJ iznosila 1.3%, a nakon 6 mjeseci 8.8%.

Dislipidemija se javila u 30% bolesnika u razdoblju do 6 mjeseci nakon TJ, dok je kasnije incidencija iznosila 14.2%. Navedene incidencije su prikazane na slici 8.



Slika 8. Incidencije KV rizičnih čimbenika i KV bolesti u razdoblju do 6 mjeseci i razdoblju od 6 do 12 mjeseci nakon transplantacije jetre

KV – kardiovaskularni; TJ – transplantacija jetre. mj. – mjeseci

5.5.2. Prevalencije kardiovaskularnih bolesti i rizičnih čimbenika 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre

Prevalencija kardiovaskularnih bolesti (koronarne bolesti i CV bolesti) bila je niska i nije se statistički značajno razlikovala prije TJ (4.5% i 1.7%) te 6 mjeseci (4.0% i 2.7%; p=0.833) i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre (5.4% i 2.7%, p=0.708). U promatranom razdoblju nije bilo bolesnika kojima je utvrđena periferna aterosklerotska bolest.

Prevalencija šećerne bolesti prije TJ je iznosila 5.6%, 6 mjeseci nakon TJ 16.7%, dok je 12 mjeseci nakon TJ iznosila 18.9%. U odnosu na prevalenciju šećerne bolesti prije TJ, porast je bio statistički značajan, kako 6, tako i 12 mjeseci nakon TJ (p<0.001). Nije dokazana statistički značajna razlika u prevalenciji šećerne bolesti 6 i 12 mjeseci nakon TJ (p<0.620).

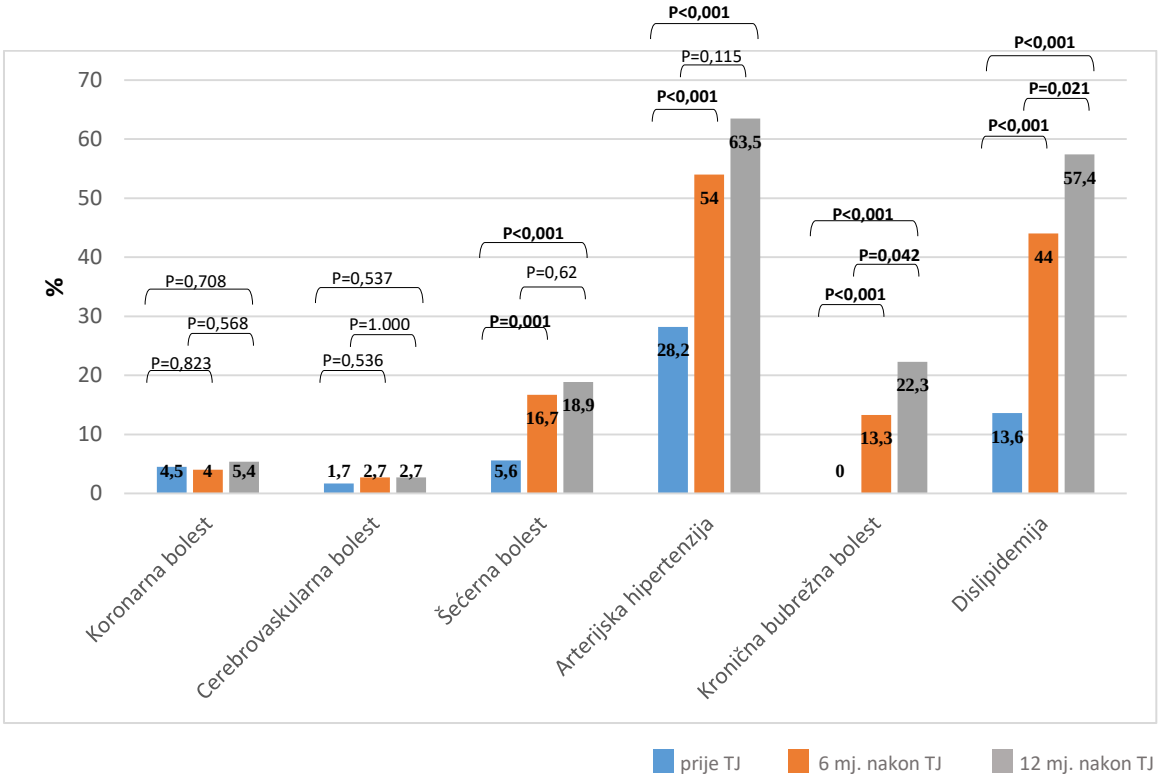
Arterijska hipertenzija je prije TJ imala prevalenciju od 28.2%, 6 mjeseci nakon TJ 54%, te 12 mjeseci nakon TJ 63%. Potvrđen je statistički značajan porast prevalencije arterijske

hipertenzije 6 mjeseci nakon, u odnosu na razdoblje prije TJ ($p<0.001$) kao i porast prevalencije 12 mjeseci nakon, u odnosu na razdoblje prije TJ ($p<0.001$). Razlika prevalencije arterijske hipertenzije 6 i 12 mjeseci nakon TJ nije dosegla statističku značajnost ($p<0.115$).

Prevalencija kronične bubrežne bolesti 6 mjeseci nakon TJ iznosila 13.3%, a 12 mjeseci nakon TJ 22.3%. Porast prevalencije kronične bubrežne bolesti bio je statistički značajan kako 6 ($p<0.001$), tako i 12 mjeseci nakon TJ ($p=0.001$) u odnosu na razdoblje prije TJ .Utvrđen je i blagi, ali statistički značajan porast prevalencije KBB u razdoblju između 6. i 12. mjeseca nakon TJ ($p<0.042$).

Prevalencija dislipidemije iznosila je 13.6% prije TJ te 44% i 57.4% 6 i 12 mjeseci nakon TJ. Porast prevalencije dislipidemije 6 mjeseci nakon, u odnosu na razdoblje prije TJ bio je statistički značajan ($p<0.001$), kao i porast 12 mjeseci nakon TJ ($p<0.001$). Dokazan je i statistički značajan porast prevalencije dislipidemije između razdoblja od 6 i 12 mjeseci nakon TJ ($p<0.021$).

Prevalencije KV bolesti i rizičnih čimbenika prije TJ, te 6 i 12 mjeseci nakon TJ su prikazane na slici 9.



Slika 9. Prevalencije kardiovaskularnih bolesti i KV čimbenika rizika prije te 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre

KV – kardiovaskularni; TJ – transplantacija jetre; P – p vrijednost; mj.- mjeseci

5.5.3. Pušenje i tjelesna aktivnost nakon transplantacije jetre

Prije TJ 21.5% bolesnika su bili pušači, dok se broj pušača nakon TJ statistički beznačajno smanjio na 14%, odnosno 14.9%, 6 odnosno 12 mjeseci nakon TJ (χ^2=2.235; p=0.205).

6 mjeseci nakon TJ kod većine bolesnika (75%) zabilježena je umjerena, kod 15% niska, a kod 10% visoka tjelesna aktivnost. Slični pokazatelji tjelesne aktivnosti zabilježeni su i 12 mjeseci nakon TJ (kod 75% bolesnika umjerena, 12.8% niska, a 11.9% visoka tjelesna aktivnost (Tablica 11).

Tablica 11. Pušenje i tjelesna aktivnost prije te 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre.

Varijabla	**Udio bolesnika (%)/vrijeme**		
	Prije transplantacije	6 mjeseci nakon transplantacije	12 mjeseci nakon transplantacije
Pušenje	21.5	14.0	14.9
Tjelesna aktivnost			
Niska	-	15.0	12.8
Umjerena	-	75.0	75.2
Visoka	-	10.0	11.9

5.5.4. SCORE indeks kardiovaskularnog rizika nakon transplantacije jetre

U odnosu na razdoblje prije transplantacije, 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre zabilježen je porast KV rizika prema SCORE indeksu. Veći KV rizik (kategorija 1 i 2) bio je prisutan kod 61%, a manji KV rizik (kategorija 3 i 4) kod 39%, i to kako 6 tako i 12 mjeseci nakon transplantacije, u odnosu na 45% i 55% prije transplantacije jetre (p=0.032) (Tablica 12).

Tablica 12. Dinamika SCORE indeksa kardiovaskularnog rizika nakon transplantacije jetre

SCORE kategorija KV rizika	**Prije TJ (%)**	**6M (%)**	**12M (%)**
1 (vrlo visoki rizik)	25	28	24
2 (visoki rizik)	20	33	37
3 (umjereni rizik)	47	30	29
4 (niski rizik)	8	9	10
Veći KV rizik (1+2)	45	61	61
Manji KV rizik (3+4)	55	39*	39*

*** $\chi 2 = 6.951$, p=0.032**

6M – 6 mjeseci nakon TJ; 12M – 12 mjeseci nakon TJ; TJ – transplantacija jetre

5.6. Kardiometabolička i imunosupresivna terapija nakon transplantacije jetre

U razdoblju od 6 mjeseci nakon TJ, 44.7% bolesnika je bilo liječeno antihipertenzivnom terapijom, 2% bolesnika je primalo oralne antidijabetike, 10% je bilo liječeno inzulinom, a 3.3% samo dijabetičkom dijetom.

U razdoblju od 12 mjeseci nakon TJ, 51.4% bolesnika je primalo anithipertenzivnu terapiju, dok je 4.7% bolesnika imalo antilipemijsku terapiju. 2% je u terapiji imalo peroralne antidijabetike, 10.8% je bilo na inzulinskoj terapiji dok je 4.1% bolesnika reguliralo šećernu bolest samo dijetom.

Promatrajući imunosupresivne protokole 6 mjeseci nakon TJ, 47.3% bolesnika je imalo u terapiji ciklosporin, 51.3% takrolimus, 0.7% bolesnika sirolimus te 0.7% bolesnika everolimus.

U razdoblju od 12 mjeseci nakon TJ, 44.5% bolesnika je imalo u terapiji ciklosporin, 52.7% takrolimus, te 2.7% everolimus. Terapija bolesnika nakon TJ je prikazana u tablici 13.

Tablica 13. Kardiometabolička i imunosupresivna terapija bolesnika nakon transplantacije jetre

Vrsta terapije		**6M**		**12M**	
		N	%	N	%
Antihipertenzivna terapija		67	44,7	76	51,4
Antilipemijska terapija		0	0,0	7	4,7
Antidijabetička terapija	Peroralni antidijabetici	3	2,0	3	2,0
	Inzulin	15	10,0	16	10,8
	Samo dijeta	5	3,3	6	4,1
Imunosupresivna terapija	Ciklosporin	71	47,3	67	45,2
	Takrolimus	77	51,3	77	52,0
	Sirolimus	1	0,7	0	0,0
	Everolimus	1	0,7	4	2,8

6M – 6 mjeseci nakon TJ; 12M – 12 mjeseci nakon TJ; TJ – transplantacija jetre

5.7. Karakteristike bolesnika nakon transplantacije jetre

5.7.1. Dinamika kretanja laboratorijskih i kliničkih parametara nakon transplantacije jetre

U odnosu na razdoblje prije transplantacije, 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre utvrđen je statistički značajan porast krvnog tlaka, glukoze, HbA1c, kreatinina, ukupnog, HDL- i LDL-kolesterola ($p<0.001$ za sve parametre). U istom razdoblju bilježi se statistički značajan pad glomerularne filtracije, AST, ALT, alkalne fosfataze, GGT, bilirubina i C-reaktivnog proteina ($p<0.001$ za sve parametre), dok se indeks tjelesne mase nije značajno promijenio ($p=0.110$), kao niti opseg struka u razdoblju od 6. do 12. mjeseca nakon transplantacije. Dinamika kretanja biokemijskih i kliničkih parametara je prikazana u tablicama 14 i 15.

Svi bolesnici su prije i 12 mjeseci nakon TJ imali očuvanu sistoličku funkciju srca, ejekcijske frakcije ≥50%. Nije ustanovljena statistička značajnost između razlika debljine stijenki interventrikulskog septuma te stražnje stijenke lijevog ventrikula srca u periodima prije TJ i 12 mjeseci nakon TJ ($p=0.497$).

Tablica 14. Odnosi dinamike kretanja biokemijskih parametara prije te 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre

	Percentil			P	P PRE *vs.* 6M	P PRE *vs.* 12M	P 6M *vs.* 12M
	25.	50. (Medijan)	75.				
GUK (mmol/L) - PRE	4,90	5,30	6,10				
GUK (mmol/L) - 6M	5,00	5,50	6,10	**0,001**	0,074	**0,001**	0,147
GUK (mmol/L) - 12M	5,10	5,60	6,20				
HbA1c (%) - PRE	4,50	4,90	5,30				
HbA1c (%) - 6M	4,90	5,20	5,50	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	0,288
HbA1c (%) - 12M	4,90	5,30	5,60				
Kreatinin (umol/L) - PRE	61,00	71,00	93,00				
Kreatinin (umol/L) - 6M	70,75	87,00	105,50	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	0,306
Kreatinin (umol/L) - 12M	71,00	88,00	102,00				
eGFR (mL/min/1.73m2) - PRE	72,50	96,00	114,90				
eGFR (mL/min/1.73m2) - 6M	60,00	77,50	96,00	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	0,564
eGFR (mL/min/1.73m2) - 12M	58,00	77,00	92,00				
AST (U/L) - PRE	39,00	62,50	94,00				
AST (U/L) - 6M	20,00	27,50	38,00	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	0,433
AST (U/L) - 12M	22,00	27,00	41,00				
ALT (U/L) - PRE	23,00	39,00	76,00				
ALT (U/L) - 6M	15,00	22,50	43,25	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	0,902
ALT (U/L) - 12M	17,00	24,00	39,00				
GGT (U/L) - PRE	34,00	62,00	129,50				
GGT (U/L) - 6M	20,75	45,50	130,25	**<0,001**	0,128	**0,006**	0,256
GGT (U/L) - 12M	22,00	41,00	100,00				
ALP (U/L) - PRE	86,00	122,50	181,00				
ALP (U/L) - 6M	80,00	109,50	172,75	**0,031**	0,256	**0,007**	0,087
ALP (U/L) - 12M	81,00	105,00	137,50				

	Percentil			P	P PRE *vs.* 6M	P PRE *vs.* 12M	P 6M *vs.* 12M
	25.	50. (Medijan)	75.				
Bilirubin (um/L) - PRE	26,00	47,00	93,50				
Bilirubin (um/L) - 6M	11,00	15,00	21,00	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	**0,009**
Bilirubin (um/L) - 12M	12,00	16,00	25,00				
CRP (mg/L) - PRE	2,80	7,70	19,45				
CRP (mg/L) - 6M	1,40	3,00	5,75	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	0,151
CRP (mg/L) - 12M	1,60	3,20	7,10				
Trigliceridi (mmol/L) - PRE	0,60	0,85	1,25				
Trigliceridi (mmol/L) - 6M	1,06	1,43	1,84	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	0,236
Trigliceridi (mmol/L) - 12M	1,01	1,34	1,80				
Kolesterol (mmol/L) - PRE	2,50	3,40	4,58				
Kolesterol (mmol/L) - 6M	4,00	4,80	5,48	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	0,122
Kolesterol (mmol/L) - 12M	4,10	4,85	5,60				
HDL-kolesterol (mmol/L) - PRE	0,61	0,87	1,19				
HDL-kolesterol(mmol/L) - 6M	0,91	1,12	1,35	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	0,056
HDL-kolesterol(mmol/L) - 12M	0,99	1,14	1,44				
LDL-kolesterol (mmol/L) - PRE	1,40	2,00	3,10				
LDL-kolesterol (mmol/L) - 6M	2,30	2,80	3,50	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	0,254
LDL-kolesterol (mmol/L) - 12M	2,40	3,00	3,50				

PRE – prije transplantacije jetre, 6M – 6 mjeseci nakon transplantacije jetre, 12M – 12 mjeseci nakon transplantacije jetre
P-statistička značajnost; TJ-transplantacija jetre; mj.-mjeseci, GUK-glukoza u krvi; HbA1c-glikirani hemoglobin; eGFR-procijenjena glomerularna filtracija (eng: estimated Glomerular Filtration Rate), AST-aspartat aminotransferaza; ALT-alanin aminotransferaza; GGT-gama glutamiltransferaza; ALP-alkalna fosfataza; CRP- C reaktivni protein
Friedman ANOVA

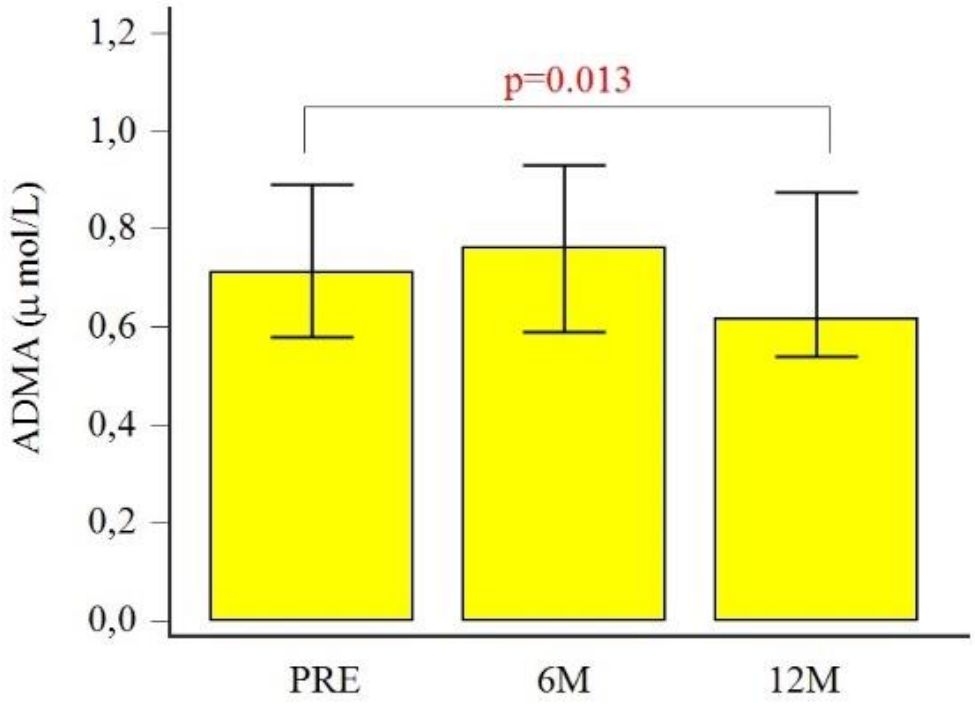
Tablica 15. Odnosi i dinamika kretanja kliničkih parametara nakon transplantacije jetre

	Srednja vrijednost	**SD**	**P**	**P prije TJ vs. 6 mj.**	**P prije TJ vs. 12 mj.**	**P 6 mj. vs. 12 mj.**
Krvni tlak (sistolički) (mmHg) - PRE	124,39	18,45				
Krvni tlak (sistolički) (mmHg) - 6M	136,23	20,82	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	0,993
Krvni tlak (sistolički) (mmHg) - 12M	136,78	19,61				
Krvni tlak dijastolički (mmHg) - PRE	76,66	11,92				
Krvni tlak (dijastolički) (mmHg) - 6M	82,67	10,19	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	0,816
Krvni tlak (dijastolički) (mmHg) - 12M	82,67	10,24				
BMI (kg/m2) - PRE	26,44	4,61				
BMI (kg/m2) - 6M	26,09	4,09	0,110			
BMI (kg/m2) -12M	26,55	4,15				
Opseg struka (cm) - 6M	97,22	12,47	0,735			0,735
Opseg struka (cm) - 12M	102,78	11,65				

PRE – prije transplantacije jetre, 6M – 6 mjeseci nakon transplantacije jetre, 12M – 12 mjeseci nakon transplantacije jetre
SD – standardna devijacija; P - p vrijednost; TJ – transplantacija jetre; mj. – mjeseci, BMI – indeks tjelesne mase (eng: Body Mass Index)
Analiza varijance ponovljenih mjerenja (engl. repeated measures ANOVA);

5.7.2. Dinamika kretanja i povezanosti ADMA i NO nakon transplantacije jetre

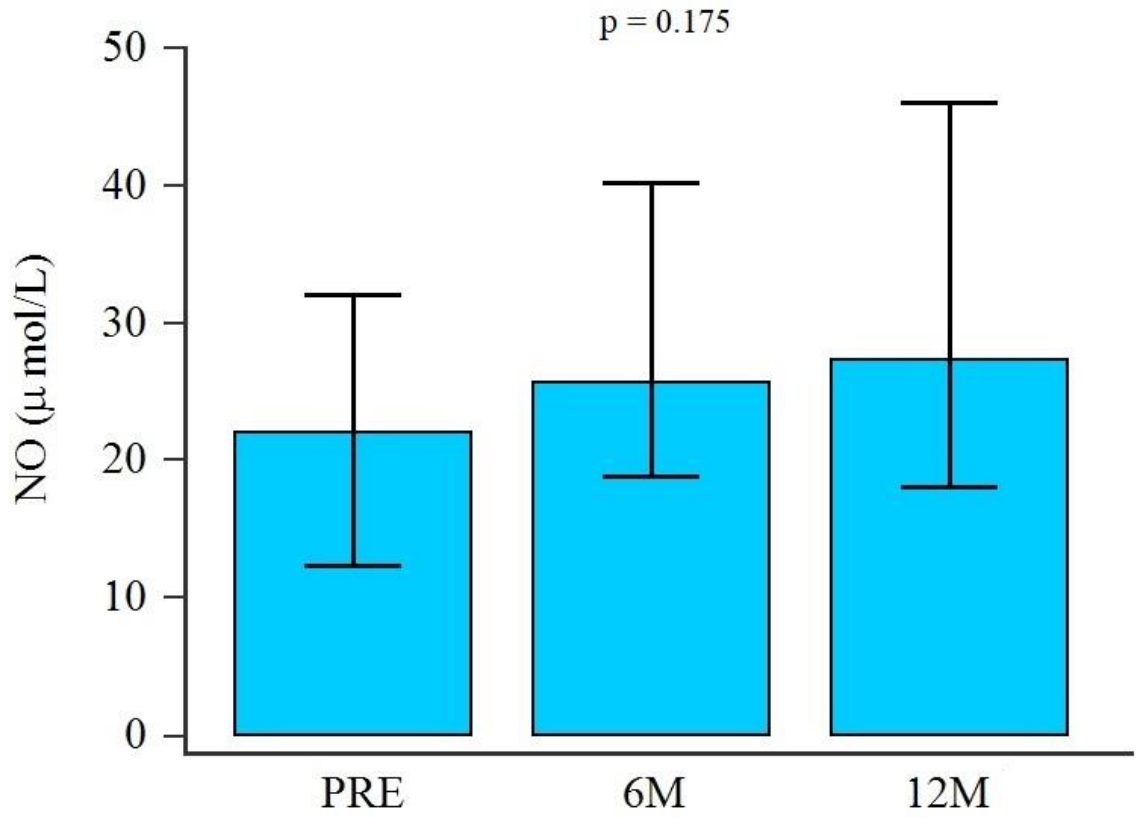
Koncentracije ADMA u razdoblju prije te 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre značajno su se razlikovale (p=0.03, Friedmanov test). *Post-hoc* analizom utvrđen je značajan pad u vrijednostima ADMA 12 mjeseci, u usporedbi s onima 6 mjeseci nakon transplantacije (p=0.013), dok nije bilo razlike između ostalih točaka promatranja (Slika 10). Uočen je trend porasta koncentracije NO 12 mjeseci nakon transplantacije jetre, no razlike nisu dosegle statističku značajnost u promatranim razdobljima (p=0.175, Friedmanov test). Rezultati su prikazani na slici 11.



Slika 10. Koncentracije ADMA prije te 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre.

Medijan (interkvartilni raspon): ADMA $_{PRE}$= 0.73 (0.58-0.92) *vs.* ADMA $_{6M}$ = 0.77 (0.59 – 0.97) *vs.* ADMA $_{12M}$ = 0.62 (0.54-0.88) µmol/L; p=0.03 između tri grupe; p=0.013 između koncentracije prije i 12 mjeseci nakon transplantacije.

ADMA – asimetrični dimetilarginin
PRE – prije transplantacije jetre, 6M – 6 mjeseci nakon transplantacije jetre, 12M – 12 mjeseci nakon transplantacije jetre
Friedmanov test



Slika 11. Koncentracije NO prije te 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre.

Medijan (interkvartilni raspon): NO $_{PRE}$= 21.6 (13.9 – 31.3) *vs.* NO $_{6M}$ = 25.5 (18.4 – 40.0) *vs.* NO $_{12M}$ = 27.5 (18.1 – 49.5) µmol/L; p=0.175.

NO – dušični oksid
PRE – prije transplantacije jetre, 6M – 6 mjeseci nakon transplantacije jetre, 12M – 12 mjeseci nakon transplantacije jetre
Friedmanov test

U razdoblju prije transplantacije jetre nije bilo povezanosti između ADMA i NO, dok je značajna pozitivna povezanost ovih biomarkera, uočena nakon 6 mjeseci, perzistirala i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre (Tablica 16).

Tablica 16. Povezanost ADMA i NO prije te 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre

Parametar	PRE	6M	12M
Jednadžba regresije	NO = 21,42+8,12*ADMA	NO = 18,30+18,93*ADMA	NO= 17,17+28,17*ADMA
R	0.10	0.25	0.26
p	0.206	**0.011**	**0.007**

PRE – prije transplantacije jetre, 6M – 6 mjeseci nakon transplantacije jetre, 12M – 12 mjeseci nakon transplantacije jetre

Linearna regresijska analiza; nezavisna varijabla = ADMA (μmol/L); zavisna varijabla = NO (μmol/L)

5.7.3 Prediktivni čimbenici koncentracije ADMA i NO nakon transplantacije jetre

Za procjenu prediktivnih čimbenika koncentracije ADMA i NO nakon transplantacije jetre primijenjen je model višestruke linearne regresijske analize s ADMA i NO kao ovisnim varijablama te parametrima dobi, spola, indeksa tjelesne mase, sistoličkog i dijastoličkog tlaka, CRP, eGFR, HbA1c, kolesterola, HDL-kolesterola, LDL-kolesterola i triglicerida u odgovarajućem vremenu kao neovisnim varijablama.

6 mjeseci nakon transplantacije jetre utvrđena je značajna pozitivna povezanost koncentracije ADMA s indeksom tjelesne mase i koncentracijom NO, dok je 12 mjeseci nakon transplantacije jetre nađena značajna pozitivna veza između koncentracije ADMA i indeksa tjelesne mase, kao i sistoličkog krvnog tlaka te negativna povezanost ADMA s glomerularnom filtracijom (Tablica 17).

Koncentraciju NO je značajno odredila koncentracija ADMA 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije, dok prediktivna vrijednost ostalih varijabli nije dokazana modelom višestruke linearne regresijske analize (Tablica 18).

Imunosupresivna terapija nije imala značajnog utjecaja na koncentraciju ADMA i NO, kako 6, tako i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre (Tablica 19).

Tablica 17. Prediktivni čimbenici koncentracije ADMA 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre.

ADMA		
Parametar	**6M**	**12M**
Koeficijent determinacije R^2	0,1723	0,2343
R^2-prilagođeni	0,1468	0,1910
Višestruki koeficijent korelacije	0,4151	0,4841
Rezidualna standardna devijacija	0,3574	0,3366

Jednadžba regresije 6 mjeseci

Neovisne varijable	Koeficijent	Standardna pogreška	t	p	$r_{parcijalno}$	$r_{semiparcijalno}$	VIF
BMI 6M	0,02663	0,01214	2,193	**0,032**	0,2625	0,2475	1,013
NO 6M	0,005694	0,001790	3,180	**0,002**	0,3670	0,3589	1,013

Jednadžba regresije 12 mjeseci

Neovisne varijable	Koeficijent	Standardna pogreška	t	p	$r_{parcijalno}$	$r_{semiparcijalno}$	VIF
BMI 12M	0,008230	0,003334	2,468	**0,0168**	0,3211	0,2967	1,018
eGFR 12M	-0,003373	0,001476	-2,29	**0,0263**	-0,299	0,2747	1,018
RR_S 12M	0,005580	0,002625	2,126	**0,0382**	0,2803	0,2555	1,035

Višestruka linearna regresijska analiza.
ADMA – asimetrični dimetilarginin; 6M – 6 mjeseci nakon transplantacije jetre; 12M – 12 mjeseci nakon transplantacije jetre; BMI – indeks tjelesne mase; NO – dušični oksid; eGFR – procijenjena glomerularna filtracija; RR_S – sistolički krvni tlak; VIF – faktor inflacije varijance (engl. *Variance Inflation Factor*)

Tablica 18. Prediktivni čimbenici koncentracije NO 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre.

NO		
Parametar	**6M**	**12M**
Koeficijent determinacije R^2	0,1110	0,1809
R^2-prilagođeni	0,09756	0,1481
Višestruki koeficijent korelacije	0,3332	0,4253
Rezidualna standardna devijacija	23,3151	30,7717

Jednadžba regresije 6 mjeseci

Neovisne varijable	Koeficijent	Standardna pogreška	t	p	$r_{parcijalno}$	$r_{semiparcijalno}$	VIF
ADMA 6M	21,1369	7,3621	2,871	**0,0055**	0,3332	0,3332	1,000

Jednadžba regresije 12 mjeseci

Neovisne varijable	Koeficijent	Standardna pogreška	t	p	$r_{parcijalno}$	$r_{semiparcijalno}$	VIF
ADMA 12M	31,7094	11,6308	2,726	**0,0088**	0,3597	0,3489	1,004

Višestruka linearna regresijska analiza.
NO – dušični oksid; 6M – 6 mjeseci nakon transplantacije jetre; 12M – 12 mjeseci nakon transplantacije jetre; NO – dušični oksid; VIF – faktor inflacije varijance (engl. *Variance Inflation Factor*)

Tablica 19. Koncentracije ADMA i NO u odnosu na imunosupresivnu terapiju 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre.

Varijabla	Imunosupresivna terapija				p
	Ciklosporin	Takrolimus	Sirolimus	Everolimus	
N 6M	71	77	1	1	-
ADMA 6M (μmol/L)	0.79 (0.59-0.97)	0.76 (0.59-0.99)	0.73 (0.73-0.73)	0.55 (0.55-0.55)	0.639
NO 6M (μmol/L)	22.8 (17.8-36.8)	28.8 (18.8-42.5)	45.9 (45.9-45.9)	22.3 (22.3-22.3)	0.348
N 12M	67	77	0	4	-
ADMA 12M (μmol/L)	0.64 (0.56-0.96)	0.61 (0.54-0.84)	-	0.50 (0.44-0.55)	0.140
NO 12M (μmol/L)	28.9 (18.2-52.2)	25.5 (18.0-46.8)	-	19.6 (7.8-31.4)	0.614

Vrijednosti su prikazane kao medijan (interkvartilni raspon).
Kruskal-Wallis test
N 6M - broj pacijenata 6 mjeseci nakon TJ; N 12M – broj pacijenata 12 mjeseci nakon TJ; ADMA – asimetrični dimetilarginin; NO – dušični oksid; 6M – 6 mjeseci nakon TJ; 12M – 12 mjeseci nakon TJ

5.8. Povezanost ADMA i NO s kardiovaskularnim rizikom nakon transplantacije jetre

U obje promatrane točke nakon transplantacije jetre (6 i 12 mjeseci), koncentracija ADMA i NO nije se značajno razlikovala u skupini pacijenata s većim, u odnosu na one s manjim kardiovaskularnim rizikom, procijenjenim preko SCORE indeksa (Tablica 20).

Tablica 20. ADMA i NO 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre u skupinama pacijenata s većim i manjim kardiovaskularnim rizikom, procijenjenim preko SCORE.

Varijabla	Percentil			P
	25.	50. (Medijan)	75.	
ADMA (μmol/L) veći KV rizik 6M	0.59	0.77	0.96	0.940
ADMA (μmol/L) manji KV rizik 6M	0.59	0.77	0.99	
NO (μmol/L) veći KV rizik 6M	19.9	26.9	44.6	0.217
NO (μmol/L) manji KV rizik 6M	17.4	25.2	35.5	
ADMA (mmol/L) veći KV rizik 12M	0.56	0.65	0.92	0.105
ADMA (mmol/L) manji KV rizik 12M	0.52	0.59	0.84	
NO (mmol/L) veći KV rizik 12M	18.0	27.5	53.1	0.599
NO (mmol/L) manji KV rizik 12M	18.9	27.4	45.4	

Veći KV rizik = SCORE kategorije 1 i 2 (vrlo visoki i visoki rizik)
Manji KV rizik = SCORE kategorije 3 i 4 (umjereni i mali rizik)
KV – kardiovaskularni; 6M – 6 mjeseci nakon TJ, 12M – 12 mjeseci nakon TJ
Mann Whitney U test

5.9. Prediktivni čimbenici kardiovaskularnog rizika nakon transplantacije jetre

Za procjenu prediktivnih čimbenika kardiovaskularnog rizika 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre, korištena je multivarijatna logistička regresijska analiza. Model je uključio kategorije KV rizika prema SCORE indeksu kao binarnu ovisnu varijablu u određenom vremenu te vrijednosti ADMA i NO prije, i u određenim vremenskim točkama nakon transplantacije jetre te parametre indeksa tjelesne mase, CRP, eGFR i HbA1c u promatranom vremenu kao neovisne prediktore, uz cirozu jetre kao kategorički pridruženi čimbenik.

6 mjeseci nakon transplantacije jetre identificirana je koncentracija HDL-kolesterola kao jedina prediktivna varijabla KV rizika, dok su se 12 mjeseci nakon transplantacije izdvojili koncentracija HDL-kolesterola i HbA1c uz cirozu jetre prije transplantacije kao značajan pridruženi čimbenik (Tablica 21). Primijenjeni model je 6 mjeseci nakon transplantacije točno klasificirao 65% slučajeva, uz površinu ispod krivulje osjetljivosti (ROC – engl. *Receiver Operating Characteristic*) od 0.626 i statističku značajnost, p=0.027. 12 mjeseci nakon transplantacije, ovim modelom se postigla točna klasifikacija u čak 78% slučajeva, uz površinu ispod ROC krivulje od 0.852 i statističku značajnost, p<0.001.

Tablica 21. Mutlivarijatna logistička regresijska analiza varijabli povezanih s kardiovaskularnim rizikom nakon transplantacije jetre.

Parametar	**OR**	**95% Interval Pouzdanosti**	**P**
6 mjeseci nakon transplantacije jetre			
HDL-kolesterol (mmol/L) za 1 mmol/L povećanja	0.2067	0.0463-0.9206	**0.027**
12 mjeseci nakon transplantacije jetre			
HDL-kolesterol (mmol/L) za 1 mmol/L povećanja	0.1911	0.0374-0.9752	**0.047**
HbA1c (%) za 1% povećanja	29.8057	2.6133-339.9410	**0.006**
Ciroza jetre prije transplantacije *Prisutnost vs. odsutnost*	20.6584	2.9362-145.	**0.002**

Varijable uključene u model:
Ovisna: Veći KV rizik = SCORE kategorije 1 i 2 (vrlo visoki i visoki rizik); Manji KV rizik = SCORE kategorije 3 i 4 (umjereni i mali rizik).
Kontinuirana neovisna: ADMA, ADMA 6M, ADMA 12M – asimetrični dimetilarginin, NO, NO 6M, NO 12M – dušični oksid; CRP 6M, CRP 12M – C - reaktivni protein; HDL-kolesterol 6M, HDL-kolesterol – 12 M, HbA1c 6M, HbA1c 12 M; BMI 6M, BMI 12 M - indeks tjelesne mase
Kategorička kovarijacija: Ciroza jetre prije transplantacije
6M, 12M – 6 mjeseci, 12 mjeseci nakon transplantacije
OR – omjer izgleda (engl. *Odds Ratio*)

5.10. Preživljenje nakon transplantacije jetre

U razdoblju od 12 mjeseci nakon TJ, preminulo je ukupno 29 bolesnika (16.4%), od toga 27 unutar prvih 6 mjeseci, a 2 između 6. i 12. mjeseca nakon transplantacije. Najčešći uzrok smrti je bila sepsa (55.2%), praćena disfunkcijom jetrenog presatka (20.7%), potom ARDS (6.9%), tromboza jetrene arterije (6.9%), hemoragijski šok (3.4%), iznenadna srčana smrti (3.4%) te recidiv kolangiokarcinoma (3.4%). Uzroci smrti su prikazani u tablici 22.

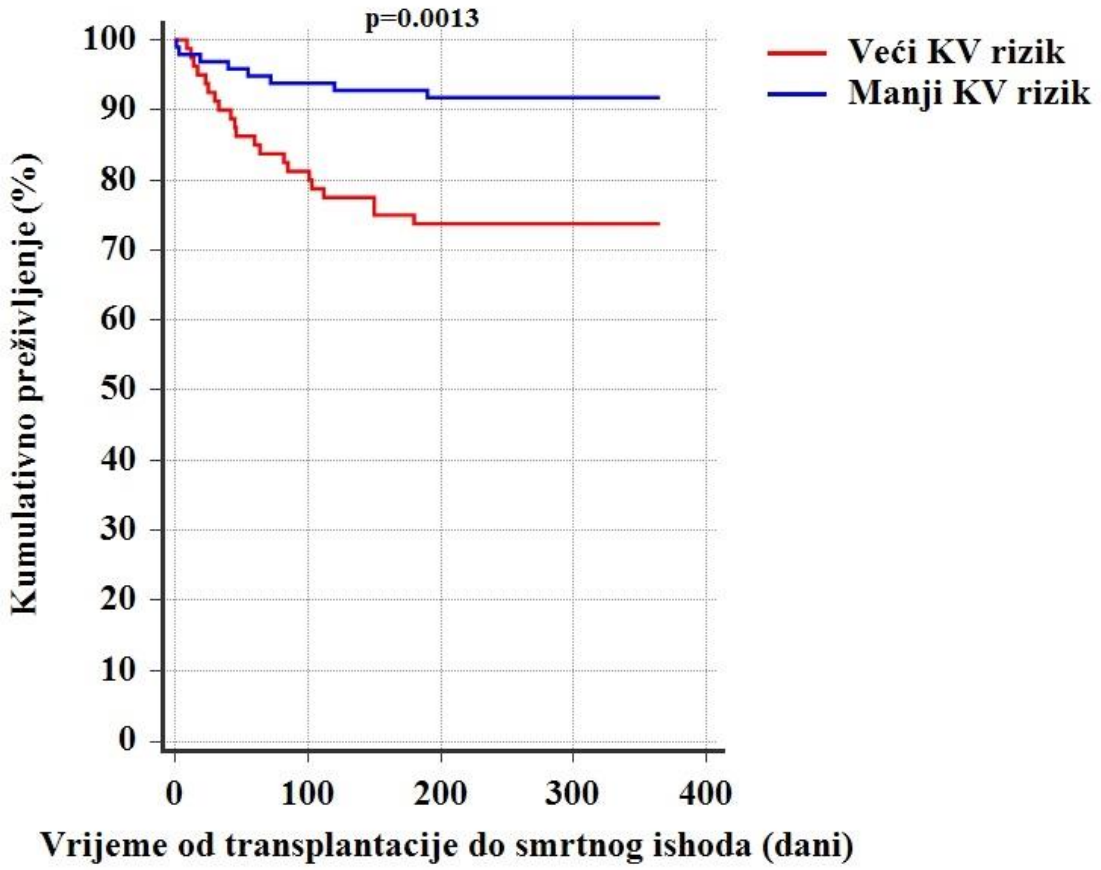
Tablica 22. Uzroci smrti bolesnika u prvoj godini nakon transplantacije jetre.

	N	%
Sepsa	16	55.2
Disfunkcija jetrenog presatka	6	20.7
ARDS	2	6.9
Tromboza jetrene arterije	2	6.9
Hemoragijski šok	1	3.4
Iznenadna srčana smrt	1	3.4
Recidiv kolangiokarcinoma	1	3.4

ARDS – akutni respiratorni distres sindrom

Veći kardiovaskularni rizik prije transplantacije, procijenjen preko SCORE kategorija 1 i 2 (vrlo visoki i visoki rizik) je značajno utjecao na smrtni ishod nakon transplantacije jetre (p=0,0013), što je prikazano na slici 12.

S druge strane, nije dokazana statistički značajna razlika u preživljenju nakon TJ prema etiologiji jetrene bolesti (p=0.202), prisutnosti ciroze (p=0.122), tumorske bolesti (p=0.287) ili HCC (p=0.824).



Slika 12. Grafički prikaz kumulativnog preživljenja nakon transplantacije jetre u odnosu na kardiovaskularni rizik procijenjen prema SCORE-indeksu prije transplantacije (p=0,0013).

Veći KV rizik = SCORE kategorije 1 i 2 (vrlo visoki i visoki rizik)
Manji KV rizik = SCORE kategorije 3 i 4 (umjereni i mali rizik)
KV - kardiovaskularni

6. RASPRAVA

Ovo prospektivno istraživanje je imalo u fokusu dinamiku, ulogu i značaj biomarkera endotelne disfunkcije: ADMA i NO s ciljem utvrđivanja njihove prediktivne vrijednosti u procjeni kardiovaskularnog rizika i kardiovaskularnih bolesti u populaciji bolesnika praćenih godinu dana nakon transplantacije jetre. Iako povezanost ovih biomarkera s kardiovaskularnim pobolom i rizikom u prvoj godini nakon transplantacije nije dokazana, uočena je njihova prediktivna vrijednost u procjeni kardiovaskularnog rizika u bolesnika s terminalnom bolesti jetre prije, kao i povezanost s određenim čimbenicima kardiovaskularnog rizika nakon transplantacije jetre.

Promatrajući dominantnu populaciju s cirozom jetre, u razdoblju prije transplantacije utvrđen je značajan porast ADMA i NO u bolesnika s većim stupnjem težine jetrene bolesti (prema MELD indeksu) kao i nezavisna povezanost biomarkera endotelne disfunkcije s kardiovaskularnim rizikom. Također je veća vrijednost glukoze utvrđena kao značajni prediktivni, dok su vrijednosti HDL-kolesterola i odsutnost hepatocelularnog karcinoma detektirani kao zaštitni čimbenici kardiovaskularnog rizika.

U meta-analizi koja je uključivala 22 prospektivne studije, Willeit i sur. su utvrdili povezanost povećanih vrijednosti ADMA i NO s kardiovaskularnim rizikom kako u općoj, tako i u populacijama bolesnika s prethodnim kardiovaskularnim bolestima i kroničnom bubrežnom bolesti (85). Dosadašnja istraživanja su utvrdila povezanost ADMA s koncentracijom NO, pri čemu veće razine ADMA, koja je kompetitivni inhibitor NOS, smanjuju bioraspoloživost NO čime doprinose vaskularnoj disfunkciji kao važnom patofiziološkom mehanizmu ciroze jetre (86).

Ovo istraživanje potvrđuje prethodne podatke o deregulaciji metabolizma metilarginina u bolesnika s cirozom jetre, ali i po prvi puta otkriva prediktivnu ulogu ADMA i NO kao

biomarkera endotelne funkcije u kardiovaskularnom riziku u razdoblju prije transplantacije. Jetra je organ koji igra ključnu ulogu u eliminaciji ADMA enzimskom razgradnjom kataliziranom izoformom enzima dimetilarginin dimetilaminohidrolaze (DDAH I) koja se u obilnim količinama nalazi u hepatocitima. Povećane vrijednosti ADMA u plazmi utvrđene su u alkoholnoj bolesti jetre (87), NAFLD (88, 89) i kroničnom hepatitisu B (90). Međutim, u kroničnom hepatitisu C su utvrđene nepromijenjene vrijednosti ADMA (91) što sugerira i na druge poremećaje metabolizma metilarginina u uvjetima oštećenja hepatocita, koji se ne odnose na smanjenu razgradnju ADMA. Povećana proizvodnja ADMA bi mogla biti i posljedica pojačane regulacije ključnog enzima odgovornog za njezinu sintezu (protein arginin N-metiltransferaze- PRMT) što je dokazano u bolesnika s alkoholnim hepatitisom (92). Rezultati ovog istraživanja, ne samo da potvrđuju pozitivnu povezanost koncentracije ADMA s težinom terminalne bolesti jetre, već i po prvi puta pokazuju da veća vrijednost ADMA nezavisno pridonosi kardiovaskularnom riziku u bolesnika s cirozom jetre.

Sličan efekt prema kardiovaskularnom riziku ima i koncentracija NO koja je, kao i ADMA, bila veća u bolesnika s većim MELD indeksom (≥18). ADMA je poznati inhibitor sinteze NO te bi očekivano bilo da će vrijednosti NO u ovoj skupini bolesnika biti niže. Međutim, rezultati ovog istraživanja pokazuju suprotan učinak, i u skladu su s eksperimentalnim dokazima da cirotična jetra otpušta velike količine NO koji uzrokuje vazodilataciju i suprimira vaskularni sustav čime uzrokuje cirkulatornu disfunkciju u uznapredovaloj bolesti jetre (93). Moguće objašnjenje za ovaj paradoks treba potražiti u različitim izoformama NOS, pri čemu aktivacija inducibilne forme iNOS igra glavnu ulogu. Mnoga dosadašnja istraživanja podupiru ulogu oksidativnog stresa u patogenezi kroničnih bolesti jetre: NAFLD, alkoholne bolesti jetre, HCC i virusnih hepatitisa zbog indukcije iNOS koja se javlja u ovim bolestima (85, 94). Kliničke studije su pokazale povećanje koncentracije ukupnog NO u terminalnoj bolesti jetre, pozitivnu korelaciju s markerima upale, kliničkim znakovima portalne

hipertenzije (95) kao i povećano otpuštanje NO u splanhičnoj cirkulaciji usprkos sniženoj aktivnosti eNOS u cirotičnoj jetri (96). Međutim, kontroverzni rezultati u studijama utjecaja statusa kompenziranosti ciroze i kroničnog hepatitisa C na razinu NO (87, 97) upućuju na postojanje vrlo složenih i raznolikih mehanizama koji utječu na metabolizam arginina/NO u različitim bolestima jetre. Ovo istraživanje nije otkrilo značajne razlike u razinama ADMA i NO između različitih etiologija bolesti jetre, ali imajući u vidu specifičnu skupinu kandidata za transplantaciju jetre, ove rezultate treba tumačiti s oprezom.

Do sada prikupljeni dokazi o povezanosti poremećenog metabolizma NO s kardiovaskularnom patologijom u kroničnoj bolesti jetre su oskudni. 2000. Liu i sur. otkrili su da je eksperimentalno inducirana prekomjerna sinteza NO aktivacijom iNOS smanjila kardijalni kontraktilitet u štakora (98), što upućuje na značajnu ulogu iNOS u patogenezi cirotične kardiomiopatije. Ovi eksperimentalni dokazi nude vjerodostojno objašnjenje i za rezultate ovog istraživanja, koji pokazuju da povišene razine ADMA nisu uspjele smanjiti NO u bolesnika s cirozom. Najvjerojatnije je prekomjerna produkcija NO rezultat aktivacije iNOS posredovane upalom, što nije moglo biti na adekvatni način regulirano endogenom inhibicijom NOS putem ADMA. Posredovanje upale u pojačanom stvaranju NO potvrđuju i značajno povišene vrijednost CRP u bolesnika s većim stupnjem disfunkcije jetre (MELD≥18) i većim kardiovaskularnim rizikom. Prema ovom istraživanju, glikemija također značajno pridonosi kardiovaskularnom riziku, što potvrđuje prethodno dobro poznatu vezu između hiperglikemije i kardiovaskularnih bolesti i u populaciji bolesnika s terminalnom bolesti jetre (99). Nadalje, zaštitni učinak HDL- kolesterola, potvrđen ovim istraživanjem, upućuje na to da povoljni lipidni profil održava svoju biološku aktivnost povezanu s kardiovaskularnim rizikom u naših pacijenata, unatoč značajnim poremećajima metabolizma lipida u jetrenoj bolesti. (82, 100).

Još jedan zanimljivi zaštitni čimbenik utvrđen u ovom istraživanju, odsutnost zloćudne bolesti, odnosno hepatocelularnog karcinoma (HCC), mogao bi biti povezan s rastućim brojem dokaza koji povezuju kardiovaskularne bolesti i karcinome (101). HCC je solidni tumor koji ima bogatu vaskularnu mrežu. Jedna od najznačajnijih molekula koja promovira rast tumora je vaskularni endotelni čimbenik rasta, VEGF (engl: vascular endothelial growth factor) (102). NO ima vrlo bitnu ulogu u progresiji tumora i jedan je od glavnih regulatora angiogeneze: povećava DNA sintezu, proliferaciju stanica, migraciju i posreduje u funkciji multiplih čimbenika angiogeneze kao što je VEGF (102). VEGF s druge strane stimulira izražaj iNOS, a time i daljnju produkciju NO. DDAH je u tumorima, poglavito HCC, dodatno izražena, čime utječe na razgradnju ADMA, a time neizravno pojačava produkciju NO, što također pogoduje angiogenezi i razvitku tumora (103). Rezultati ovog istraživanja upućuju na moguću povezanost ciklusa ADMA/NO s tumorskom bolesti jetre. Međutim, ovu zanimljivu vezu bi trebalo razjasniti u dodatnim istraživanjima, budući da ovo istraživanje nije imalo za cilj procijeniti povezanost između maligne bolesti jetre i kardiovaskularnog rizika.

U odnosu na razdoblje prije transplantacije, 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre utvrđen je značajan porast prevalencije klasičnih kardiovaskularnih čimbenika rizika: šećerne bolesti, arterijske hipertenzije i dislipidemije, dok nije zabilježena veća prevalencija pušenja i kardiovaskularnih bolesti: cerebrovaskularne bolesti i koronarne bolesti srca. Pritom je utvrđena veća incidencija kardiovaskularnih čimbenika rizika u prvih 6 mjeseci praćenja, nego u drugom polugodišnjem periodu nakon transplantacije jetre. Razlike u incidencijama 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije mogle bi se objasniti imunosupresivnim protokolima. Budući da se nakon transplantacije jetre u terapiju uvodi i kortikosteroidna terapija, koja se ukida nakon par mjeseci, moguće je početna povišena incidencija čimbenika kardiovaskularnog rizika odraz terapijskog protokola. Nastavak terapije kalcineurinskim inhibitorima svakako tijekom vremena pridonosi većoj prevalenciji metaboličkog sindroma i

ostalih čimbenika rizika (29,32), što se uočava i u ovom istraživanju. U svakom slučaju, rezultati su u skladu s prethodnim izvješćima, koja upućuju na važnost uspostave rigorozne metaboličke kontrole u ranom razdoblju nakon transplantacije jetre, kako bi se spriječili štetni kardiovaskularni ishodi u poslije-transplantacijskom razdoblju (104).

Promatrajući biomarkere endotelne disfunkcije, godinu dana nakon transplantacije jetre uočava se značajan pad vrijednosti ADMA u odnosu na razdoblje prije transplantacije, dok nije bilo razlike u koncentraciji ADMA 6 mjeseci nakon transplantacije. Uočava se i kontinuirani trend porasta koncentracije NO u odnosu na predtransplantacijske vrijednosti, no te razlike nisu dosegle statističku značajnost. Međutim, nakon transplantacije se uspostavlja značajna povezanost između ADMA i NO, koja nije postojala u razdoblju prije transplantacije jetre, što bi se, zajedno s utvrđenom dinamikom, moglo objasniti uspostavom normalnog metabolizma metilarginina u sklopu funkcionalnosti jetrenog presatka. S jedne strane, neposredno nakon transplantacije dolazi do pada vrijednosti ADMA zahvaljujući oporavku aktivnosti DDAH (72), a s druge strane dolazi do saniranja upalom modulirane indukcije iNOS (85,94) i pomaka sinteze NO preko eNOS koja je pod inhibitornim učinkom utjecajem ADMA (105). Važnost uspostave regulirane sinteze NO potkrepljuju izvješća o nedostatku eNOS u eksperimentalnom modelu transplantacije jetre, kao važnom patofiziološkom čimbeniku veće ozljede grafta, izraženijeg poremećaja mikrocirkulacije te infiltracije grafta makrofazima (106). Značajno smanjenje koncentracije ADMA i uspostava fiziološke regulacije sinteze NO godinu dana nakon transplantacije jetre, utvrđeno u ovom istraživanju, bi moglo upućivati na povoljan učinak transplantacije jetre u smislu ublažavanja endotelne disfunkcije, prisutne u razdoblju prije transplantacije.

Iako utvrđena dinamika biomarkera endotelne disfunkcije podupire prvu hipotezu ovog istraživanja, rezultatima nije dokazana njegova druga hipoteza, odnosno povezanost kardiovaskularnog rizika s biomarkerima endotelne disfunkcije u prvoj godini nakon

transplantacije jetre. Naime, za razliku od razdoblja prije transplantacije, nakon transplantacije jetre nije bilo razlike u koncentracijama ADMA i NO kod bolesnika s većim kardiovaskularnim rizikom u odnosu na one s manjim kardiovaskularnim rizikom, a među prediktorima kardiovaskularnog rizika izdvojila se prosječna glikemija, mjerena preko HbA1c te pridružena ciroza jetre prije transplantacije, uz zaštitni učinak HDL-kolesterola. Rezultati ovog istraživanja su u skladu s dosadašnjim spoznajama, jer je hiperglikemija dobro poznata sastavnica metaboličkog sindroma koji doprinosi kardiovaskularnom riziku kako u općoj (107) tako i u transplantiranoj populaciji (13).

Ciroza jetre se u ovom istraživanju također izdvojila kao nezavisni prediktor kardiovaskularnoga rizika nakon transplantacije jetre. Određene retrospektivne studije su utvrdile 7% prevalenciju zatajenja srca nakon transplantacije jetre, a da je bolesnicima prije transplantacije isključena značajna kardijalna patologija (110). Uzroke ove pojave treba potražiti u poremećajima hemodinamike te strukturnim i električnim promjenama srca koje su posljedica ciroze jetre. Hemodinamski poremećaji u cirozi jetre su dobro poznati (17-20), a očituju se redistribucijom volumena plazme u korist splanhičnog krvotoka, što za posljedicu ima centralnu hipovolemiju (19). Strukturni i električni poremećaji srca koje uzrokuje ciroza jetre sve više dolaze u fokus, čime se izdvaja posebni oblik kardiomiopatije uzrokovane cirozom jetre - cirotična kardiomiopatija. Definira se kombinacijom sistoličke i dijastoličke disfunkcije srca kao i elektrokardiografskim poremećajima u vidu produženog QTc intervala (17,19). Nakon transplantacije jetre, bolesnici mogu razviti progresivno pogoršanje svih aspekata cirotične kardiomiopatije, uz vjerojatno prvotno pogoršanje dijastoličke disfunkcije srca, koje u konačnici može dovesti do porasta mortaliteta nakon transplantacije jetre (108,109).

Iako kod bolesnika uključenih u ovo istraživanje nije uočen porast incidencije kardiovaskularnih bolesti u prvoj godini nakon transplantacije, rezultati upućuju na veliko

značenje rigoroznog kardiološkog nadzora, kako bi se spriječile kardiovaskularne komplikacije odgovorne za pobol i smrtnost u duljem razdoblju nakon transplantacije jetre (111).

Premda je u ovom istraživanju izostao dokaz o izravnoj vezi između biomarkera endotelne disfunkcije i kardiovaskularnog rizika nakon transplantacije jetre, uočena je pozitivna povezanost koncentracije ADMA s krvnim tlakom i indeksom tjelesne mase te negativna povezanost s glomerularnom filtracijom. Dosadašnja istraživanja su utvrdila povezanost ADMA s povišenim krvnim tlakom i glomerularnom filtracijom (47,66). Za nastanak hipertenzije u razdoblju nakon transplantacije jetre primarno je odgovorna imunosupresivna terapija: kortikosteroidi i kalcineurinski inhibitori. Mehanizam djelovanja uključuje vazokonstrikciju koja rezultira porastom sistemske vaskularne rezistencije. Vazokonstrikcija potiče bubrežnu reapsorpciju soli i ekspanziju volumena (13), dok pad glomerularne filtracije uzrokuje smanjeni klirens ADMA. Nastanak kronične bubrežne bolesti nakon transplantacije jetre je multifaktorijalan. Već gubitak krvi i transfuzije krvi za vrijeme kirurškog zahvata se povezuju s nastankom kronične bubrežne bolesti mehanizmom smanjene perfuzije bubrega i nastanka ishemijsko-reperfuzijske ozljede (112). Naime, bubrezi su vrlo osjetljivi na ishemiju. Povećani gubitak krvi za vrijeme operativnog zahvata dovodi do smanjena perfuzije bubrega i pada glomerularne filtracije. S druge strane, transfuzije krvi uzrokuju ishemijsko-reperfuzijsku ozljedu. Ovaj proces u konačnici dovodi do upalnog odgovora: infiltracije leukocita, intersticijskog edema te redukcije protoka krvi bubrežne mikrocirkulacije (112). Nadalje, poznata je nefrotoksičnost kalcineurinskih inhibitora i njihova uloga u nastanku kronične bubrežne bolesti (112,113). Kalcineurin stimulira sekreciju endotelina u endotelu krvnih žila, oslobađanje angiotenzina II i ekspresiju TGF- β. Posljedice uključuju kontrakciju glomerularnih arteriola, tubularnu atrofiju, fibrozu intersticija i smanjenje bubrežnog protoka krvi te glomerularne filtracije. Nadalje, i hipertenzija je dobro poznati čimbenik koji uzrokuje

kroničnu bubrežnu bolest nakon transplantacije jetre. U obzir također treba uzeti i dob zbog koje dolazi do pada bubrežne funkcije kao i virusne bolesti jetre koje uzrokuju nefropatije (114).

Eid u sur. su, istražujući povezanost ADMA s metaboličkim faktorima rizika, utvrdili najveću korelaciju ADMA s indeksom tjelesne mase (BMI) (115). Visoki BMI, kao pokazatelj pretilosti, sastavnica je metaboličkog sindroma koji je česta pojava u bolesnika nakon transplantacije jetre (29,32). Rezultati ovog istraživanja, koji pokazuju vezu između ADMA i BMI, neizravno potvrđuju ulogu ADMA u predikciji razvoja čimbenika kardiovaskularnog rizika nakon transplantacije jetre.

U ovom istraživanju je utvrđeno jednogodišnje preživljenje nakon transplantacije jetre od 83.6%, što je sukladno podatcima objavljenima na Europskom registru za transplantaciju jetre (1). Nije utvrđena povezanost preživljenja bolesnika prema etiologiji jetrene bolesti, prisutnosti ciroze ili tumorske bolesti. Međutim, iako je kardiovaskularni incident bio uzrokom smrti samo u jednom slučaju (3.5%), bolesnici s većim kardiovaskularnim rizikom prije transplantacije jetre imali su značajno veću smrtnost u prvoj godini nakon transplantacije. U tom smislu, procjena kardiovaskularnog rizika prije transplantacije jetre predstavlja nezaobilazno kliničko sredstvo u procjeni rizika nepovoljnih ishoda u poslije-transplantacijskom razdoblju i planiranju odgovarajućih intervencija usmjerenih prema njihovoj prevenciji.

Ovo istraživanje ima nekoliko ograničenja. Prije svega, uključeni su samo bolesnici koji su bili kandidati za transplantaciju jetre, što je moglo prouzročiti otklon (bias) kod interpretacije rezultata u širem kontekstu terminalne jetrene bolesti. Jedan od selekcijskih otklona (bias) je pomno izabrana populacija kandidata za transplantaciju jetre, pri čemu su isključeni bolesnici s pridruženom terminalnom bolesti srca, teško narušenom strukturnom bolesti srca ili teškom

plućnom hipertenzijom. Nadalje, većina ispitivane populacije su bili muškarci koji dovodi do otklona izbora, iako treba naglasiti da SCORE prognostički model za mjerenje kardiovaskularnog rizika uključuje varijablu spola. Jedan od nedostataka ovog istraživanja je i nepostojanje kontrolne grupe zdravih ispitanika. Procjena kardiovaskularnog rizika prema SCORE modelu korištenom u ovom istraživanju možda nije optimalan, s obzirom na značajan doprinos jetrene disfunkcije na metabolizam lipida i krvnog tlaka. Ovo istraživanje je uistinu potvrdilo prethodne studije o značajnom nižim vrijednostima ukupnog-, HDL-, i LDL-kolesterola kao i triglicerida pri većim stadijima jetrene disfunkcije (99), dok je udio bolesnika s povišenim krvnim tlakom bio manji u skupini bolesnika s MELD≥ 18. Budući da SCORE prognozira kardiovaskularne incidente u razdoblju od 10 godina, 12 mjeseci praćenja bolesnika u ovom istraživanju je možda prekratko za evaluaciju procijenjenog rizika.

Bez obzira na navedena ograničenja, ovo istraživanje je utvrdilo da je povećani kardiovaskularni rizik, prisutan u gotovo polovice bolesnika - kandidata za transplantaciju jetre, značajno povezan s biomarkerima endotelne disfunkcije ADMA i NO. Nakon transplantacije jetre dolazi do normalizacije metabolizma metilarginina, što se očituje redukcijom koncentracije ADMA i uspostavom veze između ADMA i NO, ali i do porasta kardiovaskularnog rizika, prije svega na račun porasta prevalencije klasičnih čimbenika rizika: hipertenzije, dislipidemije i hiperglikemije, što je najvjerojatnije posljedica imunosupresivne terapije. Utvrđen je i značajan učinak ciroze jetre prije transplantacije jetre na porast kardiovaskularnog rizika nakon transplantacije jetre. S obzirom na vezu između koncentracije ADMA i klasičnih čimbenika rizika: hipertenzije, pretilosti i smanjene bubrežne funkcije godinu dana nakon transplantacije, mogući utjecaj markera endotelne disfunkcije na kardiovaskularni pobol i rizik u kasnijem razdoblju nakon transplantacije jetre je potrebno rasvijetliti u daljnjim istraživanjima.

7. ZAKLJUČCI

- U razdoblju do godine dana nakon transplantacije jetre, značajno je porasla prevalencija kardiovaskularnih čimbenika rizika: povišenog krvnoga tlaka, šećerne bolesti, dislipidemije i kronične bubrežne bolesti.
- Bolesnici s većim kardiovaskularnim rizikom prije transplantacije jetre su imali značajno veću smrtnost u prvoj godini nakon transplantacije od onih s manjim kardiovaskularnim rizikom.
- Ciroza jetre značajno doprinosi porastu koncentracije asimetričnog dimetilarginina (ADMA) i deregulaciji sinteze dušičnog oksida (NO), vjerojatno preko poremećenog metabolizma metilarginina i aktivacije inducibilne izoforme sintaze NO (iNOS).
- Biomarkeri endotelne disfunkcije: ADMA i NO, uz glukozu u plazmi i hepatocelularni karcinom, izdvojeni su kao značajni prediktori većeg kardiovaskularnog rizika u razdoblju prije transplantacije jetre.
- Nakon transplantacije jetre dolazi do značajnog smanjenja koncentracije ADMA i uspostave fiziološke regulacije sinteze NO.
- Većem kardiovaskularnom riziku u prvoj godini nakon transplantacije jetre značajno doprinose tradicionalni rizični čimbenici: dislipidemija i hiperglikemija, kao i ciroza jetre prisutna prije transplantacije.
- Koncentraciju ADMA godinu dana nakon transplantacije jetre značajno određuju arterijska hipertenzija, debljina i redukcija funkcije bubrega.
- Moguću ulogu markera endotelne disfunkcije na kardiovaskularni pobol i rizik u kasnijem razdoblju nakon transplantacije jetre potrebno je rasvijetliti u daljnjim istraživanjima.

8. SAŽETAK NA HRVATSKOM JEZIKU

Uvod i ciljevi rada: Nakon transplantacije jetre (TJ) su učestale kardiometaboličke komplikacije. ADMA i NO su se u općoj populaciji pokazali kao markeri endotelne disfunkcije i odraz kardiovaskularnih bolesti. Njihova uloga nakon transplantacije jetre u procjeni kardiovaskularnog rizika je slabo istražena što je cilj ovoga istraživanja.

Ispitanici i metode: U ovo istraživanje je uključeno 177 bolesnika koji su bili kandidati za transplantaciju jetre. Bolesnicima su prije transplantacije jetre određeni klinički i laboratorijski parametri kao i u periodu 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije jetre. Određene su incidencije i prevalencije kardiovaskularnih bolesti, njihovih rizičnih čimbenika te kardiovaskularni rizik (KV) prema SCORE indeksu kao i njihova povezanost s ADMA i NO.

Rezultati: U bolesnika s terminalnom bolesti jetre, koncentracije ADMA i NO koreliraju s kategorijom višega kardijalnog rizika (p=0.046, te p=0.044). Nadalje je utvrđeno povećanje vrijednosti ADMA (p=0.042), NO (p=0.049), glukoze u plazmi (p=0.017), te HDL-kolesterola (p=0.047) kao značajni prediktor KV rizika dok je hepatocelularni karcinom identificiran kao pridruženi biološki čimbenik (p=0.044). Nakon TJ se prati uspostava povezanosti vrijednosti ADMA i NO, već nakon 6 mjeseci od TJ (p= 0.011), koja perzistira i 12 mjeseci nakon TJ (p=0.007). Nije dokazana povezanost vrijednosti ADMA i NO s višim kategorijama KV rizika nakon TJ dok su se vrijednosti HDL-kolesterola (p=0.047), glikemije (p=0.006) uz cirozu jetre prije transplantacije (p=0.002), izdvojili kao značajni pridruženi čimbenici KV rizika.

Zaključak: Iako je ovim istraživanjem utvrđena povezanost ADMA i NO s višim kardijalnim rizikom u bolesnika s terminalnom bolesti jetre, njihova povezanost s istim, nakon TJ nije dokazana. Klasični čimbenici KV rizika pridonose povećanju KV rizika nakon TJ. Potrebna

se u daljnja istraživanja da se utvrdi moguća uloga markera endotelne disfunkcije na kardiovaskularni pobol i rizik u kasnijem razdoblju nakon transplantacije jetre.

9. NASLOV I SAŽETAK NA ENGLESKOM JEZIKU

THE ROLE OF MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION: ASYMMETRIC DIMETHYLARGININE AND NITRIC OXIDE IN THE ASSESSMENT OF CARDIOVASCULAR RISK AFTER LIVER TRANSPLANTATION

Introduction and aims: Cardiometabolic complications often occur after liver transplantation (LT). ADMA and NO have been identified as markers of endothelial dysfunction and the manifestation of cardiovascular diseases in the general population. Their role in cardiovascular risk assessment after liver transplantation has been poorly evaluated, which is the aim of this study.

Patients and methods: This study included 177 patients who were liver transplant candidates. The patients had their clinical and laboratory parameters assessed before and after 6 and 12 months after LT. The incidence and prevalence of cardiovascular diseases along with cardiovascular risk according to SCORE were determined and associated with ADMA and NO.

Results: In patients with end-stage liver disease, ADMA and NO concentrations correlate with higher cardiac risk category (p=0.046, p=0.044 respectively). Furthermore, an increase in ADMA (p=0.042), NO (p=0.049), fasting plasma glucose (p=0.017), and HDL- cholesterol (p=0.047) concentrations were identified as predictors of cardiovascular risk, whereas hepatocellular carcinoma was determined as a cofounding biological factor (p=0.044). After LT, a physiological connection of the ADMA/NO pathway was established, identified 6 months after LT (p= 0.011), and persisted further 12 months after LT (p=0.007). No connection of ADMA or NO concentrations with higher cardiovascular risk categories after

LT was proven, but HDL- cholesterol concentrations (p=0.047), level of glycemia (p=0.006), and liver cirrhosis before LT (p=0.002) were identified as cofounding cardiovascular risk factors.

Conclusion: Although this study determined a connection of ADMA and NO with higher cardiovascular risk in patients with end-stage liver disease, their connection with cardiovascular risk after LT was not proven. Classical cardiovascular risk factors increase the total cardiovascular risk after LT. Further research is needed to establish the possible impact of markers of endothelial dysfunction on cardiovascular diseases and risk increase in later periods after LT.

10. POPIS LITERATURE

1. Patient and graft survival following liver transplantation. European Liver Transplantation Registry Data Dostupno na: www.eltr.org/Evolution-of-LTs-in-Europe.html
2. Peng Y, Qi X, Guo X. Child–Pugh Versus MELD Score for the Assessment of Prognosis in Liver Cirrhosis.A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. Medicine (Baltimore). 2016;95(8):2877
3. Wiesner R, Edwards E, Freeman R i sur. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. Gastroenterology. 2003;124(1):91-6.
4. Moini M, Schilsky ML, Tichy EM. Review on immunosuppression in liver transplantation. World J Hepatol. 2015;7(10):1355–1368
5. Perry I, Neuberger J. Immunosuppression: Towards a logical approach in liver transplantation. Clinical and Experimental Immunology. 2005;139(1):2-10.
6. Tan-Tam C, Segedi M., Buczkowski A, i sur. Surgical complications of liver transplantation. AME Medical Journal. 2018;0,3.
7. Zhu JH, Hussaini T, Erb SR, Marquez V, Yoshid EM. Medical complications of liver transplantation. AMJ. 2018;01,03
8. Farkas S, Hackl C, HJ. Overview of the Indications and Contraindications for Liver Transplantation. Cold Spring Harb Perspect Med. 2014; 4(5);015602.
9. Varma V, Mehta N, Kumaran V, Nundy S. Indications and Contraindications for Liver Transplantation. Int J Hepatol. 2011;121862.
10. Główczyńska R, Galas M, Witkowska A, i sur. The Pre-Transplant Profile of Cardiovascular Risk Factors and Its Impact on Long-Term Mortality After Liver Transplantation. Ann Transplant 2018;23:591-597

11. Parikh NS, Navi BB, Schneider Y, Jesudian A, Kamel H. Association Between Cirrhosis and Stroke in a Nationally Representative Cohort. JAMA Neurol. 2017;74(8):927–932.
12. Ghadir M, Riahin AA, Havaspour A, Nooranipour M, Habibinejad AA. The relationship between lipid profile and severity of liver damage in cirrhotic patients, Hepat Mon. 2010;10(4):92985.
13. Luca L, Westbrook R, Tsochatzis EA. Metabolic and cardiovascular complications in the liver transplant recipient. Ann Gastroenterol. 2015;28(2),183–192.
14. Hogan BJ, Gonsalkorala E, Heneghan MA. Evaluation of coronary artery disease in potential liver transplant recipients. Liver Transplantation. 2016;23,3,386-395
15. Tovikkai C, Charman SC, Praseedom RK, Gimson AE, van der Meulen J. Time-varying impact of comorbidities on mortality after liver transplantation: a national cohort study using linked clinical and administrative data. BMJ Open. 2015;5(5),006971.
16. Gil E, Kim JM, Jeon K, i sur. Recipient Age and Mortality After Liver Transplantation: A Population-based Cohort Study. Transplantation. 2018;102(12), 2025–2032.
17. Fede G, Privitera G, Tomaselli T, Spadaro L, Purrello F. Cardiovascular dysfunction in patients with liver cirrhosis. Ann Gastroenterol. 2015;28(1),31–40
18. Raval Z, Harinstein ME, Skaro AI, i sur. Cardiovascular Risk Assessment of the Liver Transplant Candidate. Journal of the American College of Cardiology. 2011;58.3, 223-231
19. Møller S, Lee SS. Cirrhotic cardiomyopathy. Journal of hepatology. 2018;69,4,958–960

20. Chayanupatkul, M., Liangpunsakul, S. Cirrhotic cardiomyopathy: review of pathophysiology and treatment. Hepatol Int 8. 2014;308–315.
21. An J, Shim JH, Kim SO i sur. Prevalence and Prediction of Coronary Artery Disease in Patients With Liver Cirrhosis. A Registry-Based Matched Case–Control Study. Circulation. 2014;14;130(16),1353-62.
22. Keeling AN, Flaherty JD, Davarpanah AH, i sur. Coronary multidetector computed tomographic angiography to evaluate coronary artery disease in liver transplant candidates: methods, feasibility and initial experience. J Cardiovasc Med (Hagerstown) 2011;12:460–468
23. Tiukinhoy-Laing SD, Rossi JS, Bayram M, i sur. Cardiac hemodynamic and coronary angiographic characteristics of patients being evaluated for liver transplantation. Am J Cardiol. 2006;98:178–181.
24. VanWagner LB, Lapin B, Levitsky J, i sur. High early cardiovascular mortality after liver transplantation. Liver Transplant. 2014;20:1306–1316
25. Nicolau-Raducu R, Gitman M, Ganier D, i sur. Adverse cardiac events after orthotopic liver transplantation: A cross-sectional study in 389 consecutive patients. Liver Transplant. 2015;21:13–21.
26. Bezinover D, Kadry Z, McCullough P, i sur. Release of cytokines and hemodynamic instability during the reperfusion of a liver graft. Liver Transplant. 2011;17:324–330.
27. Pineda J, Marín F, Marco P, i sur. Premature coronary artery disease in young (age <45) subjects: Interactions of lipid profile, thrombophilic and haemostatic markers. Int. J. Cardiol. 2009;136:222–225.
28. Luca L, Westbrook R, Tsochatzis EA. Metabolic and cardiovascular complications in the liver transplant recipient. Ann Gastroenterol. 2015;28(2):183–192.

29. Kallwitz ER. Metabolic syndrome after liver transplantation: preventable illness or common consequence?. World J Gastroenterol. 2012;18(28):3627–3634.
30. Jiménez-Pérez M, González-Grande R, Guzmán EO, Trillo VA, López JMR. Metabolic complications in liver transplant recipients. World J Gastroenterol. 2016; 22(28): 6416–6423.
31. Tune JD, Goodwill AG, Sassoon DJ, Mather KJ. Cardiovascular consequences of metabolic syndrome. Transl Res. 2017;183:57–70.
32. Ruiz-Rebollo ML, Sánchez-Antolín G, García-Pajares F, i sur. Risk of development of the metabolic syndrome after orthotopic liver transplantation. Transplant Proc. 2010;42:663–665
33. Poonawala A, Nair SP, Thuluvath PJ. Prevalence of obesity and diabetes in patients with cryptogenic cirrhosis: a case-control study. Hepatology. 2000;32:689–692.
34. Favero G, Paganelli C, Buffoli B, Rodella LF, Rezzani R. Endothelium and Its Alterations in Cardiovascular Diseases: Life Style Intervention. Biomed Res Int. 2014; 26;2014:801896
35. Sun YB, Qu X, Li X, Nikolic-Paterson DJ, Li J. Endothelial dysfunction exacerbates renal interstitial fibrosis through enhancing fibroblast Smad3 linker phosphorylation in the mouse obstructed kidney. PLoS One. 2013;8(12):84063
36. Montorfano I, Becerra A, Cerro R, i sur. Oxidative stress mediates the conversion of endothelial cells into myofibroblasts via a TGF-β1 and TGF-β2-dependent pathway. Lab Invest. 2014;94(10):1068-82.
37. Procter NE, Chong CR, Sverdlov AL, Chan WP, Chirkov YY, Horowitz JD. Aging of platelet nitric oxide signaling: pathogenesis, clinical implications, and therapeutics. Semin Thromb Hemost. 2014;40(6):660-8.

38. Apostoli GL, Solomon A, Smallwood MJ, Winyard PG, Emerson M. Role of inorganic nitrate and nitrite in driving nitric oxide-cGMP-mediated inhibition of platelet aggregation in vitro and in vivo. J Thromb Haemost. 2014, doi: 10.1111/jth.12711
39. Melki V, Douhan Håkansson L, Borowiec JW. Effect of simulated extracorporeal circulation and glyceryl-tri-nitrate on leukocyte activation. Scand Cardiovasc J. 2014;48(1):59-64.
40. Púzserová A, Kopincová J, Bernátová I. Endothelial (dys)function in the experimental model of primary hypertension. Cesk Fysiol. 2010;59(1):4-14.
41. Bredt DS. Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. Free Radic Res. 1999;31(6):577-96.
42. Nitric oxide synthases: regulation and function. Ulrich Förstermann William C. Sessa. European Heart Journal. 2012;33,7,829–837
43. Tolins JP, Schultz PJ. Endogenous nitric oxide synthesis determines sensitivity to the pressor effect of salt. Kidney International, 1994,46,230—236
44. Lorna F. The DDAH/ADMA pathway is a critical regulator of NO signalling in vascular homeostasis. Cell Adh Migr. 2008; 2(3):149-150.
45. Zakrzewicz D, Eickelberg O. From arginine methylation to ADMA: A novel mechanism with therapeutic potential in chronic lung diseases. BMC Pulm Med. 2009;9,5
46. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. Eur Heart J. 2012;33(7):829-837
47. Sibal L, Agarwal CS, Home DP, Boger HR. The Role of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease. Curr Cardiol Rev. 2010;6(2):82–90.

48. Franceschelli S, Ferrone A, Pesce M, Riccioni G, Speranza L. Biological functional relevance of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in cardiovascular disease. Int J Mol Sci. 2013;14(12):24412-21.

49. Jawalekar SL, Karnik A, Bhutey A. Risk of cardiovascular diseases in diabetes mellitus and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. Biochem Res Int. 2013;189430,6

50. Pilz S, Edelmann F, Meinitzer A, i sur. Associations of methylarginines and homoarginine with diastolic dysfunction and cardiovascular risk factors in patients with preserved left ventricular ejection fraction. J Card Fail. 2014;1071-9164(14)01199-3

51. Hafner F, Kieninger A, Meinitzer A, i sur. Endothelial dysfunction and brachial intima-media thickness: long term cardiovascular risk with claudication related to peripheral arterial disease: a prospective analysis. PLoS One. 2014;9(4):93357. doi:10.1371/journal.pone.0093357

52. Bouras G, Deftereos S, Tousoulis D, i sur. Asymmetric Dimethylarginine (ADMA): a promising biomarker for cardiovascular disease? Curr Top Med Chem. 2013;13(2):180-200.

53. Böger RH. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. Cardiovasc Res. 2003;59(4):824-33.

54. Zeller M, Korandji C, Guilland JC, i sur. Impact of asymmetric dimethylarginine on mortality after acute myocardial infarction. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2008;28(5):954-60.

55. Nijveldt RJ, Teerlink T, Van Der Hoven B, i sur. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. Critical Care. 2003;22(1):23-30.

56. Zoccali C, Bode-Böger SM, Mallamaci F, i sur. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase predicts mortality in end-stage renal disease (ESRD). Lancet. 2001;358: 2113–17.

57. Hsu CP, Lin SJ, Chung MY, Lu TM. Asymmetric dimethylarginine predicts clinical outcomes in ischemic chronic heart failure. Atherosclerosis. 2012;225(2):504-10.

58. Kruszelnicka O, Surdacki A, Golay A. Differential associations of angiographic extent and severity of coronary artery disease with asymmetric dimethylarginine but not insulin resistance in non-diabetic men with stable angina: a cross-sectional study. Cardiovasc Diabetol. 2013;12:145.

59. Böger RH, Endres HG, Schwedhelm E, i sur. Asymmetric dimethylarginine as an independent risk marker for mortality in ambulatory patients with peripheral arterial disease. J Intern Med. 2011;269(3):349-61.

60. Lu TM, Chung MY, Lin MW, Hsu CP, Lin SJ. Plasma asymmetric dimethylarginine predicts death and major adverse cardiovascular events in individuals referred for coronary angiography. Int J Cardiol. 2011;153(2):135-40.

61. Sen N, Ozlu MF, Akgul EO, i sur. Elevated plasma asymmetric dimethylarginine level in acute myocardial infarction patients as a predictor of poor prognosis and angiographic impaired reperfusion. Atherosclerosis. 2011;219(1):304-10.

62. Zeller M, Korandji C, Guilland JC, i sur. Impact of asymmetric imethylarginine on mortality after acute myocardial infarction. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2008;28(5):954-60.

63. Nishiyama Y, Ueda M, Katsura K, i sur. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a possible risk marker for ischemic stroke. J Neurol Sci. 2010;290(1-2):12-5.

64. Shivkar RR, Abhang SA. Ratio Of Serum Asymmetric Dimethyl Arginine (ADMA)/Nitric Oxide in Coronary Artery Disease patients. J Clin Diagn Res. 2014;8(8):CC04-6.

65. Dias Garcia JA, Incerpi EK. Factors and mechanisms involved in left ventricular hypertrophy and the anti-hypertrophic role of nitric oxide. Arq. Bras. Cardiol. 2008; 90.6.

66. Liu X, Xu X, Shang R, Chen Y. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as an important risk factor for the increased cardiovascular diseases and heart failure in chronic kidney disease. Nitric Oxide. 2018;1;78:113-120.

67. Atawia RT, Bunch KL, Toque HA, Caldwell RB, Caldwell RW. Mechanisms of obesity-induced metabolic and vascular dysfunctions. Front Biosci (Landmark Ed). 2019;1;24:890-934.

68. Mirmiran P, Bahadoran Z, Tahmasebinejad Z, Azizi F, Ghasemi A.Circulating nitric oxide metabolites and the risk of cardiometabolic outcomes: a prospective population-based study. Biomarkers. 2019;9:1-9.

69. Mookerjee R.P, Mehta G, Balasubramaniyan V, i sur. Hepatic Dimethylarginine-Dimethylaminohydrolase1 is Reduced in Cirrhosis and is a Target for Therapy in Portal Hypertension, Journal of Hepatology. 2014;0168-8278(14)00611-4.

70. González-Abraldes J, García-Pagán JC, Bosch J. Nitric oxide and portal hypertension. Metab Brain Dis. 2002;17(4):311-24.

71. Shuo Hu L, George J, and Hua Wang J. Current concepts on the role of nitric oxide in portal hypertension. World J Gastroenterol., 2013;19(11):1707–1717.

72. Siroen MP, Warlé MC, Teerlink T, i sur. The transplanted liver graft is capable of clearing asymmetric dimethylarginine. Liver Transpl. 2004;10(12):1524-30.

73. Wnuk Z, Kokot F, Kunsdorf-Wnuk A. Diagnostic value of plasma asymmetric and symmetric dimethylarginine levels in liver transplant recipients. Pol Arch Med Wewn. 2012;122(7-8):367-73.
74. Brenner T, Fleming TH, Spranz D, i sur. Reactive metabolites and AGE-RAGE-mediated inflammation in patients following liver transplantation. Mediators Inflamm. 2013;501430,10
75. Becker T, Mevius I, de Vries DK, i sur. The L-arginine/NO pathway in end-stage liver disease and during orthotopic liver and kidney transplantation: biological and analytical ramifications. Nitric Oxide. 2009;20(1):61-7.
76. Martín-Sanz P, Olmedilla L, Dulin E, i sur. Presence of methylated arginine derivatives in orthotopic human liver transplantation: relevance for liver function. Liver Transpl. 2003;9(1):40-8.
77. Alvares-da-Silva MR, Pinto Marques Souza de Oliveira C, Tadeu Stefano J, i sur. Pro-atherosclerotic markers and cardiovascular risk factors one year after liver transplantation. World J Gastroenterol. 2014;20(26):8667–73.
78. Aboyans V, Ricco JB, Bartelink MLEL, i sur. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries. European Heart Journal, 2018;39,9,763–816.
79. Kamath PS, Kim WR, Advanced Liver Disease Study Group. The model for end-stage liver disease (MELD). Hepatology. 2007;45:797–805.
80. Trgo G, Zaja I, Bogut A, et al. Association of Asymmetric Dimethylarginine With Acute Pancreatitis–Induced Hyperglycemia. Pancreas. 2016.45:694-9.

81. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, i sur. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. Eur Heart J. Narnia; 2018;39(33):3021–104.
82. The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. European Heart Journal 2020;41,111-188
83. WHO. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation. World Health Organization. 2006
84. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, i sur. Definition and classification of chronic kidney disease: A position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). Kidney International, 2005;67,2089–2100
85. Willeit P, Freitag DF, Laukkanen JA, i sur. Asymmetric dimethylarginine and cardiovascular risk: systematic review and meta-analysis of 22 prospective studies. J Am Heart Assoc. 2015;4,001833.
86. Lluch P, Segarra G, Medina P. Asymmetric dimethylarginine as a mediator of vascular dysfunction in cirrhosis. World J Gastroenterol. 2015; 21, 9466, DOI: https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i32.9466.
87. Lluch P, Torondel B, Medina P, i sur. Plasma concentrations of nitric oxide and asymmetric dimethylarginine in human alcoholic cirrhosis. J Hepatol. 2004;41,55–9, DOI: https://doi.org/10.1016/j.jhep.2004.03.016.
88. Kasumov T, Edmison JM, Dasarathy S, Bennett C, Lopez R, Kalhan SC. Plasma levels of asymmetric dimethylarginine in patients with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. Metabolism. 2011;60,776–81, DOI: https://doi.org/10.1016/j.metabol.2010.07.027.

89. Boga S, Alkim H, Koksal AR, i sur. Increased Plasma Levels of Asymmetric Dimethylarginine in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. J Investig Med. 2015; 63, 871–7, DOI: https://doi.org/10.1097/JIM.0000000000000230.

90. Karakecili F, Cikman A, Aydin M, Gulhan B. Asymmetrical Dimethylarginine Levels in Hepatitis B Virus-Positive Patients. Ann Lab Med. 2018; 38, 446-9, DOI: https://doi.org/10.3343/alm.2018.38.5.446.

91. Lluch P, Cortina B, Vila JM, i sur. Unchanged plasma levels of dimethylarginines and nitric oxide in chronic hepatitis C. Scand J Gastroenterol. 2009; 44, 224–8, DOI: https://doi.org/10.1080/00365520802400917.

92. Mookerjee RP, Malaki M, Davies NA, i sur. Increasing dimethylarginine levels are associated with adverse clinical outcome in severe alcoholic hepatitis. Hepatology. 2007; 46, 62–71, DOI: https://doi.org/10.1002/hep.21491

93. Møller S, Bendtsen F. The pathophysiology of arterial vasodilatation and hyperdynamic circulation in cirrhosis. Liver Int. 2018;38,570–80, DOI: https://doi.org/10.1111/liv.13589.

94. Iwakiri Y. Endothelial dysfunction in the regulation of cirrhosis and portal hypertension. Liver Int. 2012; 32, 199–213, DOI: https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2011.02579.

95. Arkenau HT, Stichtenoth DO, Frölich JC, Manns MP, Böker KHW. Elevated Nitric Oxide Levels in Patients with Chronic Liver Disease and Cirrhosis Correlate with Disease Stage and Parameters of Hyperdynamic Circulation. Z Gastroenterol. 2002; 40,907–13, DOI: https://doi.org/10.1055/s-2002-35413.

96. Sarela AI, Mihaimeed FMA, Batten JJ, Davidson BR, Mathie RT. Hepatic and splanchnic nitric oxide activity in patients with cirrhosis. Gut. 1999; 44, 749–53, DOI: https://doi.org/10.1136/gut.44.5.749.

97. Elsing C, Harenberg S, Stremmel W, Herrmann T. Serum levels of soluble Fas, nitric oxide and cytokines in acute decompensated cirrhotic patients. World J Gastroenterol. 2007; 13, 421–5, DOI: https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i3.421.

98. Liu H, Ma Z, Lee SS. Contribution of nitric oxide to the pathogenesis of cirrhotic cardiomyopathy in bile duct–ligated rats. Gastroenterology. 2002; 118, 937–44, DOI: https://doi.org/10.1016/S0016-5085(00)70180-6.

99. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, i sur. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). Eur Heart J. 2016;37,2315–81, DOI: https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw106.

100. Chrostek L, Supronowicz L, Panasiuk A, Cylwik B, Gruszewska E, Flisiak R. The effect of the severity of liver cirrhosis on the level of lipids and lipoproteins. Clin Exp Med. 2014; 14, 417–21, DOI: https://doi.org/10.1007/s10238-013-0262-5

101. Hasin T, Iakobishvili Z, Weisz G. Associated Risk of Malignancy in Patients with Cardiovascular Disease: Evidence and Possible Mechanism. Am J Med. 2017;130, 780–5,6 DOI: https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2017.02.024.

102. Moon WS, Rhyu KH, Kang MJ, i sur. Overexpression of VEGF and angiopoietin 2: a key to high vascularity of hepatocellular carcinoma? Mod Pathol 16(6):552–557

103. Buijs N, Oosterink JE, Jessup M. i sur. A new key player in VEGF-dependent angiogenesis in human hepatocellular carcinoma: dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1. Angiogenesis 2017;20,557–565

104. D'Avola D, Cuervas-Mons V, Martí J, i sur. Cardiovascular morbidity and mortality after liver transplantation: The protective role of mycophenolate mofetil. Liver Transpl. 2017;23(4):498-509. doi: 10.1002/lt.24738. PMID: 28160394.

105. Rafikov R, Rafikova O, Aggarwal S, i sur. Asymmetric dimethylarginine induces endothelial nitric-oxide synthase mitochondrial redistribution through the nitration-mediated activation of Akt1. *J Biol Chem*. 2013;288(9):6212-6226. doi:10.1074/jbc.M112.423269

106. Theruvath TP, Zhong Z, Currin RT, Ramshesh VK, Lemasters JJ. Endothelial nitric oxide synthase protects transplanted mouse livers against storage/reperfusion injury: Role of vasodilatory and innate immunity pathways. Transplantation Proceedings. 2006;38(10):3351-3357. DOI: 10.1016/j.transproceed.2006.10.171.

107. Dokken BB. The Pathophysiology of Cardiovascular Disease and Diabetes: Beyond Blood Pressure and Lipids. Diabetes Spectrum. 2008; 21(3):160-165. DOI: https://doi.org/10.2337/diaspect.21.3.160

108. Therapondos G, Flapan AD, Dollinger MM, Garden OJ, Plevris JN, Hayes PC. Cardiac function after orthotopic liver transplantation and the effects of immunosuppression: a prospective randomized trial comparing cyclosporin (Neoral) and tacrolimus. Liver Transplant. 2002;8;690-700

109. Torregrosa M, Dos SAL, Segura R, Gonzalez A, Evangelista A, i sur. Cardiac alterations in cirrhosis: reversibility after liver transplantation. J Hepatol. 2005;42;68-74

110. Eimer MJ, Wright JM,Wang EC, i sur. Frequency and Significance of Acute Heart Failure Following Liver Transplantation. The American Journal of Cardiology. 2008.;101,2,242-244

111. Diaconu C. Cardiovascular and Metabolic Consequences of Liver Transplantation: A Review. Medicina (Kaunas). 2019;55(8):489. doi:10.3390/medicina55080489

112. Li Y, Li B, Wang W, Lv J. Risk factors for new-onset chronic kidney disease in patients who have received a liver transplant. Exp Ther Med. 2018;15(4):3589–3595

113. Morard I, Mentha G, Spahr L, i sur. Long-term renal function after liver transplantation is related to calcineurin inhibitors blood levels. Clin Transplant. 2006;20:96–101

114. Fabrizi F, Dixit V, Martin P, Messa P. Chronic kidney disease after liver transplantation: Recent evidence. Int J Artif Organs. 2010;33(11):803-11.

115. Eid HMA, Arnesen H, Hjerkinn EM, Lyberg T, Seljeflot I. Relationship between obesity, smoking, and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine. Metabolism. 2004;53;12;1574-1579. DOI: https://doi.org/10.1016/j.metabol.2004.06.026

11. ŽIVOTOPIS

Maro Dragičević, dr. med., je rođen 1982. godine u Dubrovniku. Maturirao je 2001. godine u Prirodoslovno – matematičkoj gimnaziji Dubrovnik. U srpnju 2007. je diplomirano na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. 2012. godine upisuje poslijediplomski studij 'Biomedicina i zdravstvo' na Medicinskom fakultetu u Zagrebu. Od 2009. do 2014. godine radi kao specijalizant interne medicine u Kliničkoj bolnici Merkur, te 2014. polaže specijalistički ispit. Od tada nastavlja subspecijalističko usavršavanje iz kardiologije te 2017. godine stječe subspecijalizaciju iz kardiologije.

Trenutno radi na Zavodu za kardiologiju, Klinike za unutarnje bolesti, Kliničke bolnice Merkur u Zagrebu.

Do sada je objavio 8 znanstveno-stručnih radova, od toga 2 indeksirana u WoS/Current Contents te sudjelovao na nekoliko internističkih i kardioloških kongresa.