

**Univerzitet u Beogradu
Farmaceutski fakultet**



Lidija A. Memon

DOKTORSKA DISERTACIJA

Značaj određivanja simetričnog dimetil-L-arginina i N-terminalnog fragmenta natriuretskog propeptida B tipa kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom i transplantiranim bubregom

Beograd, 2013.

**University of Belgrade
Faculty of pharmacy**



Lidija A. Memon

DOCTORAL DISSERTATION

The significance of determination of symmetric-L-dimethylarginine
and N-terminal pro B type natriuretic peptide in chronic kidney
disease patients and renal transplant recipients

Belgrade, 2013.

Doktorska disertacija je urađena na Institutu za medicinsku biohemiju Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu i u Centralnoj laboratoriji KBC „Bežanijska kosa”.

Mentor

Prof. Dr Vesna Spasojević-Kalimanovska

Članovi komisije

1.

Doc. Dr Nataša Bogavac-Stanojević

2.

Prof. Dr Sanja Simić-Ogrizović
Univerzitet u Beogradu-Medicinski fakultet

Datum odbrane

ZAHVALNICA

Zahvaljujem se svom mentoru prof. dr Vesni Spasojević-Kalimanovskoj na dugogodišnjoj saradnji, ukazanom poverenju i nesebičnom pružanju znanja i pomoći u toku doktorskih studija i izrade teze.

Zahvaljujem se doc. dr Nataši Bogavac-Stanojević na statističkoj obradi podataka i korisnim sugestijama tokom izrade doktorske disertacije.

Zahvaljujem se na podršci i doprinosu ovom radu doc. dr Jeleni Kotur-Stevuljević kao i celokupnom kolektivu Instituta za medicinsku biohemiju Farmaceutskog fakulteta u Beogradu na pruženom gostoprimstvu i izuzetnoj saradnji.

Veliko hvala na doprinosu ovom radu prof. dr Sanji Simić-Ogrizović koja je omogućila sakupljanje uzoraka i pružila mi stručnu pomoć.

Zahvaljujem se svojoj porodici na razumevanju i podršci da istrajem.

ZNAČAJ ODREĐIVANJA SIMETRIČNOG DIMETIL-L-ARGININA I N- TERMINALNOG FRAGMENTA NATRIURETSKOG PROPEPTIDA B-TIPA KOD BOLESNIKA SA HRONIČNOM BUBREŽNOM INSUFICIJENCIJOM I TRANSPLANTIRANIM BUBREGOM

Cilj studije je bio da se ispita značaj određivanja simetričnog dimetil-L-arginina (SDMA) i N-terminalnog fragmenta natriuretskog propeptida B-tipa (NT-proBNP) kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom (HBI) i bolesnika sa transplantiranim bubregom (RT) za detekciju bubrežne, endotelne i dijastolne disfunkcije.

U studiju je uključeno 98 HBI i 52 RT bolesnika. Kontrolnu grupu je činilo 88 zdravih osoba (43 muškarca i 45 žena) bez znakova kardiovaskularne i bubrežne bolesti koji su po polu i godinama upareni sa bolesnicima. Bolesnici sa HBI imali su značajno višu vrednost SDMA u odnosu na RT bolesnike ($p < 0.001$). NT-proBNP je takođe bio viši kod HBI bolesnika ali bez statističke značajnosti. Korelaciona analiza između NT-proBNP, SDMA i drugih parametara bubrežne funkcije je pokazala statističku značajnost naročito sa brzinom glomerularne filtracije (GFR), albuminom, ureom, kreatininom, godinama i dužinom trajanja bolesti. Ispitali smo promene ispitivanih parametara u odnosu na dijastolnu disfunkciju leve komore koja je procenjena na osnovu Dopler ehokardiografije. Dijastolna disfunkcija je definisana kao E:A ratio < 1 . U RT grupi, posle korekcije u odnosu na trajanje bolesti, koncentracije SDMA i NT-proBNP kod bolesnika sa dijastolnom disfunkcijom su bile znajno više nego kod bolesnika bez dijastolne disfunkcije ($F = 7.478$, $P < 0.011$; $F = 2.631$, $p < 0.017$). Posle korekcije u odnosu na GFR, vrednosti SDMA i NT-proBNP se nisu značajno razlikovale. Kod bolesnika sa HBI, korigovane vrednosti SDMA i NT-proBNP u odnosu na GFR su bile više kod bolesnika sa dijastolnom disfunkcijom u odnosu na bolesnike bez dijastolne disfunkcije ali ne značajno.

Da bi ispitali uticaj endotelne funkcije na ispitivane parametre bolesnici sa HBI i RT bolesnici su na osnovu protokom posredovane vazodilatacije brahijalne arterije zavisne od endotela (FMD) podeljeni u dve grupe. Kod HBI bolesnika ultrasenzitivni C-reaktivni protein (hs-CRP), interleukin-6 (IL-6), serumski amiloid - A (SAA) i SDMA su bili značajno viši u grupi sa oštećenom FMD u odnosu na neoštećenu. Logistička

regresiona analiza je pokazala da su, posle korekcije u odnosu na GFR, povišeni hs-CRP i SDMA udruženi sa oštećenom FMD kod HBI i RT bolesnika. Pomoću ROC analize je ispitana sposobnost inflamatornih parametara, SDMA i O_2^- da detektuju oštećenu FMD. Samo hs-CRP (AUC=0.754, $p<0.001$), IL-6 (AUC=0.699, $p=0.002$) i SDMA (AUC=0.689, $p=0.007$) značajno detektuju oštećenu FMD. Za SDMA, sve kombinacije sa inflamatornim parametrima i O_2^- povećavaju diskriminatornu sposobnost u odnosu na sam SDMA. Ovo povećanje površine ispod krivih (AUC) za sve modele nije bilo veće u odnosu na AUC za sam hs-CRP.

NT-proBNP je koristan marker za detekciju dijastolne disfunkcije leve komore kod bolesnika sa transplantiranim bubregom. Pri ispitivanju NT-proBNP i SDMA, neophodno je uzeti u obzir da GFR utiče na vrednost oba parametra. Hs-CRP, IL-6 i SDMA mogu da predvide endotelnu disfunkciju kod HBI i RT bolesnika. Hs-CRP pokazuje najjaču diskriminativnu sposobnost za endotelnu disfunkciju ali ovo mora da se potvrdi u prospektivnoj studiji.

Ključne reči: hronična bubrežna insuficijencija, transplantirani bubreg, brzina glomerularne filtracije, simetrični dimetil-L-arginin, N-terminalni fregment natruretskog propetida B-tipa, hs-CRP, IL-6, dijastolna disfunkcija, endotelna disfunkcija

Naučna oblast: Medicinska biohemija

UDK broj: 616.61-008 : 612.466 (043.3)
616.61-78 : 612.466 (043.3)

THE SIGNIFICANCE OF DETERMINATION OF SYMMETRIC-L-DIMETHYLARGININE AND N-TERMINAL PRO B TYPE NATRIURETIC PEPTIDE IN CHRONIC KIDNEY DISEASE PATIENTS AND RENAL TRANSPLANT RECIPIENTS

The aim of the study was to explore the clinical usefulness of N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) and symmetric dimethyl-L-arginine (SDMA) for detection of renal, endothelial and left ventricular (LV) diastolic dysfunction in chronic kidney disease patients (CKD) and renal transplant recipients (RT).

We included 98 CKD and 52 RT recipients. The control group 88 (43 men and 45 women) consisted of healthy individuals with no history of cardiovascular and renal disease, matched to the patients according to age and gender. In our study, CKD patients have statistically higher levels of SDMA than RT patients ($p < 0.001$). NT-proBNP was also higher within CKD patients but without statistical significance. Correlation analysis between NT-proBNP, SDMA and other parameters of renal function shows significant association, especially GFR, albumin, urea, creatinin, age and duration of disease. We evaluated the changes of examined parameters according to left ventricular diastolic dysfunction which is assessed using pulsed-wave Doppler ultrasound. Diastolic dysfunction was defined when the E:A ratio was < 1 . In RT group, after adjusting for duration of disease NT-proBNP and SDMA concentrations in patients with diastolic dysfunction were significantly higher than the corresponding values in patient without diastolic dysfunction ($F = 7.478, P < 0.011$; $F = 2.631, p < 0.017$), but after adjustment for GFR, NT-proBNP and SDMA levels were not significantly different. In CKD patients adjusted NT-proBNP and SDMA values for GFR were nonsignificantly higher in patient with diastolic dysfunction than in patient without diastolic dysfunction.

To evaluate the effect of endothelial function on the examined parameters CKD and RT patients were stratified according to brachial artery flow-mediated dilation (FMD, endothelium-dependent). In CKD patients high sensitive C-reactive protein (hs-CRP), interleukin-6 (IL-6), serum amyloid - A (SAA) and SDMA were significantly higher in those with impaired FMD. Logistic regression analysis showed that high hs-CRP and SDMA were associated with impaired FMD in CKD and RT patients, after

adjustment for GFR. The ability of inflammation, SDMA and O_2^- to detect impaired FMD was investigated by ROC curve analysis. Only hs-CRP (AUC=0.754, $p<0.001$), IL-6 (AUC=0.699, $p=0.002$) and SDMA (AUC=0.689, $p=0.007$) significantly detected impaired FMD. For SDMA all combinations with inflammatory parameters and O_2^- increased discriminative ability of SDMA alone. This improvement in AUCs for all models was not higher than the AUC for hs-CRP alone.

NT-proBNP is useful for detection of left ventricular diastolic dysfunction in renal transplant recipients. In the evaluation of both NT-proBNP and SDMA concentrations, it is necessary to consider GFR as a confounding factor.

Our results indicate a strong predictable association between hs-CRP, IL-6, SDMA and endothelial dysfunction in CKD patients and RT recipients. The individual marker which showed the strongest discriminative ability for endothelial dysfunction is hs-CRP, but its usefulness as a discriminatory marker for efficient diagnosis of endothelial dysfunction should be examined in prospective studies.

Key words: chronic kidney disease, renal transplant, N-terminal pro B-type natriuretic peptide, symmetric dimethylarginine, hs-CRP, IL-6, diastolic dysfunction, endothelial dysfunction

Scientific field: Medical biochemistry

UDC number: 616.61-008 : 612.466 (043.3)
616.61-78 : 612.466 (043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Hronična bubrežna insuficijencija	1
1.2. Kardiorenalni sindrom	2
1.2.1. Patofiziološki mehanizmi hroničnog renokardijalnog sindroma.....	2
1.2.2. Bubrežni i srčani biomarkeri	4
1.3. Endotelna disfunkcija u hroničnoj bubrežnoj insuficijenciji	5
1.3.1. Simetrični dimetil-L-arginin (SDMA) kao biomarker endotelne i/ili bubrežne disfunkcije	6
1.4. Srčana disfunkcija u hroničnoj bubrežnoj insuficijenciji	8
1.4.1. N-terminalni fragment natrietskog propeptida B tipa (NT-proBNP) kao biomarker srčane disfunkcije.....	9
1.5. Hronična bubrežna insuficijencija i kardiovaskularna bolest kod bolesnika sa transplantiranim bubregom	12
2. MATERIJALI I METODE	15
2.1. Ispitanici.....	15
2.2. Kontrolna grupa	15
2.3. Uzorci.....	16
2.4. Određivanje biohemijskih parametara	16
2.5. Bubrežna funkcija	17
2.6. Endotelna funkcija	17
2.7. Ehokardiografija	18
2.8. Statistička analiza.....	18
3. CILJEVI	19
4. REZULTATI	20
4.1. Ispitivani parametri u kontrolnoj grupi.....	20
4.1.1. Razlika ispitivanih parametara u odnosu na pol u kontrolnoj grupi.....	21
4.1.2. Promena ispitivanih parametara u zavisnosti od godina u kontrolnoj grupi.....	23
4.1.3. Ispitivanje veze između renalnih, lipidnih i inflamatornih parametara sa koncentracijom NT-proBNP i SDMA u kontrolnoj grupi	27
4.1.3.1. Faktorska analiza za grupisanje varijabli u klastere i korelacija dobijenih faktora sa NT-proBNP i SDMA u kontrolnoj grupi.....	28
4.1.3.2. Predviđanje pojave visokih koncentracija NT-pro BNP i SDMA u kontrolnoj grupi	31
4.1.4. Zavisnost koncentracije NT-proBNP i SDMA od visine krvnog pritiska u kontrolnoj grupi	32
4.2. Poređenje vrednosti ispitivanih parametara između zdravih ispitanika, bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom	35
4.3. Poređenje ostalih ispitivanih parametara između bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom	37
4.4. Promena ispitivanih parametara u zavisnosti od godina kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom	38
4.4.1. Promena ispitivanih parametara u zavisnosti od godina kod bolesnika sa HBI.....	38
4.4.2. Promena ispitivanih parametara u zavisnosti od godina kod bolesnika sa transplantiranim bubregom	44
4.5. Ispitivanje veze između renalnih, lipidnih i inflamatornih parametara sa koncentracijom NT-proBNP i SDMA kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom	48

4.6. Promena ispitivanih parametara u odnosu na GFR kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom	49
4.7. Promena ispitivanih parametara u odnosu na dijastolnu funkciju kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom	52
4.8. Promena ispitivanih parametara u odnosu na endotelnu funkciju kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom	55
4.8.1. <i>Provera značajnosti ispitivanih parametara kao prediktora rizika za oštećenje endotelne funkcije</i>	58
4.8.2. <i>Provera značajnosti ispitivanih parametara kao detektora oštećenja endotelne funkcije</i>	59
5. DISKUSIJA	60
6. ZAKLJUČCI.....	75
7. LITERATURA.....	77

SKRAĆENICE

AOPP – proizvodi oksidacije proteina (engl. Advanced Oxidation Protein Products)
ATP III Guidelines – ATP III vodič dobre kliničke prakse (engl. Adult Treatment Panel III)
BNP – natriuretski peptid B-tipa, moždani natriuretski peptid (engl. brain natriuretic peptide)
HBI – hronična bubrežna insuficijencija
IgA – imunoglobulin A
GFR – brzina glomerularne filtracije
eGFR – procenjena brzina glomerularne filtracije (engl. estimated GFR)
KRS – kardiorrenalni sindrom
RKS – renokardijalni sindrom
KVB – kardiovaskularna bolest
ED – endotelna disfunkcija
IL-1 – interleukin-1
IL-6 – interleukin-6
IL-18 – interleukin-18
TNF- α – faktor nekroze tumora-alfa (engl. tumor necrosis factor-alpha)
CRP – C-reaktivni protein
hs-CRP – ultrasenzitivni C-reaktivni protein
LDL-h – LDL-holesterol
HDL-h – HDL-holesterol
ox LDL – oksidovani LDL
SAA – serumski amiloid-A
ADMA – asimetrični dimetil-L-arginin
SDMA – simetrični dimetil-L-arginin
tHcy – ukupni homocistein
Cys – cistein
Hcy-Cys – homocistin
O₂⁻ – superoksidni anjon
MPO – mijeloperoksidaza
PTX3 – pentraksin 3
VCAM – vaskularni ćelijski adhezioni molekul
HOMA – Homeostasis model assessment
SNPs – polimorfizam jednog nukleotida (engl. single nucleotide polymorphism)
DNA – deoksiribonukleinska kiselina
RNA – ribonukleinska kiselina
PO₄ – fosfat
Ca – kalcijum
PTH – paratireoidni hormon
fT₃ – slobodni trijodtironin
fT₄ – slobodni tiroksin
OPG – osteoprotegerin
OPN – osteopontin
ANP – atrijalni natriuretski peptid (engl. atrial natriuretic peptide)
NT-proBNP – N-terminalni fragment natriuretskog propeptida B tipa
Lp(a) – lipoprotein a
ED – endotelna disfunkcija

NO – azot monoksid
eNOS – endotelna izoforma enzima azot-oksida sintaza
cGMP – ciklični guanozin monofosfat
DDAH – dimetilaminohidrolaza
PRMT – protein arginin N-metiltransferaza
BMI – indeks telesne mase (engl. body mass index)
ELISA – imunoadsorpcioni enzimski test (engl. enzyme-linked immunosorbent assay)
ELFA – imuno-enzimski test sa finalnom fluorescentnom detekcijom (engl. enzyme-linked fluorescent assay)
HPLC – tečna hromatografija visoke osetljivosti
IDMS – izotopska diluciona masena spektrometrija
MDRD – Modification of Diet in Renal Disease studija
SOLVD – Studies of Left Ventricular Dysfunction studija
TRACE – Trandolapril Cardiac Evaluation studija
SAVE – Survival And Ventricular Enlargement studija
VALIANT – Valsartan in Acute Myocardial Infarction studija
PREVEND – The Prevention of Renal and Vascular End Stage Renal Disease studija
NBT – nitroplavo tetrazolijum
CLSI – Institut za kliničke i laboratorijske standarde (engl. Clinical and Laboratory Standards Institute)
CLSI document EP5-A2 – engl. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods, Approved Guideline –Second Edition
SRM – standardni referentni materijal (engl. Standard Reference Material)
VHS traka – video traka (engl. Video Home System)
FMD – protokom posredovana vazodilatacijabrahijalne arterije zavisna od endotela (engl. Flow Mediated Dilatation)
ANOVA – analiza varijanse
ANKOVA – analiza kovarijanse
ROC – engl. Receiver Operating Characteristic
AUC – površina ispod ROC krive (engl. Area under an ROC curve)
HTA – hipertenzija
KMO – Kaiser-Meyer-Olkin koeficijent
OR – odnos šansi (engl. Odds Ratio)
CI – interval pouzdanosti (engl. Confidence Interval)
RT – bolesnici sa transplantiranim bubregom
NADPH – nikotin amid adenin dinukleotid redukovani oblik
SOD – superoksid dismutaza
ROS – hemijski reaktivne molekule koje sadrže kiseonik (engl. Reactive Oxygen Species)
EKG – elektrokardiogram

1.UVOD

1.1.Hronična bubrežna insuficijencija

Hronična bubrežna insuficijencija (HBI) je sindrom koji nastaje kao posledica postepenog, progresivnog i ireverzibilnog smanjenja brzine glomerularne filtracije (GFR) sve do konačnog stadijuma uremije. Glavni uzroci hroničnog bubrežnog oboljenja su:

1. glomerulopatije
 - primarne: glomeruloskleroza, membranозна nefropatija, membranoproliferativni glomerulonefritis, IgA nefropatija
 - sekundarne: dijabetična nefropatija, nefropatija srpastih ćelija, vaskularna oboljenja, postinfektivne nefropatije
2. hereditarna oboljenja: policistična bolest bubrega
3. vaskularna oboljenja: hipertenzivna nefroskleroza, stenozna renalne arterije
4. tubulointersticijalni nefritis, hronični pijelonefritis, idiopatski, osetljivost na lekove, trovanje teškim metalima
5. opstruktivne nefropatije: nefrolitijaze, oboljenja prostate, urođene anomalije, tumori

Prema internacionalnoj klasifikaciji, HBI se na osnovu težine bolesti koja je procenjena preko GFR klasifikuje na pet stadijuma (tabela 1)(1,2).

Tabela 1.Stadijumi hronične bubrežne bolesti

Stadijum	Opis	GFR ml/min/1,73m ²
1	Oštećenje bubrega sa normalnom ili povišenom GFR	>90
2	Oštećenje bubrega sa blagim smanjenjem GFR	60 – 89
3	Oštećenje bubrega sa umerenim smanjenjem GFR	30 – 59
4	Oštećenje bubrega sa teškim smanjenjem GFR	15 – 29
5	Bubrežna insuficijencija	<15 ili dijaliza

Simptomi i znaci bolesti su nespecifični i razvijaju se postepeno. Rane faze bolesti su opisane stadijumima 1-3. Stadijume 1 i 2 karakterišu strukturalne abnormalnosti bubrega, prisustvo perzistentne proteinurije ili albuminurije ili hematurije. Stadijum 3 ili umereno oštećenje bubrega je definisano ako je vrednost GFR (30 – 59 ml/min/1,73m²) dobijena najmanje dva puta u minimalnom vremenskom intervalu od tri meseca (1). Prema Vodiču Nacionalne američke fondacije za bubrege, hronična bubrežna bolest je dijagnostikovana ukoliko je prisutno oštećenje bubrega u toku tri ili više meseci bez obzira na uzrok ili ukoliko je GFR <60 ml/min/1,73m²(2).

Brzina glomerularne filtracije (GFR) je najbolji indikator funkcije bubrega a određuje se merenjem urinarnog ili plazma klirensa egzogenih filtracionih markera (npr. inulina). Nažalost, zbog nepraktičnosti ove direktne metode nisu za rutinsku primenu i imaju ograničenu upotrebu. Preporuka je da se u laboratorijama kao dodatni parametar uz određivanje kreatinina izračunava i tzv. procenjena brzina glomerularne filtracije (engl. estimated GFR, eGFR) upotrebom različitih prediktivnih jednačina.

Transplantacija bubrega je terapija izbora u završnoj fazi bubrežne bolesti, kada dijaliza postane neophodna da bi se izbegao letalan ishod po bolesnika. Većina bolesnika sa transplantiranim bubregom i posle transplantacije boluje od HBI, a glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta kod transplantiranih bolesnika je kardiovaskularna bolest.

1.2. Kardiorenalni sindrom

Srce i bubrezi su organi koji zajedničkim delovanjem regulišu krvni pritisak, tonus krvnih sudova, diurezu, natriurezu, homeostazu elektrolita i vode kao i perfuziju perifernih tkiva. Kardiorenalni sindrom (KRS) je patofiziološki poremećaj funkcije srca i bubrega u kome akutna ili hronična disfunkcija jednog organa može da dovede do disfunkcije drugog organa. Postoji 5 podtipova KRS-a (tabela 2).

Tabela 2. Klasifikacija kardiorenalnog sindroma (Ronco C, et al. Cardiorenal syndrome. J Am Coll Cardiol 2008;52: 1527-1539).

TIP I – Akutni kardiorenalni sindrom
Naglo pogoršanje funkcije srca (akutni kardiogeni šok, dekompenzovana srčana slabost) koje dovodi do akutne disfunkcije bubrega.
TIP II – Hronični kardiorenalni sindrom
Hronični poremećaji srčane funkcije koji dovode do progresivne i trajne bubrežne bolesti.
TIP III – Akutni renokardijalni sindrom
Naglo pogoršanje funkcije bubrega (akutna ishemija) koje dovodi do akutnog poremećaja srca (srčani zastoj, aritmije, plućni edem).
TIP IV – Hronični renokardijalni sindrom
Hronična bubrežna insuficijencija koja pridonosi smanjenju srčane funkcije, hipertrofiji leve komore i povećava ukupni kardiovaskularni rizik.
TIP V – Sekundarni kardiorenalni sindrom
Sistemske bolesti (diabetes mellitus, sepsa) koje dovode do disfunkcije i bubrega i srca.

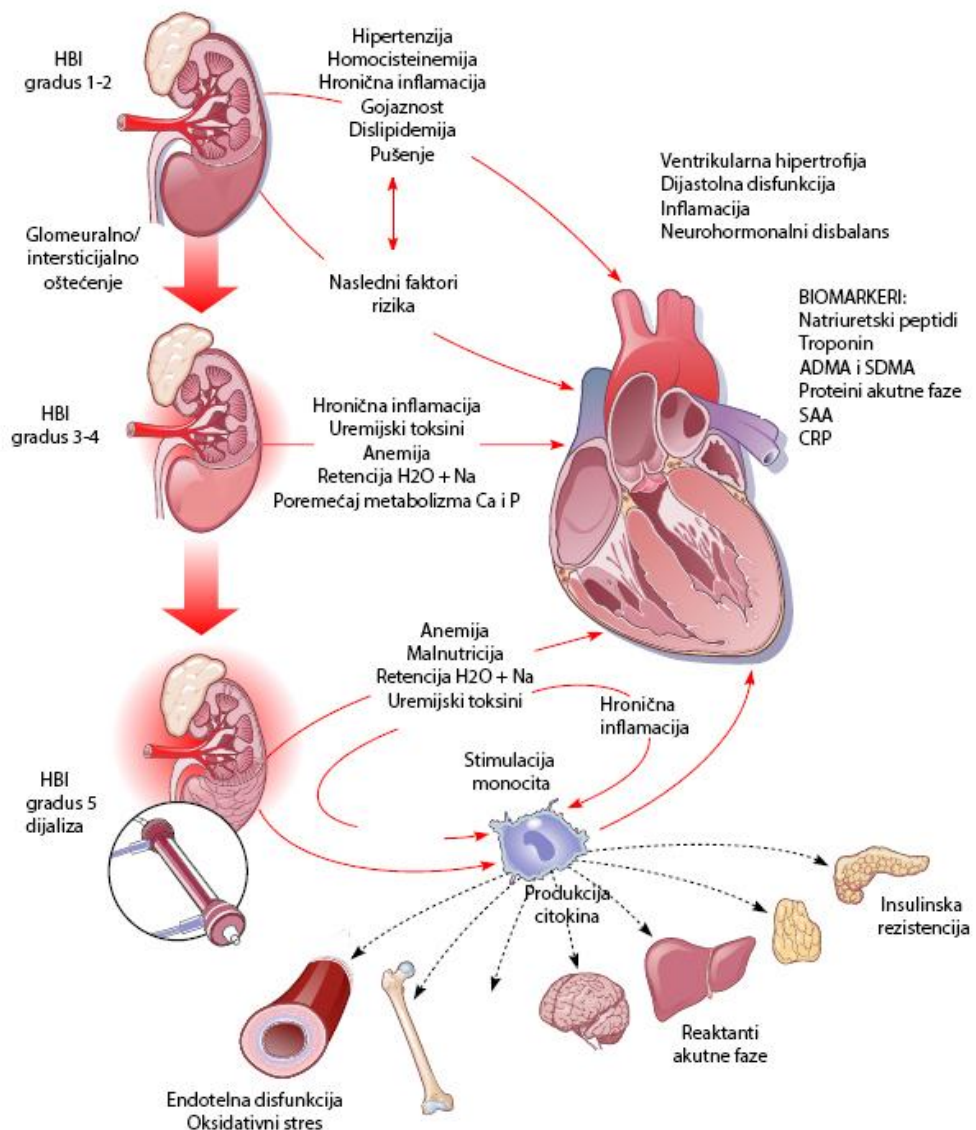
Smanjenje GFR je nezavisan faktor rizika za razvoj kardiovaskularne bolesti (3). Rizik za kardiovaskularnu bolest (KVB) se pojavljuje već pri vrednosti GFR oko 75 ml/min/1,73m² i progresivno raste sa smanjenjem bubrežne funkcije (4). Opservaciona studija je pratila obolele u ranoj fazi HBI u toku 5,5 godina i samo 3,1% obolelih je došlo do završne faze bolesti koja zahteva transplantaciju dok je 24,9% obolelih umrlo pre nego što je stiglo do dijalize (5). Bolesnici sa umerenim do teškim oblikom HBI imaju i povećan rizik da obole od hronične srčane insuficijencije a većina obolelih razvije i koronarnu srčanu bolest (6). Nacionalna američka fondacija za bubreg je dala preporuku da se svi oboleli sa HBI smatraju grupom sa najvećim rizikom za oboljevanje od kardiovaskularne bolesti, nezavisno od prisustva drugih tradicionalnih faktora rizika (2).

1.2.1. Patofiziološki mehanizmi hroničnog renokardijalnog sindroma

Po definiciji, hronični renokardijalni sindrom (RKS) (tip 4) je stanje u kome hronične abnormalnosti bubrežne funkcije dovode do srčane bolesti (7). Primarna hronična bubrežna bolest dovodi do slabljenja funkcije srca, hipertrofije leve komore,

dijastolne disfunkcije i povećanja ukupnog rizika od kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta (slika 1).

Važnu ulogu u patofiziologiji hroničnog RKS imaju mnogobrojni faktori rizika (8). Osim opšte poznatih, tradicionalnih faktora rizika (starost, muški pol, arterijska hipertenzija, dislipidemija, diabetes mellitus, gojaznost, pušenje, menopauza) svakim danom se otkrivaju novi, specifičniji faktori rizika (uremijski toksini, anemija, hiperkalcemija, hiperfosfatemija, neuhranjenost, upala, ateroskleroza) (tabela 3). Navedeni faktori rizika pojedinačno imaju različite patofiziološke uticaje pa je veoma teško otkriti i proceniti njihove međusobne interakcije.



Slika 1. Patofiziološki mehanizmi hroničnog renokardijalnog sindroma (modifikovano prema referenci Ronco C, et al. Cardiorenal syndrome. J Am Coll Cardiol 2008; 52: 1527-1539).

Hiperhomocistinemija, oksidativni stres, endotelna disfunkcija i hronična inflamacija su predmet intenzivnog proučavanja jer se smatra da je jedinstvena patofiziologija ovih faktora rizika najodgovornija za povećan rizik kardiovaskularnih komplikacija kod bubrežnih bolesnika kao što su infarkt miokarda, srčana insuficijencija i šlog.

Tabela 3. Tradicionalni i netradicionalni faktori rizika za nastanak kardiovaskularne bolesti kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom (Stenvinkel P, et al. *Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in the chronic kidney disease patient: how do new pieces fit into the uremic puzzle?* Clin J Am Soc Nephrol 2008; 3: 501-505).

Biomarkeri rizika	
Tradicionalni faktori rizika	
Starost	—
Muški pol	—
Hipertenzija	—
Hipertrofija leve komore	—
Pušenje	—
Diabetes mellitus	glukoza, HbA _{1c}
Dislipidemija	holesterol, trigliceridi, HDL-h, LDL-h, Lp(a)
Netradicionalni faktori rizika i uremijski toksini	
Inflamacija	IL-6, IL-18, CRP, s-albumin, SAA, fibrinogen, leukociti, MPO, PTX3
Oksidativni stres	MPO, oxLDL, plazmalogeni, AOPP
Endotelna disfunkcija	ADMA, SDMA, tHcy, VCAM
Neuhranjenost (malnutricija)	s-albumin, s-kreatinin, prealbumin
Poremećaji koagulacije/fibrinolize	fibrinogen
Insulinska rezistencija	HOMA
Genetika	SNPs, DNA-metilacija
Vaskularna kalcifikacija	PO ₄ , Ca, PTH, fetuin-A, OPG, OPN
Preopterećenje volumenom	NT-proBNP, troponin-T
Subklinički hipotireoidizam	fT ₃ , T ₃
Adipokini	leptin, visfatin, adiponektin
Anemija	hemoglobin
Simpatička aktivacija	norepinefrin
Klasični uremijski toksini	s-kreatinin, p-krezol
Novi uremijski toksini	proteomici

1.2.2. Bubrežni i srčani biomarkeri

Određivanje serumskog kreatinina je najčešće korišćen laboratorijski test za procenu bubrežne funkcije. Međutim, do njegovog porasta u krvi dolazi kada je već 50% glomerularne funkcije izgubljeno što ga čini nepodobnim za rano dijagnostikovanje bubrežne bolesti. Studije SOLVD (Studies of Left Ventricular Dysfunction), TRACE (Trandolapril Cardiac Evaluation), SAVE (Survival And

Ventricular Enlargement) i VALIANT (Valsartan in Acute Myocardial Infarction) su pokazale da je kod osoba sa bazalnom vrednošću kreatinina $\leq 221 \mu\text{mol/L}$, redukovana bubrežna funkcija značajno udružena sa povećanim mortalitetom i kardiovaskularnim komplikacijama (9).

Zbog toga se intenzivno traga za novim bubrežnim i srčanim markerima koji bi omogućili ranu dijagnostiku KRS-a. Rana dijagnoza bubrežne i srčane disfunkcije kod ovih bolesnika je od izuzetnog značaja jer su oštećenja ovih organa ireverzibilna što dovodi do potrebe za transplantacijom i smrtnog ishoda. Zbog međusobnog preklapanja bubrežne i srčane disfunkcije, bubrežni i srčani biomarkeri se često određuju paralelno kao deo zajedničkog dijagnostičkog profila.

Cilj njihovog određivanja je:

1. definisanje dijagnostičkog značaja u akutnim i hroničnim stanjima
2. rana dijagnoza bubrežne i srčane disfunkcije
3. dopunjavanje sa ostalim dijagnostičkim metodama
4. definisanje bolesnika visokog rizika za oboljevanje od HBI i KVB
5. praćenje efekta terapije

Osim bubrežnih i srčanih biomarkera, od naročitog interesa je i ispitivanje endotelni biomarkera. Centralna uloga endotela u nastanku i razvoju vaskularne bolesti i ateroskleroze dovela je do otkrića novih bioloških markera za procenu endotelne disfunkcije. Troponini T i I, asimetrični dimetil-L-arginin (ADMA), homocistein, natriuretski peptidi (BNP i NT-proBNP), C-reaktivni protein (CRP) i serumski amiloid-A (SAA) su biomarkeri čiji je nivo u krvi dokazano u korelaciji sa kardiovaskularnim ishodom kod bolesnika sa HBI (8, 10).

1.3. Endotelna disfunkcija u hroničnoj bubrežnoj insuficijenciji

Endotel je najveći organ u telu koji je strateški lociran između zida krvnog suda i samog krvnog toka. Ljudsko telo sadrži oko 10^{13} endotelni ćelija koje zauzimaju površinu od 4000 do 7000 m^2 . Pošto su i srce i bubrezi bogati endotelom realno je očekivati da disfunkcija jednog organa dovodi do oštećenja drugog organa i obrnuto. Razni faktori rizika mogu da oštete endotelne ćelije što za posledicu ima pojavu različitih kliničkih stanja kao što su tromboza, hipertenzija, ateroskleroza, bubrežna insuficijencija. Takođe, smatra se da je oštećenje endotela odgovorno za ubrzanu aterosklerozu kod hroničnih bubrežnih bolesnika. Tradicionalni faktori rizika ne mogu da objasne visoku prevalencu i incidencu KVB kod hroničnih bubrežnih bolesnika. Zato se intenzivno proučavaju novi, netradicionalni faktori rizika kao što su endotelna disfunkcija, oksidativni stres i inflamacija. Međusobna interakcija između ovih faktora rizika je predmet intenzivnog naučnog istraživanja (11).

Kardiovaskularni faktori rizika kao što je hipertenzija mogu da izazovu ne samo endotelnu disfunkciju već i njegovu dezintegraciju što finalno dovodi do nestajanja malih krvnih sudova i tkivne hipoksije. Kod bolesnika sa HBI, oštećenje endotela kapilarnog sistema bubrežne medule i prateća vaskularna rarefakcija predstavljaju glavne procese koji dovode do progresivnog oštećenja bubrega (12).

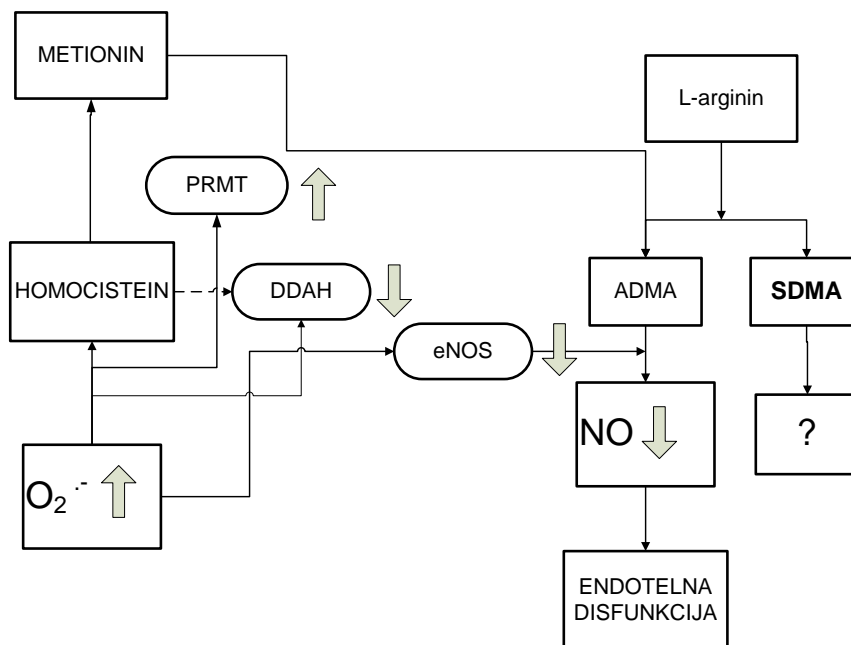
Poremećaj endotela započinje lokalizovanom, mehaničkom povredom intime koja se pod uticajem mehaničkih nadražaja i bioloških medijatora razvija do neprimerene, trajne i globalne aktivacije endotela. „Zdrava” endotelna ćelija ima

vazodilatatornu, antikoagulantnu, antitrombotsku, antiinflamatornu, antiaterogenu i antiproliferativnu ulogu. Za razliku od zdrave, „oštećena” tj. aktivirana endotelna ćelija podstiče vazokonstriktorne, prokoagulantne, protrombotske, proinflamatorne, proaterogene i proliferacione procese. Zbog toga se pod nazivom endotelna disfunkcija (ED) podrazumeva trajna, neadekvatna endotelna aktivacija (11).

ED je uključena u patogenezu i klinički tok svih poznatih kardiovaskularnih bolesti a udružena je i sa rizikom budućeg nepovoljnog ishoda kardiovaskularne bolesti (13). Izmenjena endotel-zavisna vazodilatacija aterosklerotičnih koronarnih arterija izazvaće paradoksalnu vazokonstrikciju koja redukuje perfuziju miokarda i dovodi do ishemije miokarda. Takođe, endotelna disfunkcija aktivno menja strukturu plaka koji postaje nestabilan, povećava se mogućnost rupture plaka i razvoja akutnih koronarnih sindroma (14).

1.3.1. Simetrični dimetil-L-arginin (SDMA) kao biomarker endotelne i/ili bubrežne disfunkcije

Endotelne ćelije poseduju različite mehaničke, metaboličke i sintetske funkcije. Jedan od najvažnijih sintetskih produkata je endotelni azot monoksid (NO), prvobitno nazvan „endotelni relaksirajući faktor” zbog vazodilatatornog dejstva na glatku muskulaturu krvnih sudova. Nadražaj endotelne ćelije podstiče ulazak jona kalcijuma u ćeliju koji aktiviraju endotelnu izoformu enzima azot-oksida sintaze (eNOS). NO nastaje iz supstrata L-arginina uz oslobađanje citrulina u reakciji koju katalizuje eNOS.

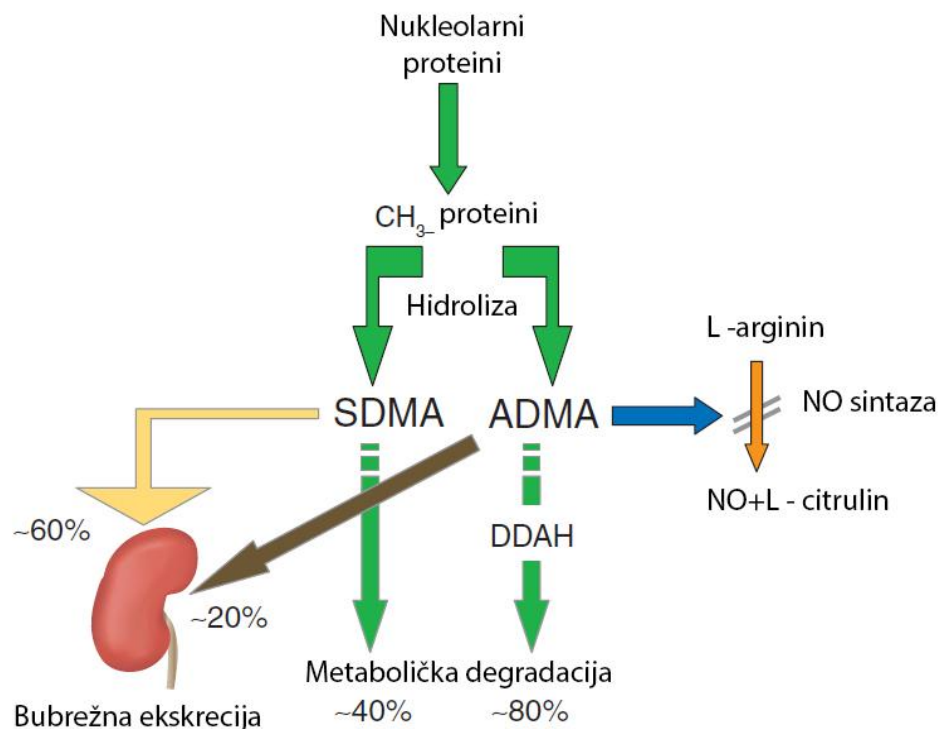


Slika 2. Šematski prikaz interakcije metaboličkih puteva homocisteina, superoksidnog anjona i dimetilarginina (modifikovano prema referenci Sydow K, et al. Endothelial dysfunction in patients with peripheral arterial disease and chronic hyperhomocysteinemia: potential role of ADMA. Vasc Med 2004; 9: 93-101).

Nastali NO difunduje u okolne mišićne ćelije i aktivira ciklični guanozin monofosfat (cGMP) čijim posredstvom dolazi do naglog pada koncentracije kalcijuma i

posledične vazodilatacije glatkih mišića u zidu krvnog suda (11). Sa druge strane, amino-kiselina metionin se metaboliše do homocisteina preko demetilacionog puta. Finalni produkt ovog puta je ADMA koji deluje kao snažan inhibitor sinteze NO (slika 2). Povećana koncentracija ADMA limitira intracelularnu raspoloživost supstrata L-arginina ili inhibira sam enzim eNOS (15). Dodatno, nastali homocistein posreduje u stvaranju superoksidnog anjona (O_2^-) koji reaguje sa NO i stvara veoma reaktivan peroksinitrit. Peroksinitrit kao snažan oksidans oštećuje veliki broj različitih tkiva i organa. Takođe, O_2^- povećava koncentraciju ADMA tako što utiče na aktivnost enzima protein arginin N-metiltransferaze (PRMT) koji sintetiše ADMA i enzima dimetilaminohidrolaze (DDAH) koji metaboliše ADMA (slika 2).

Uporedo sa nastankom ADMA, stvara se i njegov inaktivni stereoizomer simetrični dimetilarginin (SDMA) za koji je nedavno dokazano da predstavlja novi kardiovaskularni faktor rizika. Asimetrični dimetilarginin (ADMA) i simetrični dimetilarginin (SDMA) se kontinuirano stvaraju u organizmu na samo putem metabolizma metionina već u toku normalnog proteinskog ciklusa (turnover-a). Glavni izvor ovih metilarginina su nukleolarni proteini (slika 3). Protein arginin metiltransferaze (PRMTs) metiluju ove proteine a ADMA i SDMA zatim nastaju putem hidrolize. Bubrezi imaju ključnu ulogu u regulaciji novoa metilarginina u krvi. Najveći deo nastalog ADMA (80%) metaboliše bubrežni enzim dimetilarginin dimetilaminohidrolaza (DDAH) i to je glavni regulatorni mehanizam koncentracije ADMA u krvi dok se preostalih 20% izlučuje putem bubrega. Za razliku od ADMA, SDMA se ne metaboliše putem DDAH već se potpuno izlučuje putem bubrega (16, 17).



Slika 3. Metabolizam dimetilarginina SDMA i ADMA (modifikovano prema referenci Zoccali C. *Asymmetric dimethylarginine in end-stage renal disease patients: a biomarker modifiable by calcium blockade and angiotensin II antagonism?* *Kidney Int* 2006; 70: 2053-2055).

Vallance i saradnici su prvi objavili da su vrednosti ADMA i SDMA povećane kod bolesnika u završnoj fazi bubrežne bolesti (18). Sve je veći broj dokaza da povećanje nivoa ADMA dovodi do kardiovaskularnih poremećaja kod bolesnika sa HBI (19). Štaviše, povećana vrednost ADMA je udružena sa povećanjem morbiditeta, mortaliteta i pogoršanjem funkcije grafta kod bolesnika sa transplantiranim bubregom (20). Ipak, uloga SDMA je još uvek nejasna i predmet je naučnog istraživanja. SDMA najverovatnije deluje kao kompetitivni inhibitor transporta arginina kroz ćelijske membrane (21). Sve je više dokaza koji ukazuju na neophodnost uključivanja procene endotelne funkcije kao dijagnostičke metode. Za procenu endotelne disfunkcije neophodno je definisati set reprezentativnih biomarkera koji bi bili u mogućnosti da detektuju različite funkcionalne aspekte ovog složenog patološkog stanja. Takođe, potrebno je pronaći i adekvatne laboratorijske metode za rutinsku analizu endotelnog statusa.

1.4. Srčana disfunkcija u hroničnoj bubrežnoj insuficijenci

Uprkos napretku u razumevanju osnovnih patofizioloških mehanizama koji povezuju funkcije srca i bubrega, veza između hronične bubrežne insuficijencije i kardiovaskularne bolesti je kompleksna i još uvek nedovoljno istražena. Kardiovaskularna bolest je glavni uzrok smrtnosti kod pacijenata u terminalnoj fazi bubrežne bolesti i veća je verovatnoća da će takav pacijent umreti od kardiovaskularne bolesti nego što će dočekati dijalizu.

Najvažniji etiološki faktori koji dovode do hipertrofije leve komore kod bubrežnih bolesnika su hipertenzija, anemija i akutni koronarni sindrom. Kardiovaskularna bolest kod bubrežnih bolesnika je česta i letalna iz više razloga. Pre svega, uremija per se je jedno proinflamatorno stanje i dokazano je da se aterosklerotski plakovi stvaraju mnogo brže u jednom uremičnom okruženju tako da nastaju praktično na samom početku bubrežne bolesti. Uremično srce je manje tolerantno na ishemiju i zbog izmenjenog srčanog metabolizma abnormalno reaguje na stanje ishemije čime se objašnjava visoka smrtnost uremičnih pacijenata posle infarkta miokarda.

Na osnovu dosadašnjih saznanja, u osnovi oba oboljenja važnu ulogu igra disfunkcija endotela. Zbog smanjene endotel zavisne vazodilatacije koronarnih arterija smanjuje se i perfuzija miokarda što slabi funkciju komora. Sa druge strane, smanjena vazodilatacija perifernih arterija dovodi do povećanja sistemskog vaskularnog otpora a to za posledicu ima povećanje otpora pražnjenju leve komore. Pošto je pražnjenje leve komore otežano, na kraju dijastole raste volumen krvi u levoj komori kao i njeno volumno opterećenje.

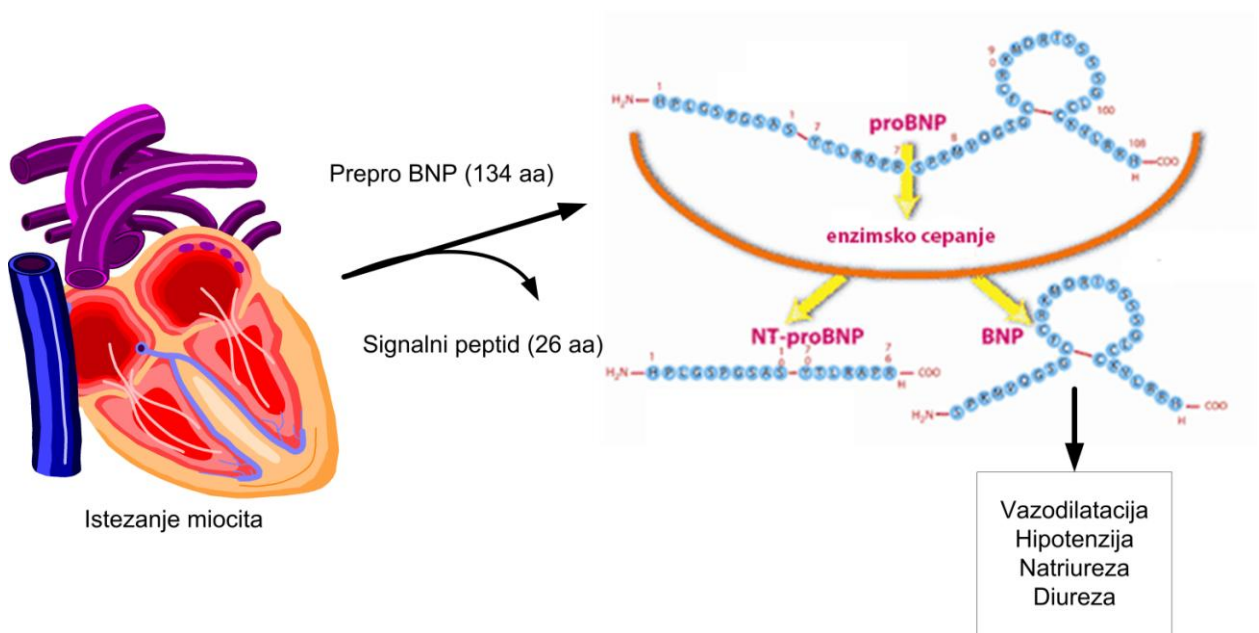
Ovo povećanje rezidualne zapremine krvi na kraju dijastole u levoj komori je prvi znak otpočinjanja srčane insuficijencije. Usled preopterećenja zapreminom krvi ili krvnim pritiskom dolazi do smanjenja kontraktilnosti miokarda i do odgovarajućeg adaptivnog odgovora miokarda što će kao krajnji ishod imati nastanak srčane insuficijencije.

Mnogi markeri srčane disfunkcije su istovremeno i prediktori progresije HBI. Pravi primer za to su natriuretski peptidi kao što su fiziološki aktivni natriuretski peptid B-tipa (BNP) i fiziološki inaktivni N-terminalni fragment natriuretskog propeptida B tipa (NT-proBNP) (22). Značaj određivanja natriuretskih peptida kod bubrežnih bolesnika još uvek je nejasan.

1.4.1. N-terminalni fragment natrijetskog propeptida B tipa (NT-proBNP) kao biomarker srčane disfunkcije

Atrijalni natriuretski peptid (ANP) i BNP su strukturno slični ali genetski različiti srčani hormoni koji igraju važnu ulogu u kardiovaskularnoj homeostazi. Kao hormoni, natriuretski peptidi izazivaju natriurezu, vazodilataciju i inhibiciju sistema renin-angiotenzin-aldosteron. Takođe, ispoljavaju antimitogeni efekat na miocite, endotelne i glatke mišićne ćelije (23). ANP se generalno smatra atrijalnim hormonom dok je BNP predominantno ventrikularni hormon.

Srčani natriuretski peptid B-tipa je prvi put izolovan iz mozga svinje (eng. brain) i otuda potiče njegovo ime mada je glavno mesto sinteze srce. PreproBNP se sintetiše u miocitu i zatim se prevodi u prekursorski molekul proBNP uz otkidanje signalnog peptida od 24 amino-kiseline. ProBNP se zatim enzimski cepa na fiziološki aktivni hormon BNP i fiziološki neaktivni NT-proBNP i ova dva peptida se oslobađaju u cirkulaciju na pulsatilni način kroz koronarne sinuse. Oslobođeni hormon ispoljava svoje biološko dejstvo vezivanjem za specifične receptore u krvnim sudovima i bubrezima. BNP kontroliše homeostazu tečnosti i elektrolita putem interakcije sa sistemom renin-angiotenzin-aldosteron (vazodilatacija, hipotenzija, natriureza i diureza) (slika 4).



Slika 4. Biosinteza natriuretskih peptida (modifikovano prema referenci Mueller C, et al. The integration of BNP and NT-proBNP into clinical medicine. Swiss Med Wkly 2007; 137:4-12).

Mehanizmi odgovorni za sintezu i oslobađanje BNP-a i njemu srodnih peptida u fiziološkim i patofiziološkim stanjima su veoma kompleksni. Oni uključuju mehaničke, hemijske, neurohormonalne i imunološke faktore. Glavni stimulan za lučenje natriuretskih peptida B-tipa je istežanje miocita komora do koga dolazi usled povećanja rezidualnog volumena krvi u komorama i hemodinamskog stresa.

Na osnovu dosadašnjih saznanja, postoji veliki broj snažnih stimulatora sinteze i/ili sekrecije BNP-a i drugih natriuretskih peptida. Neki od njih su: glukokortikoidi, faktori rasta, neki hormoni i citokini (IL-1, IL-6, TNF- α). Razumevanje veze između srčane kontraktilne i endokrine funkcije i drugih regulatornih mehanizama je ključno za interpretaciju dobijenih vrednosti natriuretskih peptida, naročito BNP-a i NT-proBNP-a (24).

BNP se metaboliše enzimski preko neutral endopeptidaze (~30%) i putem receptorski regulisane endocitoze (~70%) koja se predominantno odigrava u bubrezima. Klirens NT-proBNP zavisi isključivo od glomerularne filtracije sa nekompletnom resorpcijom što rezultuje značajnom količinom NT-proBNP prisutnom u urinu (25).

Određivanje koncentracije NT-proBNP je koristan dijagnostički i prognostički marker za kongestivnu srčanu bolest i sistolnu disfunkciju leve komore i već je našao primenu u rutinskoj praksi (26). Dijastolna disfunkcija je znak hipertrofije leve komore što je česta pojava kod bubrežnih bolesnika. Tradicionalno, dijastolna disfunkcija se procenjuje ehokardiografijom. Ipak, novije studije ukazuju da bi BNP mogao da bude sub-optimalni marker za detekciju dijastolne disfunkcije (27). BNP i NT-proBNP su nezavisni prediktori povećanog end-dijastolnog pritiska leve komore i bolji su markeri od neuropeptida A-tipa za procenu mortaliteta kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom (28).

Većina publikovanih studija do sada bavila se kliničkom aplikacijom BNP i njegovom korelacijom sa sistolnom i dijastolnom funkcijom leve komore. Nažalost, nedovoljno je literaturnih podataka koji povezuju NT-proBNP i dijastolnu disfunkciju, naročito kod bubrežnih bolesnika. U objavljenim radovima uglavnom je proučavana veza između sistolne disfunkcije i NT-proBNP ali pošto dijastolna disfunkcija nastaje pre sistolne nas je u ovoj studiji zanimalo da li do povećanja koncentracije NT-proBNP dolazi na samom početku srčane insuficijencije.

Malo je metaboličkih i patofizioloških informacija dostupno o molekuli NT-proBNP. Literaturni podaci ukazuju da je NT-proBNP koristan za dijagnostikovanje i procenu težine srčane insuficijencije, prediktor je naprasne smrti i smrti kao posledice akutnog koronarnog sindroma (29). Biološke razlike između natriuretskih peptida uslovljavaju njihovu specifičnu kliničku primenu (tabela 4). U poređenju sa BNP, NT-proBNP ima određene značajne prednosti kao srčani biomarker. Pre svega, NT-proBNP postiže više vrednosti u cirkulaciji u odnosu na BNP, ima duži poluživot i sporiju degradaciju u in vivo i in vitro uslovima (30). Poluživot NT-proBNP je 120 minuta što znači da se značajne hemodinamske promene mogu detektovati na svakih 12 sati. Dijagnostički cut-off za NT-proBNP zavisi od starosti pacijenta i naglo raste posle 75 godine života. Neki autori smatraju da bi kod bubrežnih bolesnika ovaj dijagnostički cutoff trebalo da bude još i viši. Jaka korelacija između koncentracije NT-proBNP i bubrežne funkcije ukazuje da je NT-proBNP potencijalno sveobuhvatni biomarker kardiorrenalne funkcije. Takođe, ne dolazi do promene vrednosti NT-proBNP pre i posle hemodijalize (31).

Tabela 4. Biološke razlike između natriuretskih peptida BNP i NT-proBNP (Mc Cullough PA, et al. Sorting out the evidence on natriuretic peptides. Rev Cardiovasc Med. 2003; 4[Suppl 4]: S13-S19); Mc Cullough PA. Clinical utility of blood natriuretic peptide levels. Business briefing: US Kardiology 2006).

Značajne razlike između natriuretskih peptida B-tipa		
Karakteristike	BNP	NT-proBNP
Struktura	BNP molekula	NT fragment (1-76) NT-proBNP (1-108)
Molekulska masa	3,5 kd	8,5 kd
Hormonska aktivnost	fiziološki aktivan	fiziološki neaktivan
Geneza	cepanje od NT-proBNP	oslobađanje iz ventrikularnih miocita
Poluživot	22 min	120 min
Mehanizam klirensa	neutral endopeptidaza klirens receptori	bubrežni klirens
Korelacija sa eGFR	- 0,20	-0,60
Porast koncentracije sa starenjem	+	++++
Granična vrednost za dijagnostikovanje srčane insuficijencije	100 pg/ml	<75 god: 125 pg/ml ≥75 god: 450 pg/ml
Stabilnost na sobnoj t ⁰	4 sata	72 sata

1.5. Hronična bubrežna insuficijencija i kardiovaskularna bolest kod bolesnika sa transplantiranim bubregom

Transplantacija bubrega predstavlja poslednji korak u završnoj fazi bubrežne bolesti koji produžava i poboljšava kvalitet života obolelima od hronične bubrežne insuficijencije (32). Nažalost, većina bolesnika sa transplantiranim bubregom i dalje ima HBI koja se manifestuje kao oštećenje bubrega ili $GFR < 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ duže od tri meseca. Glavni uzroci HBI kod ovih bolesnika su:

1. hronična alograft nefropatija (hronično odbacivanje kalema)
2. nefrotoksičnost imunosupresivnih lekova (ciklosporin i takrolimus)
3. recidiv bolesti
4. stenoza renalne arterije (hipertenzija)
5. transplant glomerulopatija

Kardiovaskularna bolest je glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta posle transplantacije bubrega. Visoka prevalenca kardiovaskularnih komplikacija se objašnjava prisustvom tradicionalnih faktora rizika prisutnih pre transplantacije kao i pojavom novih faktora posle transplantacije koji dodatno pogoršavaju već postojeće stanje bolesti. Narastajući broj novih, potencijalno značajnih faktora doprinosi progresiji i bubrežne i kardiovaskularne bolesti. Takođe, kod ovih bolesnika postoje dodatni, specifični faktori rizika kao što su disfunkcija i odbacivanje kalema, anemija i toksičnost imunosupresivnih lekova. Zbog svega navedenog, bolesnici sa transplantiranim bubregom spadaju u grupu sa najvećim rizikom za oboljevanje od KVB. Ovi bolesnici imaju 10 puta veću verovatnoću od kardiovaskularnog mortaliteta i

50 puta veću verovatnoću od nefatalnog kardiovaskularnog morbiditeta na godišnjem nivou u poređenju sa opštom populacijom (32).

Tabela 5. Kardiovaskularni faktori rizika kod bolesnika sa transplantiranim bubregom (Kieberd BA. Cardiovascular disease in kidney transplant recipients. Adv Stud Med 2007; 7: 169-178).

Tradicionalni faktori rizika ATP III Guidelines
<ul style="list-style-type: none"> • Pušenje • Hipertenzija (krvni pritisak >140/90 mmHg ili antihipertenzivna terapija) • Visok LDL holesterol (>159mg/mL) • Nizak HDL holesterol (<40mg/mL) • Porodična istorija • Starost (45 godina za muškarce i 55 godina za žene) • Diabetes
Predisponirajući faktori rizika
<ul style="list-style-type: none"> • Gojaznost (BMI >30 kg/m²) • Abdominalna gojaznost (obim struka >102 cm za muškarce i >88 cm za žene) • Fizička inaktivnost • Porodična istorija • Etničke karakteristike • Psihosocijalni faktori
Netradicionalni biomarkeri
<ul style="list-style-type: none"> • Povećani serumski trigliceridi • Male LDL partikule • Povećani serumski homocistein • Povećani serumski Lp(a) • Protrombotički faktori (fibrinogen) • Inflamatorni markeri (CRP, IL-6,) • BNP, NT-proBNP • Aldosteron
Faktori rizika udruženi sa HBI ili transplantiranim bubregom
<ul style="list-style-type: none"> • Imunosupresivni lekovi • Odbacivanje kalema • Disfunkcija kalema • Anemija

Iako transplantacija značajno popravlja uremiju, strukturne promene i narušena mehanička svojstva arterijskog zida perzistiraju i posle transplantacije (33). Ipak, endotelna funkcija je bolja kod bolesnika sa transplantiranim bubregom nego kod bolesnika na dijalizi (34). Poremećena endotelna funkcija je najizraženija kod bolesnika sa odbacivanjem kalema, što ukazuje da je nefunkcionalan kalem odgovoran za ove abnormalnosti (35).

Dijagnostičke metode kao što su analiza urina, albuminurija i imaging metode nisu dovoljno osjetljive za detekciju tubulointersticijalnog ili vaskularnog oštećenja tipičnog za hroničnu alograft nefropatiju. Pošto ne postoje adekvatni biomarkeri koji bi detektovali rano odbacivanje kalema kada je GFR još uvek $>60\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$, ovi bolesnici se greškom klasifikuju kao bolesnici bez HBI (36). Zbog toga je neophodno naći markere ranog oštećenja bubrega kako bi se blagovremeno otkrili bolesnici sa transplantiranim bubregom koji imaju povećan rizik da obole od HBI. Takođe, neophodno je ispitati biomarkere srčanog oštećenja kako bi se blagovremeno otkrili bolesnici sa velikim rizikom da obole i od srčane insuficijencije.

2. MATERIJALI I METODE

2.1. Ispitanici

Grupu ispitanika činilo je 98 osoba obolelih od hronične bubrežne insuficijencije, stadijum 2–5, koji ne zahtevaju dijalizu (HBI) i 44 osobe koje imaju transplantirani bubreg najmanje 6 meseci (RT). Bolesnici su bili starosti od 21 do 77 godina. Kadaveričnu transplantaciju je imalo 10 bolesnika dok su 34 bolesnika primili bubreg od živog srodnika. Prosečan vremenski period protekao od momenta transplantacije bio je $9,56 \pm 5,27$ godina. Svi ispitanici su lečeni u Klinici za nefrologiju Kliničkog centra Srbije. Svi ispitanici, bolesnici i kontrole, su dali anamnestičke podatke iz standardnog upitnika koji su uključivali: pol, godine, visinu, težinu, krvni pritisak, trajanje bubrežne bolesti, postojanje faktora rizika koji uključuju pušenje, arterijsku hipertenziju, diabetes mellitus, istoriju infarkta miokarda, angine pektoris, moždanog udara i srčane insuficijencije.

Arterijska hipertenzija je dijagnostikovana ako je sistolni pritisak ≥ 140 mmHg i/ili dijastolni pritisak ≥ 90 mmHg, ili ako je ispitanik uzimao antihipertenzivne lekove. Iz studije su isključeni dijabetičari i bolesnici sa kliničkim dokazom akutne inflamacije. Primarno bubrežno oboljenje kod ispitanika bilo je: hronični glomerulonefritis (n=28 kod RT i n=33 kod HBI), hronični pijelonefritis i kongenitalne anomalije urinarnog trakta (n=5 kod RT i n=8 kod HBI), nefroskleroza (n=2 kod RT i n=28 kod HBI), policistično oboljenje bubrega (n=2 kod RT i n=12 kod HBI), ostalo (n=0 kod RT i n=17 kod HBI) i nepoznato (n=7 kod RT i n=0 kod HBI). Bolesnici u RT grupi su prema protokolu primali imunosupresivnu terapiju koja je uključivala kalcineurinske inhibitore (ciklosporin ili takrolimus), mikofenolnu kiselinu ili azatioprin i prednizolon. U HBI grupi, bolesnici primarno oboleli od glomerulonefritisa primali su kortikosteroide ili drugu imunosupresivnu terapiju prema odgovarajućem protokolu.

2.2. Kontrolna grupa

Pošto je ovaj rad zamišljen kao case-control studija, svi ispitanici su prema polu i godinama upareni sa 88 osoba koje su činile kontrolnu grupu. Kontrolna grupa je formirana odabirom osoba oba pola, 45 žena i 43 muškarca, kod kojih na sistematskom pregledu nisu konstatovani znaci bubrežne i kardiovaskularne bolesti. Ispitanici u kontrolnoj grupi su bili starosti od 22 do 69 godina.

Studija je u skladu sa etičkim načelima Helsinške deklaracije i načelima Etičkog komiteta Farmaceutskog fakulteta u Beogradu. Svi ispitanici su dali pismeni pristanak za učestvovanje u ovoj studiji.

2.3. Uzorci

Od bolesnika uzorci su uzeti pre izvođenja ehokardiografije i merenja endotelne funkcije a posle dvanaestočasovnog noćnog gladovanja. Od kontrolne grupe uzorci su uzeti u jutarnjim časovima, takođe posle dvanaestočasovnog noćnog gladovanja. Venepunkcija je izvedena u sedećem položaju. Ispitanicima je uzeta venska krv u vakutajner epruvete sa separacionim gelom i Na-citratom.

U serumu su određene koncentracije SDMA, NT-proBNP, kreatinina, uree, mokraćne kiseline, albumina, ukupnog holesterola, HDL-holesterola (HDL-h), LDL-holesterola (LDL-h), triglicerida, ukupnog homocisteina (tHcy), ultra-senzitivnog CRP-a (hs-CRP), interleukina-6 (IL-6), i serumskog amiloida-A (SAA). U citratnoj plazmi određena je koncentracija fibrinogena. Određivanje superoksidnog anjona ($O_2^{\cdot-}$) izvršeno je u citriranoj plazmi odmah po uzimanju i centrifugiranju uzorka u trajanju od 10 minuta na $1500 \times g$ i $+4^{\circ}C$. Serum za određivanje SDMA, NT-proBNP, IL-6 i tHcy je odvojen od krvnih ćelija u roku od jednog sata a uzorci su zatim podeljeni na alikvote od $200 \mu l$ i čuvani su u zamrzivaču na $-70^{\circ}C$ do izvođenja analize. Ostali parametri su određeni istog dana kada je izvršeno uzimanje uzorka.

2.4. Određivanje biohemijjskih parametara

1. Određivanje koncentracije SDMA je izvršeno ELISA metodom firme DLD Diagnostica GMBH (Hamburg, Nemačka). Referentne vrednosti za ovu metodu su $0,3 - 0,7 \mu mol/L$.
2. Koncentracija NT-proBNP je određena ELFA metodom firme bioMerieux na imunochemijskom analizatoru Vidas (Lion, Francuska). Princip testa je imunoenzimska sendvič metoda sa finalnom fluorescentnom detekcijom. U testu se koriste dva poliklonalna antitela. Analitičke karakteristike testa su određene od strane proizvođača uz korišćenje protokola zasnovanog na preporukama CLSI EP5-A2 dokumenta. Funkcionalna osetljivost i 20% CV između serija je manji od $50 ng/L$. Reproducibilnost između lotova iznosi: 5,4% za koncentraciju $116,9 ng/L$ i 3,5% za koncentraciju $1066,6 ng/L$. Metoda je sledljiva prema Elecsys Roshe metodi (koeficijent korelacije: 0,99). Za pacijente starosti <75 godina, granična vrednost (cut-off) NT-proBNP za isključivanje srčane insuficijencije iznosi $125 ng/L$ za zdravu populaciju.
3. Koncentracija troponina I je određena ELFA metodom firme bioMerieux na imunochemijskom analizatoru Vidas (Lion, Francuska).
4. Kreatinin, urea, mokraćna kiselina, albumin i lipidi su analizirani standardnim metodama sa Olympus System reagensima na biochemijskom analizatoru Olympus AU 2700 (Hamburg, Nemačka).
5. Koncentracije SAA i hs-CRP su određene imunonefelometrijskim testovima firme Dade-Behring na analizatoru BN II (Marburg, Nemačka).
6. Koncentracija IL-6 je izmerena ultra-senzitivnom kolorimetrijskom sendvič ELISA metodom (Human IL-6 Quantikine HS ELISA kit, R&D Systems, GmbH, Nemačka).
7. Ukupni homocistein (tHcy) je određen tečnom hromatografijom visoke osetljivosti (HPLC). Homocistein se u plazmi nalazi vezan za plazma proteine

- (Hcy-albumin), cistein (Hcy-Cys) i u obliku homocistina (Hcy-Hcy). Primenjen je standardni pristup za kvantifikaciju ukupnog homocisteina koji podrazumeva hemijsku redukciju vezanog homocisteina posle raskidanja disulfidnih mostova pomoću ditioeritritola. Referentne vrednosti za ovu metodu su 10-15 $\mu\text{mol/L}$.
8. Brzina stvaranja O_2^- je izmerena preko redukcije nitroplavo tetrazolijuma (NBT) prema metodi Auclar i Voisin-a (37).
 9. Koncentracija fibrinogena određena je referentnom Clauss-ovom metodom.
 10. Iz podataka za visinu i težinu izračunat je indeks telesne mase (engl. body mass index, BMI) prema sledećoj formuli: $\text{BMI} = \text{težina (kg)} / \text{visina}^2 (\text{m}^2)$.

2.5. Bubrežna funkcija

Procena bubrežne funkcije je izvršena izračunavanjem procenjene GFR pomoću MDRD jednačine, koja je izvedena iz MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) studije (38). U ovoj jednačini se za izračunavanje GFR (ml/min/1,73m^2) koriste koncentracija endogenog kreatinina u serumu (sCr u $\mu\text{mol/L}$) i godine starosti, a potrebno je primeniti i korekzione faktore za ženski pol i afro-američku rasu. Korekcija za telesnu težinu nije potrebna zato što je GFR normalizovana za standardnu telesnu površinu od $1,73\text{m}^2$. Radi tačnosti izračunate GFR, metoda koja je korišćena za određivanje serumskog kreatinina bila je standardizovana prema sertifikovanom referentnom materijalu SRM 967 i sledljiva sa IDMS (izotopska diluciona masena spektrometrija) metodom.

MDRD jednačina:

$$\text{GFR} = 30,849 \times [\text{standardizovan sCr}]^{-1,154} \times [\text{godine}]^{0,203} \times [0,742 \text{ za žene}]$$

Umereno oštećenje bubrežne funkcije je definisano kao smanjenje glomerularne filtracije $\text{GFR} < 60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ a teško oštećenje je definisano kao $\text{GFR} < 30 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ na osnovu kriterijuma Nacionalne američke fondacije za bubrege (2).

2.6. Endotelna funkcija

Procena arterijske endotelne funkcije izvršena je metodom po Celermajer-u i saradnicima (39). Pre izvođenja testa bolesnici nisu unosili hranu najmanje 4 časa i nisu konzumirali alkohol i kofeinske napitke najmanje 24 časa. Testiranje je izvršeno između 13 i 15 časova. Bolesnik neposredno pre izvođenja testa leži na leđima 10 do 15 minuta u tihoj sobi sa kontrolisanom temperaturom. Zatim se meri dijametar brahijalne arterije ultrazvučnim pregledom sa visokorezolucionim linearnim ultrazvučnim prikazom kombinovanim sa pulsni doplerskim signalom (Agilent Image Point HX) a slike su zabeležene na VHS traci.

Bazalno merenje se vrši u mirovanju, 2 do 15 cm iznad kubitalne jame u trenutku pojave R zubca na ehokardiogramu. Zatim se izaziva nagli porast protoka u brahijalnoj arteriji naduvavanjem manžete svingomanometra na nadlaktici za najmanje

50mmHg iznad vrednosti sistolnog krvnog pritiska ispitanika u cilju zaustavljanja arterijskog priliva krvi u trajanju od 5 minuta. Drugo merenje se vrši 60 do 80 sekundi posle izduvavanja manžete i uspostavljanja reaktivne hiperemije da bi se postigla protokom posredovana vazodilatacija brahijalne arterije zavisna od endotela (engl. flow mediated dilation, FMD). Svako merenje se vrši najmanje 3 puta i krajnji rezultat je srednja vrednost izvršenih merenja. FMD je odnos između bazalnog dijametra brahijalne arterije u mirovanju i dijametra za vreme izazvane vazodilatacije izražen u procentima. Bolesnici su imali oštećenu endotelnu funkciju ukoliko je promena dijametra brahijalne arterije u poređenju sa bazalnim dijametrom u mirovanju (FMD) bila manja od 3,8% u HBI grupi i manja od 2,19% u RT grupi a to je prva kvartilna vrednost zasebno za svaku grupu pacijenata. Ukoliko su bolesnici imali veći procenat promene svrstani su u grupu bez oštećenja endotelne funkcije. Normalan odgovor na test endotel zavisne vazodilatacije je povećanje dijametra arterije brahialis i do 20%.

2.7. Ehokardiografija

Procena dijastolne funkcije je izvršena na osnovu ehokardiografskog pregleda srca. Pregled je izvođen u levom bočnom položaju bolesnika. Podaci su dobijeni korišćenjem jednodimenzionalne ehokardiografije (M-mod) u uzdužnom parasternalnom preseku, zatim pomoću dvodimenzionalne (2D) ehokardiografije, u apikalnim presecima duž uzdužne i kratke ose leve komore i uz korišćenje Dopler ehokardiografije, radi procene protoka na mitralnom, trikuspidnom ušću, aorti i arteriji pulmonalis. Dopler metoda (na preseku četiri komore) je korišćena da bi se dobila brzina protoka preko mitralne valvule kako bi se procenilo punjenje leve komore i izračunao odnos E/A koji je korišćen kao parametar za procenu dijastolne funkcije (40, 41).

E/A je odnos između rane (E) i kasne (A) faze punjenja komora i smanjen je kod dijastolne disfunkcije ($E/A < 1$). Kada se završi sistola a pritisak u komorama padne na nisku dijastolnu vrednost, visok pritisak u pretkomorama odmah otvara valvule pa krv naglo utiče u komore. To je razdoblje brzog punjenja komora tj rana faza dijastole (na ehokardiogramu označeno sa E). U drugoj fazi dijastole u komore normalno utiču samo male količine krvi. To je ona krv koja i dalje dotiče iz vena i prolazi kroz pretkomore direktno u komore. Za vreme zadnje trećine dijastole pretkomore se kontrahuju i dodatno potiskuju krv koja teče u komore (na ehokardiogramu označeno sa A). Kada, iz bilo kog razloga, mišić komora postane neelastičan on ne može brzo da prihvati veliku količinu krvi iz pretkomora i tada dolazi do poremećaja odnosa E/A.

2.8. Statistička analiza

Statistička analiza izvedena je primenom odgovarajućih statističkih testova. Da bi se utvrdilo da li su podaci distribuirani po normalnoj raspodeli korišćen je Kolmogorov-Smirnov test. Za analizu rezultata distribuiranih po normalnoj raspodeli upotrebljeni su Student t test i analiza varijanse (ANOVA) sa Tucky post hoc test-om. Pre analize parametara sa log normalnom raspodelom izvršena je njihova logaritamska

transformacija (kreatinin, GFR, trigliceridi, O_2^- , hs-CRP, IL-6, SAA, NT-proBNP i SDMA). Podaci koji nisu distribuirani po normalnoj raspodeli ili kod kojih nije zadovoljen uslov da su varijanse homogene, analizirani su primenom neparametarskog Kruskal-Wallis testa za analizu razlike između većeg broja grupa dok je za poređenje rezultata između dve grupe primenjen Mann-Whitney test.

Da bi se eliminisao uticaj „confounder“ varijabli (varijabli koje imaju uticaj na zavisnu promenljivu ili uticajne varijable) na koncentracije parametara, upotrebljena je analiza kovarijanse (ANKOVA). Chi kvadrat (χ^2) test homogenosti je korišćen za procenu razlike između kategoričkih varijabli.

Korelacija između dva parametra proverena je pomoću linearne regresione analize. Istovremeni uticaj dve ili više promenljivih na varijaciju u koncentraciji zavisne promenljive testiran je upotrebom multiple linearne regresije po forward principu selekcije.

Faktorska analiza je upotrebljena da bi se redukovao veliki broj varijabli tako što su ispitivane varijable grupisane u klustere. U faktorsku analizu su uključene one varijable koje su formirale model sa najboljim osobinama definisanim preko Kaiser-Meyer-Olkin koeficijenta a novoformirani klasteri su zatim uključeni u korelacionu analizu.

Za procenu prediktivne sposobnosti ispitivanih parametara korišćena je univarijantna i multivarijantna logistička regresija.

Dijagnostička tačnost ispitivanih parametara je proverena pomoću ROC analize. Vrednosti na osnovu kojih je dobijen optimalan broj lažno pozitivnih i pravih pozitivnih rezultata označene su kao optimalne cut-off vrednosti. Za modele dobijene pomoću logističke regresione analize po forward principu selekcije konstruisana je ROC kriva, a površina ispod krive (AUC) je izračunata uz pomoć „C“ analize.

Vrednosti u tabelama za parametre sa normalnom raspodelom prikazane su kao aritmetička srednja vrednost \pm standardna devijacija ($\bar{x} \pm SD$). Za log-normalno distribuirane parametre, vrednosti su prikazane kao geometrijska srednja vrednost i 95% interval pouzdanosti (CI) za geometrijsku sredinu. Parametri čija raspodela nije bila normalna predstavljani su kao medijana (Me) i interkvartilno odstupanje.

Statistička obrada podataka izvedena je računarskim programima MS Excel, EduStat 2.01 (2005; Alpha Omnia, Beograd, Srbija) i MedCalc (verzija 9.6.3; Mariakerke, Belgija). Statistička značajnost bila je dokazana u svim slučajevima kada je verovatnoća iznosila $p \leq 0,05$ (dvostrani test).

3. CILJEVI

Ciljevi istraživanja ove studije su:

1. odrediti vrednosti SDMA, NT-proBNP i parametara inflamacije kod bolesnika sa hroničnim oboljenjima bubrega i bolesnika sa transplantiranim bubregom kao i utvrditi razlike u odnosu na kontrolnu grupu zdravih osoba;
2. ispitati uticaj tradicionalnih i netradicionalnih faktora rizika na koncentracije SDMA i NT-proBNP;
3. ispitati uticaj bubrežne funkcije na koncentracije SDMA i NT-proBNP;
4. ispitati vezu između koncentracija SDMA i NT-proBNP i dijastolne disfunkcije;
5. ispitati prognostički značaj SDMA, NT-proBNP kao faktora rizika za razvoj endotelne disfunkcije;
6. utvrditi kliničku tačnost određivanja koncentracija SDMA i NT-proBNP, samih ili u kombinaciji sa drugim parametrima (ROC krive) u dijagnostici endotelne disfunkcije.

4. REZULTATI

4.1. Ispitivani parametri u kontrolnoj grupi

U tabeli 6 su prikazane demografske karakteristike i biohemijski parametri u kontrolnoj grupi. U procentima je izražen broj ispitanika po polu, broj pušača i broj hipertoničara (N, %). Za varijable obeležene zvezdicom (*) vrednosti su izražene kao geometrijske sredine i 95% interval pouzdanosti (95% CI), a vrednosti ostalih varijabli su izražene kao srednja vrednost i standardna devijacija ($\bar{x} \pm SD$). Prosečna starost ispitanika je 43 godine, žene su zastupljenije u nešto većem procentu u odnosu na muškarce (51 prema 49) a u grupi preovladavaju pušači i hipertoničari.

Tabela 6. Demografske karakteristike i biohemijski parametri u kontrolnoj grupi (N=88)

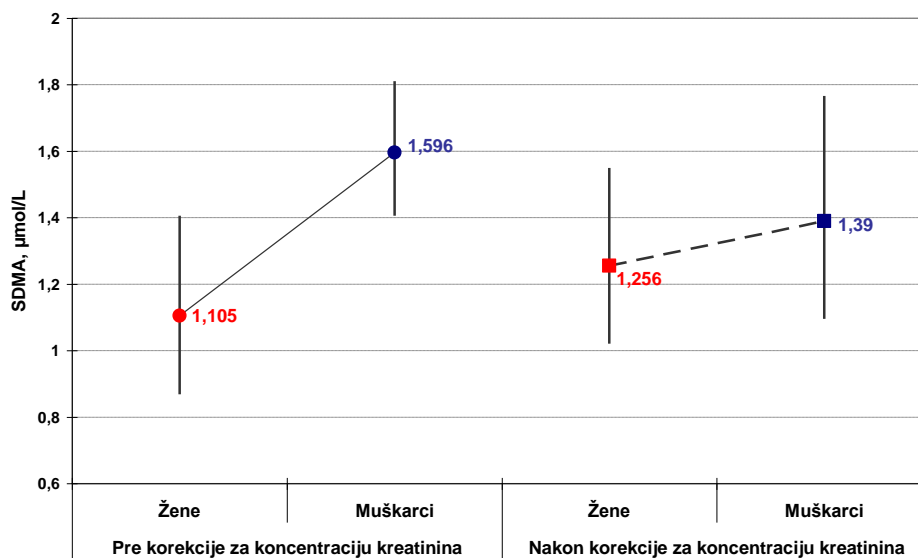
PARAMETAR	N (%) \bar{x} geometrijska sredina	SD 95% CI
Starost, godine	43,47	11,68
Žene, (%)	51,1	
HTA, (%)	63,6	
Pušači, (%)	63,6	
BMI, kg/m ²	25,74	4,85
Glukoza, mmol/L	4,84	1,35
Troponin I, µg/L	0,01	0,006
Urea, mmol/L	5,41	1,36
Kreatinin, µmol/L*	73,62	70,79 – 76,56
GFR, ml/min/1,73 m ² *	89,95	84,14 – 95,94
Proteini, g/L	74,15	5,85
Holesterol, mmol/L	5,36	1,38
Trigliceridi, mmol/L*	1,34	1,18 – 1,52
HDL-h, mmol/L	1,35	0,31
LDL-h, mmol/L	3,41	1,19
O ₂ ⁻ , µmol/min L*	27,86	(23,55 – 32,96)
hs-CRP, mg/L*	1,19	(0,92 – 1,53)
NT-proBNP, ng/L*	34,67	(29,79 – 40,36)
SDMA, µmol/L*	1,30	(1,12 – 1,51)

4.1.1. Razlika ispitivanih parametara u odnosu na pol u kontrolnoj grupi

U tabeli 7 su upoređene demografske karakteristike i biohemijski parametri u kontrolnoj grupi između muškaraca i žena. Kontinuirane varijable su prikazane kao srednja vrednost \pm SD i poređenje je izvršeno Student t testom, kategoričke varijable su prikazane kao relativne frekvence i upoređene Chi-kvadrat testom. Vrednosti za GFR, kreatinin, trigliceride, hs-CRP, O_2^- , NT-proBNP i SDMA su logaritmovane i upoređene između muškaraca i žena a prikazane su kao geometrijska sredina i 95% CI.

Muškarci su značajno stariji i imaju značajno veći BMI u odnosu na žene a zastupljen je i veći broj pušača i hipertoničara. Od biohemijskih parametara koji su značajno različiti između polova muškarci imaju više vrednosti uree, kreatinina, proteina, holesterola, triglicerida, LDL-h, SDMA i O_2^- a nižu vrednost za HDL-h.

S obzirom da nas interesuje da li su koncentracije SDMA i NT- proBNP u cirkulaciji pod uticajem funkcije bubrega, izvršena je dodatna statistička analiza. Primenom ANKOVA analize izvršena je korekcija u odnosu na koncentraciju kreatinina kod muškaraca i žena. Pošto je dokazana razlika samo za koncentraciju SDMA između polova izvršena je korekcija samo za ovaj parametar da bi se utvrdilo da li je postojeća razlika posledica razlike u koncentraciji kreatinina između polova. Na slici 5 su prikazane vrednosti SDMA pre i posle korekcije za koncentraciju kreatinina kod muškaraca i žena. Posle korekcije razlika u koncentraciji SDMA po polovima se izgubila ($p=0,574$).



Slika 5. Vrednosti SDMA kod muškaraca i žena pre i nakon korekcije za koncentraciju kreatinina

Tabela 7. Ispitivani parametri u odnosu na pol u kontrolnoj grupi

PARAMETAR	ŽENE N=45	MUŠKARCI N=43	P
Starost, godine	39,71 ± 11,22	47,70 ± 10,81	0,001
Pol, (%)	51,1	48,9	0,831
HTA, (%)	63,6	74,4	0,013
Pušači, (%)	63,6	74,4	0,013
BMI, kg/m ²	23,57 ± 4,12	28,13 ± 4,50	< 0,001
Glukoza, mmol/L	4,71 ± 1,48	4,98 ± 1,21	0,363
Troponin I, µg/L	0,012 ± 0,009	0,01 ± 0,001	0,171
Urea, mmol/L	4,81 ± 1,20	6,03 ± 1,24	< 0,001
Kreatinin*, µmol/L	66,37 (63,10 – 69,82)	82,04 (78,89 – 85,11)	< 0,001
GFR*, ml/min/1,73 m ²	87,30 (77,45 – 98,40)	92,90 (88,72 – 97,27)	0,767
Proteini, g/L	71,31 ± 4,92	77,51 ± 5,06	< 0,001
Holesterol, mmol/L	4,98 ± 1,18	5,75 ± 1,47	0,008
Trigliceridi*, mmol/L	1,01 (0,86 – 1,18)	1,79 (1,53 – 2,10)	< 0,001
HDL-h, mmol/L	1,49 ± 0,30	1,22 ± 0,25	< 0,001
LDL-h, mmol/L	3,03 ± 1,08	3,79 ± 1,18	0,002
O ₂ ⁻ *, µmol/min L	25,23 (20,46 – 31,19)	36,81 (30,20 – 44,87)	0,045
hs-CRP*, mg/L	0,97 (0,70 – 1,35)	1,55 (1,04 – 2,31)	0,066
NT-proBNP*, ng/L	37,41 (30,41 – 45,92)	32,06 (25,41 – 40,36)	0,318
SDMA*, µmol/L	1,10 (0,87 – 1,41)	1,60 (1,41 – 1,81)	0,013

*Varijable nemaju normalnu raspodelu i logaritamski su transformisane pre statističke analize

4.1.2. Promena ispitivanih parametara u zavisnosti od godina u kontrolnoj grupi

Ispitanici su podeljeni po starosnim grupama : I - do 30 godina, II - 31 do 40 godina, III- 41 do 50 godina, IV-51 do 60 godina i V- 61 godina i stariji (tabela 8). Ispitivani parametri između pojedinih grupa za muškarce i žene zajedno poređeni su ANOVA analizom, a tamo gde je ustanovljena statistička značajnost primenjen je Tukey test da bi se tačno definisalo između kojih ispitivanih grupa se pojavila statistički značajna razlika.

Postoji razlika u BMI između starosnih grupa ($p=0,003$; tabela 9). Ispitanici u najstarijoj starosnoj grupi su značajno teži od ispitanika u najmlađoj grupi ($p=0,009$) i ispitanika starosti od 31-40 godina ($p=0,02$).

Od bubrežnih parametara razlika po godinama nije zabeležena samo za koncentraciju proteina (tabela 10). GFR se razlikuje između ispitanika starosti od 31-40 godina i 51-60 godina ($p<0,05$), dok se koncentracija kreatinina razlikuje između ispitanika u starosnim grupama od 41-50 godina i 51-60 godina ($p<0,05$). Za ureu je zabeležen veći broj razlika. Stariji ispitanici od 51-60 godina imaju značajno više vrednosti uree u odnosu na ispitanike u najmlađim starosnim grupama I ($p=0,008$) i II ($p<0,001$), dok ispitanici starosti od 41-50 godina imaju više vrednosti uree samo u odnosu na grupu od 31-40 godina ($p=0,008$).

Od lipidnih parametara razlika po godinama nije zabeležena samo za koncentraciju HDL-h (tabela 11). Najmlađi ispitanici imaju statistički značajno niže vrednosti holesterola i LDL-h u odnosu na ispitanike u III , IV i V starosnoj grupi kao i ispitanici iz druge grupe u odnosu na III, IV i V grupu. Ispitanici iz I i II starosne grupe imaju značajno niže vrednosti triglicerida u odnosu na III i IV grupu.

Vrednosti NT-proBNP rastu sa godinama ali razlika između starosnih grupa nije statistički značajna ($p=0,148$), dok su vrednosti SDMA u blagom opadanju sa godinama ali i u ovom slučaju razlika u srednjim vrednostima između strosnih grupa nije značajna ($p=0,252$) (tabela 12).

Od ostalih parametara dokazana je promena koncentracije hs-CRP po godinama starosti (tabela 13). Najstarija starosna grupa ima značajno više vrednosti hs-CRP u odnosu na dve najmlađe grupe ispitanika ($p=0,009$ za I i V grupu; $p=0,027$ za II i V grupu).

Tabela 8. Podela ispitanika kontrolne grupe prema polu i godinama starosti

POL (N)	I ≤ 30 god. N=14	II 31 – 40 god. N=26	III 41 – 50 god. N=19	IV 51 – 60 god. N=24	V ≥ 61 god. N=5
Žene (45)	9	19	7	9	1
Muškarci (43)	5	7	12	15	4

Tabela 9. Uticaj godina na demografske parametre u kontrolnoj grupi

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
HTA, (%)	0,00	15,38	52,63	50,00	40,00	0,001
Pušenje, (%)	7,14	42,31	47,37	37,50	0,00	0,059
BMI, kg/m ²	22,95 ± 4,77	24,21 ± 4,49	25,98 ± 4,04	28,25 ± 4,94	29,21 ± 1,28	0,003

BMI: I i IV p=0,009; II i III p=0,02

Tabela 10. Uticaj godina na renalne parametre u kontrolnoj grupi

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
Urea, mmol/L	4,82 ± 1,01	4,59 ± 0,95	5,86 ± 1,43	6,25 ± 1,25	5,90 ± 1,84	< 0,001
Kreatinin, μmol/L	72,95 (66,68 – 79,62)	65,61 (61,80 – 69,50)	76,21 (69,82 – 83,18)	82,04 (76,21 – 88,31)	74,64 (48,87 – 114,03)	< 0,001
GFR, ml/min/1,73 m ²	81,47 (55,21 – 120,23)	101,86 (95,94 – 108,14)	88,92 (83,18 – 95,28)	80,72 (74,47 – 87,50)	111,94 (83,37 – 149,97)	0,033
Proteini, g/L	76,70 ± 4,71	72,17 ± 6,08	73,15 ± 5,41	75,49 ± 5,70	74,75 ± 7,41	0,252

Urea : I i IV p=0,008, II i IV p<0,001, II i III p=0,008

Kreatinin :II i III p<0,05; III i IV p<0,05

GFR : II i IV p<0,05

Tabela 11. Uticaj godina na lipidne parametre u kontrolnoj grupi

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
Holesterol, mmol/L	4,41 ± 0,60	4,68 ± 0,87	6,17 ± 1,68	5,74 ± 1,24	6,58 ± 2,01	< 0,001
Trigliceridi, mmol/L	0,80 (0,64 – 1,01)	1,05 (0,88 – 1,26)	1,91 (1,34 – 2,71)	1,60 (1,31 – 1,95)	1,78 (0,67 – 4,73)	< 0,001
HDL-h, mmol/L	1,47 ± 0,32	1,41 ± 0,26	1,37 ± 0,36	1,26 ± 0,29	1,18 ± 0,24	0,157
LDL-h, mmol/L	2,51 ± 0,65	2,82 ± 0,79	3,96 ± 1,36	3,84 ± 1,04	4,55 ± 1,73	< 0,001

Holesterol : I i III p=0,001, I i IV p=0,019, I i V p=0,02; II i III p=0,001; II i IV p=0,026; II i V p=0,036

Trigliceridi :I i III p<0,001; I i IV p=0,002; II i III p=0,003; II i IV p=0,046

LDL-h : I i III p=0,002; I i IV p=0,003; I i V p=0,008; II i III p=0,005; II i IV p=0,008; II i V p=0,022

Tabela 12. Uticaj godina na SDMA i NT-proBNP u kontrolnoj grupi

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
SDMA, μmol/L	1,62 (1,28 – 2,05)	1,15 (0,79– 1,66)	1,24 (0,90 – 1,70)	1,49 (1,23 – 1,82)	0,80 (0,30 – 2,12)	0,252
NT-proBNP, ng/L	24,49 (19,41 – 30,83)	34,43 (26,98 – 43,85)	31,12 (22,70 – 42,66)	45,71 (30,48 – 68,39)	38,19 (10,72 – 136,14)	0,148

Tabela 13. Uticaj godina na ostale parametre u kontrolnoj grupi

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
Glukoza, mmol/L	4,22 ± 0,40	4,45 ± 0,33	5,16 ± 1,17	5,26 ± 2,23	5,35 ± 0,76	0,07
Troponin I, μg/L	0,0010 ± 0,00001	0,0010 ± 0,00001	0,0013 ± 0,0013	0,0010±0,00001	0,0015±0,0010	0,265
hs-CRP, mg/L	0,59 (0,40 – 0,87)	0,85 (0,56 – 1,30)	1,45 (0,71 – 2,99)	1,61 (1,01 – 2,59)	5,90 (0,21 – 16,37)	0,003
O ₂ ⁻ , μmol/min L	22,91 (17,10 – 30,76)	22,96 (15,85 – 33,27)	30,97 (24,60 – 39,08)	37,84 (32,43 – 44,06)	34,75 (8,22 – 146,89)	0,158

hs-CRP: I i V p=0,009; II i V p=0,027

4.1.3. Ispitivanje veze između renalnih, lipidnih i inflamatornih parametara sa koncentracijom NT-proBNP i SDMA u kontrolnoj grupi

S obzirom da kod zdravih osoba nema značajne patologije koja bi uticala na vrednosti NT-proBNP i SDMA posmatran je uticaj drugih parametara na koncentraciju ova dva parametra. Primenom Pearson korelacione analize posmatran je pojedinični uticaj ispitivanih varijabli na koncentracije NT-proBNP i SDMA (tabela 14).

Tabela 14. Korelacija ispitivanih parametara sa koncentracijom NT-proBNP i SDMA u kontrolnoj grupi

PARAMETAR	NT-proBNP		SDMA*	
	r	p	r	p
Starost , godine	0,250	0,021	0,007	0,956
BMI, kg/m ²	0,056	0,615	0,095	0,446
Glukoza, mmol/L	0,152	0,159	0,003	0,980
Troponin I, µg/L	- 0,066	0,565	- 0,048	0,703
Urea, mmol/L	- 0,076	0,485	0,177	0,145
Kreatinin*, µmol/L	- 0,250	0,057	0,381	0,001
GFR*, ml/min/1,73 m ²	0,017	0,879	- 0,261	0,034
Proteini, g/L	- 0,240	0,043	0,413	0,001
Holesterol, mmol/L	- 0,155	0,152	0,061	0,618
Trigliceridi*, mmol/L	- 0,085	0,434	0,174	0,152
HDL-h, mmol/L	- 0,030	0,782	- 0,019	0,874
LDL-h, mmol/L	- 0,128	0,236	0,047	0,700
O ₂ ⁻ *, µmol/min L	0,023	0,884	- 0,001	0,995
hs-CRP*, mg/L	0,144	0,208	0,038	0,759
NT-proBNP*, ng/L			- 0,262	0,028

*Varijable nemaju normalnu raspodelu i logaritamski su transformisane pre statističke analize

Sa starošću raste koncentracija NT-proBNP ($r = 0,250$; $p=0,021$) dok se smanjuje sa porastom koncentracije proteina ($r = - 0,240$; $p=0,043$) i sa porastom koncentracije SDMA ($r = - 0,262$; $p=0,028$). Koncentracija SDMA je u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom kreatinina ($r = 0,381$; $p=0,001$) i proteina ($r = 0,413$; $p=0,001$). Dokazana je i negativna korelacija sa GFR ($r = - 0,261$; $p=0,034$) i NT-proBNP.

Da bi se ispitali nezavisni prediktori visokih koncentracija NT-proBNP i SDMA prvo je izvršeno grupisanje varijabli koje su u međusobnoj korelaciji primenom Principal komponent faktorske analize. Ova analiza je primenjena u cilju redukovanja broja nezavisnih varijabli u manji broj grupa pri čemu svaka od ispitivanih grupa sadrži varijable koje su u visokoj korelaciji a koja bi ometala adekvatno formiranje modela u multiploj linearnoj regresionoj analizi. Za svaku od grupa formirani su skorovi sa karakteristikama varijabli uključenim u grupu. Multipla linearna analiza je urađena sa skorovima kao nezavisnim varijablama.

4.1.3.1. Faktorska analiza za grupisanje varijabli u klaster i korelacija dobijenih faktora sa NT-proBNP i SDMA u kontrolnoj grupi

U faktorsku analizu su uključene varijable koje su formirale model sa najboljim osobinama definisanim preko Kaiser–Meyer–Olkin koeficijenta ($KMO=0,63$; $p=0,001$). Uključene varijable su: godine, BMI, holesterol, HDL-holesterol, LDL-holesterol, trigliceridi, urea, proteini, kreatinin, O_2^- i hs-CRP. Nakon primene faktorske analize ispitivani parametri su grupisani u 3 klastera, odnosno 11 varijabli je redukovano na 3 varijable (tabela 15).

Prvi klaster je formiran od parametara uključenih u razvoj ateroskleroze: holesterol, LDL-h, godine i O_2^- . Ovaj klaster je nazvan aterogeno- oksidativna varijabla. Drugi klaster je formiran od HDL-h, BMI, triglicerida i hs-CRP. S obzirom da je korelacija HDL-h sa drugim varijablama unutar ovog klastera inverzna ova varijabla je okarakterisana kao aterogeno-inflamatorna. Treći klaster je formiran od renalnih parametara: ukupnih proteina, ureje i kreatinina i okarakterisana je kao renalna varijabla. Sve tri varijable imaju eigenvalue ≥ 1 i one objašnjavaju 68,31% od ukupne varijabilnosti (44,02% potiče od aterogeno – oksidativne varijable, 14,87% od aterogeno-inflamatorne varijable i 9,42% od renalne varijable).

Tabela 15. Rezultati faktorske analize u kontrolnoj grupi

PARAMETAR	KLAISTERI		
	Aterogeno- oksidativni	Aterogeno- inflamatorni	Renalni
Holesterol, mmol/L	0,898		
LDL-h, mmol/L	0,885		
Starost, godine	0,767		
O ₂ ⁻ , μmol/min L	0,743		
HDL-h, mmol/L		- 0,881	
BMI, kg/m ²		0,723	
Trigliceridi, mmol/L		0,703	
hs-CRP, mg/L		0,556	
Proteini, g/L			0,696
Urea, mmol/L			0,560
Kreatinin, μmol/L			0,543

Predstavljani su Factor loadings veći od 0,50 ili manji od -0,50

Novoformirane varijable su uključene u korelacionu analizu i posmatran je njihov uticaj na koncentracije NT-proBNP i SDMA, tj. kako varijable unutar jednog klastera zajedno utiču na promenu u koncentraciji ova dva parametra (tabela 16). Na osnovu dobijenih rezultata se vidi da nijedna od novoformiranih varijabli nije u značajnoj korelaciji sa koncentracijom NT-proBNP dok renalna varijabla ima značajan uticaj na koncentraciju SDMA, tj. dokazana je pozitivna korelacija između ove dve varijable.

Tabela 16. Korelacija između novodefinisanih varijabli i koncentracija NT-proBNP i SDMA u kontrolnoj grupi

VARIJABLA	NT-proBNP		SDMA	
	r	p	r	p
Aterogeno-oksidativna	- 0,012	0,94	- 0,04	0,814
Aterogeno-inflamatorna	0,158	0,324	- 0,166	0,325
Renalna	- 0,236	0,138	0,404	0,013

4.1.3.2. *Predviđanje pojave visokih koncentracija NT-pro BNP i SDMA u kontrolnoj grupi*

Veza između faktorskih skorova i prisustva visokih koncentracija NT-proBNP i SDMA je procenjivana upotrebom logističke regresione analize. Koncentracije NT-proBNP i SDMA su svrstane u tercilne grupe (tabela 17). Vrednosti NT-proBNP jednake i veće od 51,25 ng/L su kodirane jedinicom i one predstavljaju povišene vrednosti NT-proBNP za kontrolnu grupu. Vrednosti niže od 51,25 ng/L su kodirane 0 i predstavljaju optimalne vrednosti NT-proBNP. Slično tome vrednosti SDMA veće ili jednake 1,827 $\mu\text{mol/L}$ su označene kao visoke za kontrolnu grupu (kodirane 1) a niže vrednosti su označene kao optimalne i kodirane su 0.

Tabela 17. Podela vrednosti SDMA i NT-proBNP po tercilima u kontrolnoj grupi

PERCENTILI	NT-proBNP ng/L	SDMA $\mu\text{mol/L}$
25	20	1,158
50	21	1,468
75 granična vrednost	51,25	1,827

Pomoću univarijantne logističke regresione analize testirano je da li ove tri novoformirane varijable povećavaju šansu za pojavu visokih vrednosti NT-proBNP i SDMA u kontrolnoj grupi. Na osnovu dobijenih rezultata vidi se da renalni parametri povećavaju šansu za pojavu rizičnih vrednosti SDMA ali statistička značajnost nije dokazana (tabela 18). Slična je situacija i sa uticajem aterogeno-oksidativne i aterogeno-inflamatorne varijable na NT-proBNP, tj. postoji trend ka povećanju šansi ka visokim koncentracijama NT-proBNP ali bez statističke značajnosti.

Tabela 18. Logistička regresiona analiza za faktorske skorove sa visokim koncentracijama NT-proBNP i SDMA u kontrolnoj grupi

VARIJABLA	NT-proBNP OR (95%CI)	SDMA OR (95%CI)
Aterogeno-oksidativna	1,166 (0,615 – 2,212) p=0,638	0,633 (0,208 – 1,932) p=0,422
Aterogeno-inflamatorna	1,202 (0,631 – 2,296) p=0,536	0,394 (0,111 – 1,392) p=0,148
Renalna	0,629 (0,313 – 1,262) p=0,192	1,571 (0,622 – 3,963) p=0,148

4.1.4. Zavisnost koncentracije NT-proBNP i SDMA od visine krvnog pritiska u kontrolnoj grupi

U zavisnosti od visine krvnog pritiska i godina starosti izvršena je podela kontrolne grupe na četiri podgrupe: normotenzivne mlađe osobe (grupa $0 \leq 50$ godina i HTA-), normotenzivne starije osobe (grupa $1 \geq 51$ godina i HTA-), hipertenzivne mlađe osobe (grupa $2 \leq 50$ godina i HTA+) i hipertenzivne starije osobe (grupa $3 \geq 51$ godina i HTA+). Posmatrana je razlika između ispitivanih parametara ANOVA analizom ili χ^2 testom, a tamo gde je ustanovljena statistička značajnost primenjen je Tukey test da bi se tačno definisalo između kojih ispitivanih grupa se pojavila statistički značajna razlika (tabela 19).

Postoji razlika u BMI između ispitivanih grupa ($p < 0,001$). Osobe sa HTA bilo da su mlađe ili starije imaju značajno veći BMI u odnosu na najmlađe osobe bez HTA ($p = 0,001$ za mlađu grupu sa HTA i $p = 0,002$ za stariju grupu sa HTA, nakon Tukey testa).

NT-proBNP se takođe razlikuje između grupa ($p = 0,015$). Vrednosti kod najstarijih ispitanika sa HTA su značajno veće od vrednosti kod najmlađih osoba bez HTA ($p = 0,02$) kao i između različitih starosnih grupa sa HTA ($p = 0,01$).

Vrednosti uree ($p = 0,039$) i kreatinina ($p = 0,049$) su značajno više kod mlađih ispitanika sa HTA u odnosu na ispitanike iste starosti ali bez HTA, dok je koncentracija uree dodatno viša kod starijih ispitanika sa HTA u odnosu na mlađe ispitanike bez HTA ($p = 0,023$).

Od lipidnih parametara zabeležena je razlika u koncentracijama holesterola, triglicerida i LDL-holesterola. LDL-holesterol je značajno niži kod mlađih osoba bez HTA u odnosu na ostale ispitivane grupe (grupe 0 i 1 $p = 0,001$; grupe 0 i 2 $p < 0,001$; grupe 0 i 3 $p = 0,03$). Trigliceridi se ne razlikuju u odnosu na godine u normotenzivnoj grupi, ali najmlađi ispitanici bez HTA imaju niže vrednosti u odnosu na ispitanike u HTA grupi bez obzira na starost (grupe 0 i 2 $p < 0,001$; 0 i 3 grupe $p = 0,047$). Holesterol je niži kod ispitanika do 50 godina bez HTA u odnosu na starije ispitanike bez HTA ($p = 0,003$) i u odnosu na ispitanike iste starosti sa HTA .

Hs-CRP se značajno razlikuje između starijih ispitanika sa i bez HTA ($p = 0,008$).

Tabela 19. Zavisnost ispitivanih parametara od visine krvnog pritiska u kontrolnoj grupi

PARAMETAR	HTA (-)		HTA (+)		P
	Grupa 0 ≤ 50 god. (N=47)	Grupa 1 ≥ 51 god. (N=9)	Grupa 2 ≤ 50 god. (N=22)	Grupa 3 ≥ 51 god. (N=10)	
Žene, (%)	65,9	66,75	22,73	30,0	0,002
Pušači, (%)	25,5	22,2	68,2	30,0	0,007
BMI, kg/m ²	23,58±3,93	25,59±3,02	28,32±6,16	29,76±2,30	< 0,001
Glukoza, mmol/L	4,55±0,83	4,45±0,40	5,51±2,43	4,81±0,59	0,083
Troponin I, μg/L	0,0010 ± 0,00001	0,0010 ± 0,00001	0,0013 ± 0,0012	0,0012 ± 0,0002	0,415
Urea, mmol/L	4,88±1,08	6,18±1,13	5,88±1,65	6,30±1,69	0,002
Kreatinin, μmol/L	69,66 (65,92- 73,62)	80,54 (63,83- 101,62)	78,34 (72,95- 84,14)	77,27 (86,23- 87,50)	0,041
GFR, ml/min/1,73 m ²	91,20 (80,72- 103,04)	77,45 (59,02- 101,62)	90,57 (83,56- 98,40)	89,13 (77,27- 103,04)	0,132
Proteini, g/L	73,07±5,76	72,48±7,53	76,09±5,43	76,28±4,54	0,188
Holesterol, mmol/L	4,72±1,09	6,41±1,91	5,99±1,16	5,70±1,27	< 0,001
Trigliceridi, mmol/L	1,00 (0,84-1,19)	1,28 (0,79-2,07)	2,07 (1,66-2,59)	1,66 (1,17-2,36)	< 0,001
HDL-h, mmol/L	1,42±0,32	1,49±0,32	1,28±0,31	1,19±0,19	0,081
LDL-h, mmol/L	2,81±0,83	4,34±1,72	3,98±1,02	3,84±1,00	< 0,001
O ₂ ⁻ , μmol/min L	23,50 18,24-30,34	39,30 27,29-58,34	33,96 23,33-49,55	32,06 15,00-68,39	0,181
hs-CRP, mg/L	0,78 (0,56-1,08)	1,10 (0,50-2,42)	1,57 (0,84-2,95)	2,90 (1,20-7,03)	0,007
NT-proBNP, ng/L	32,28 26,55-39,17	36,64 17,86-75,16	28,12 21,83-36,22	67,61 33,96-134,59	0,015
SDMA, μmol/L	1,39 (1,20-1,62)	1,06 (0,57-1,97)	1,38 (1,07-1,79)	1,48 (1,02-2,16)	0,526

BMI: 0 i 2 p=0,001; 0 i 3 p=0,002

Urea: 0 i 2 p=0,039; 0 i 3 p=0,023

Kreatinin: 0 i 2 p=0,049

Holesterol: 0 i 1 p = 0,003; 0 i 2 p = 0,002

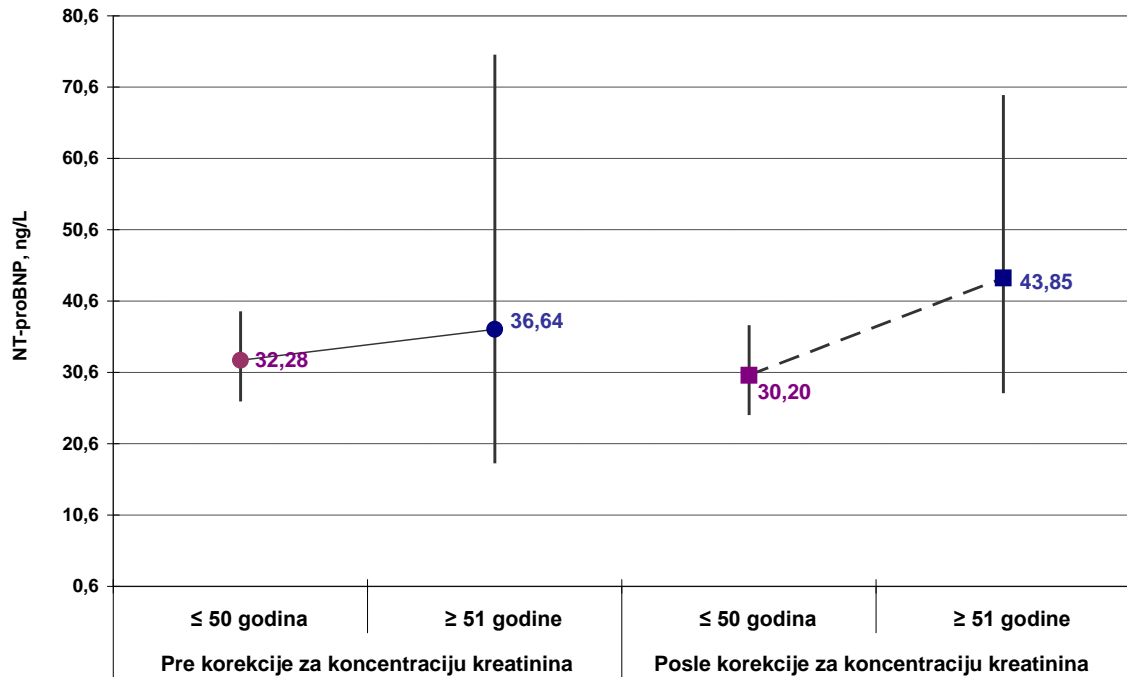
LDL-h: 0 i 1 p = 0,001; 0 i 2 p < 0,001; 0 i 3 p = 0,033

hs-CRP: 1 i 3 p = 0,008

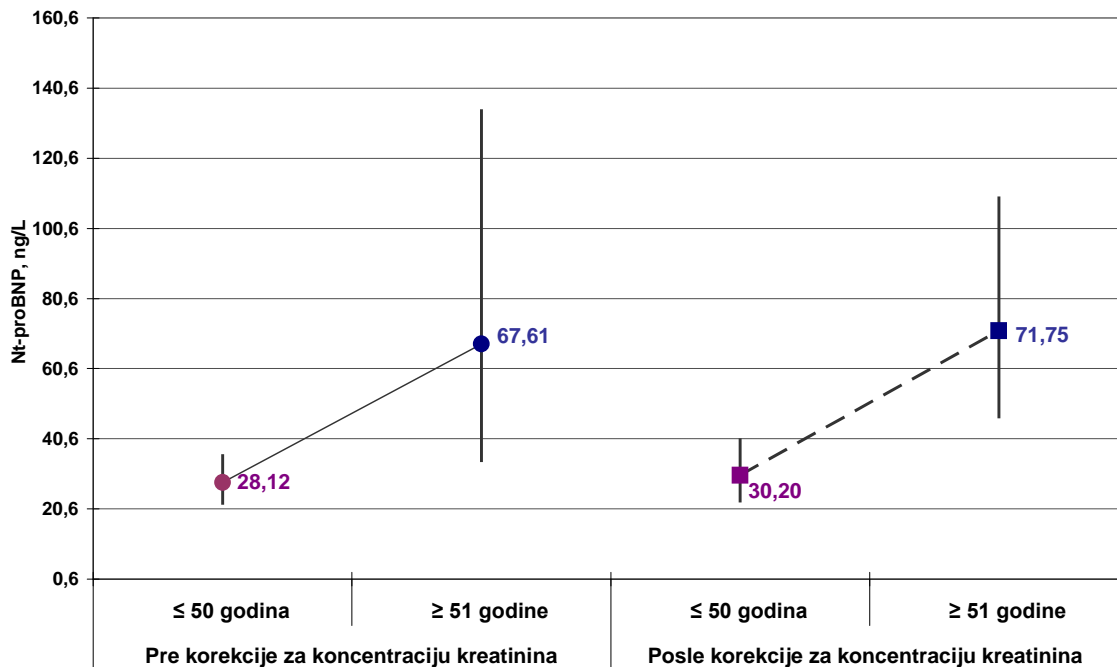
NT-proBNP: 0 i 3 p = 0,02; 2 i 3 p = 0,01

Trigliceridi: 0 i 2 p < 0,001; 0 i 3 p = 0,047

S obzirom da je dokazana statistička značajnost za koncentraciju NT-proBNP, izvršena je dodatna statistička analiza da bi se utvrdilo da li je ovaj parametar pod uticajem funkcije bubrega. ANKOVA analizom korigovane su vrednosti NT-proBNP u odnosu na koncentraciju kreatinina i kod normotenzivnih i kod hipertenzivnih ispitanika u kontrolnoj grupi (slika 6, 7). Vrednost NT-proBNP se i dalje razlikuje između grupa ($p=0,004$) a razlika je statistički značajna između istih grupa kao i ranije.



Slika 6. Vrednosti NT-proBNP pre i posle korekcije za koncentraciju kreatinina kod normotenzivnih ispitanika u kontrolnoj grupi



Slika 7. Vrednosti NT-proBNP pre i posle korekcije za koncentraciju kreatinina kod hipertenzivnih ispitanika u kontrolnoj grupi

4.2. Poređenje vrednosti ispitivanih parametara između zdravih ispitanika, bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom

U tabeli 20 upoređene su vrednosti ispitivanih varijabli između svih ispitanika podeljenih u tri grupe: zdravi ispitanici, bolesnici sa HBI i bolesnici sa transplantiranim bubregom. Ispitivani parametri između pojedinih grupa poređeni su ANOVA testom ako su ispunjeni uslovi da je distribucija tih parametara normalna i da postoji homogenost varijansi između grupa ili Kruskal-Wallis testom ukoliko nisu ispunjeni uslovi da su raspodele normalne i da su grupe homogene u odnosu na varijanse. Tamo gde je ustanovljena statistička značajnost primenjen je Tuckey post hoc ili Mann-Whitney test da bi se tačno definisalo između kojih grupa se pojavila statistički značajna razlika.

Tabela 20. Poređenje ispitivanih parametara između kontrolne grupe (zdravi), pacijenata sa hroničnom bubrežnom insuficijom (HBI) i pacijenata sa transplantiranim bubregom (RT)

PARAMETAR	ZDRAVI N=88	HBI N=98	RT N=44	P
Starost, godine	43,47 ±11,68	44,90 ±16,95	41,40 ±10,69	0,393
Žene, (%)	51	51	36,4	0,214
HTA, (%)	63,6	66,3	45,5	< 0,001
Pušači, (%)	63,6	27,55	27,3	< 0,001
BMI, kg/m ²	25,74 ± 4,85	23,60 ± 4,74	24,98 ± 3,59	0,020
Glukoza, mmol/L	4,84 ± 1,35	5,46 ±1,05	5,11 ±0,95	0,002
Troponin I, µg/L	0,011 ± 0,006	0,012 ± 0,008	0,010 ± 0,007	0,209
Urea, mmol/L	5,41 ± 1,36	17,40 ± 8,45	12,10 ± 5,94	< 0,001
Kreatinin*, µmol/L	74,0 (64,2 – 87,0)	199,0 (168,0 – 274,0)	158,0 (125,5 – 191,5)	< 0,001
GFR*, ml/min/1,73 m ²	89,95 (84,14 – 95,94)	25,23 (21,09-30,20)	37,37 (32,433-43,05)	< 0,001
Proteini, g/L	74,15 ± 5,85	70,17 ± 7,18	71,33 ± 4,98	< 0,001
Holesterol, mmol/L	5,36 ± 1,38	5,67 ± 1,25	5,87 ± 1,09	0,070
Trigliceridi*, mmol/L	1,31 (0,82 – 1,96)	1,81 (1,10– 2,82)	1,95 (1,37 – 2,42)	< 0,001
HDL-h, mmol/L	1,35 ± 0,31	1,19 ± 0,36	1,30 ± 0,34	0,007
LDL-h, mmol/L	3,41 ± 1,19	3,63 ± 1,14	3,70 ± 0,95	0,305
O ₂ ⁻ *, µmol/min L	30,26 (22,01 – 37,60)	49,50 (33,66 – 105)	47,52 (39,60 – 67,32)	< 0,001
NT-proBNP*, ng/L	21,0 (20,00 – 51,25)	322 (90,00 – 1962,0)	256,5 (98,75 – 641,25)	< 0,001
SDMA*, µmol/L	1,46 (1,16 – 1,83)	2,60 (1,27 – 6,59)	1,30 (0,89 – 1,74)	< 0,001

Postoji razlika u BMI ($p < 0,001$), vrednosti glukoze ($p = 0,002$) i HDL-h ($p = 0,007$) između ispitivanih grupa. Zdrave osobe imaju značajno veći BMI ($p = 0,013$) i HDL-h ($p = 0,005$) a značajno nižu glukozu ($p = 0,001$) u odnosu na bolesnike sa HBI. Takođe, zdravi imaju značajno višu koncentraciju proteina u odnosu na bolesnike sa HBI ($< 0,001$) dok je razlika u odnosu na bolesnike sa transplantiranim bubregom na granici statističke značajnosti ($p = 0,05$).

Zdrave osobe imaju značajno niže vrednosti uree i kreatinina i značajno viši GFR u odnosu na bolesnike sa HBI i transplantiranim bubregom dok bolesnici sa HBI imaju značajno više vrednosti uree i kreatinina i značajno niži GFR u odnosu na bolesnike sa transplantiranim bubregom ($p < 0,001$ za sve grupe). Koncentracija triglicerida i O_2^- je značajno niža kod zdravih osoba u odnosu na obe grupe bolesnika ($p < 0,001$ za sve grupe).

Koncentracija NT-proBNP je značajno niža kod zdravih osoba u odnosu na HBI bolesnike ($p < 0,001$) i RT bolesnike ($p < 0,001$).

Zdrave osobe imaju značajno nižu vrednost SDMA u odnosu na HBI bolesnike ($p < 0,001$) ali ne i u odnosu na RT bolesnike ($p = 0,09$). Takođe, HBI bolesnici imaju značajno višu vrednost SDMA u odnosu na RT bolesnike ($p < 0,001$).

4.3. Poređenje ostalih ispitivanih parametara između bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom

U tabeli 21 upoređene su vrednosti ostalih ispitivanih parametara između bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom. Kontinuirane varijable su prikazane kao srednja vrednost \pm SD i poređenje je izvršeno Student t testom, kategoričke varijable su prikazane kao relativne frekvence i upoređene Chi-kvadrat testom. Vrednosti za hs-CRP, IL-6 i SSA su prikazane kao geometrijska sredina i 95% CI.

Bolesnici sa transplantiranim bubregom su očekivano značajno duže bolesni u odnosu na bolesnike sa HBI ($p < 0,001$). Takođe, bolesnici sa HBI imaju značajno niže vrednosti albumina, IL-6 i SSA a značajno višu vrednost mokraćne kiseline u odnosu na RT bolesnike.

Tabela 21. Poređenje ostalih ispitivanih parametara kod pacijenata sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom i transplantiranim bubregom

PARAMETAR	HBI $\bar{x} \pm SD$ N=98	RT $\bar{x} \pm SD$ N=44	p
Trajanje bolesti, meseci	54,60 ± 64,71	145,20 ± 73,67	< 0,001
Albumin, g/L	39,85 ± 5,52	42,53 ± 3,20	0,005
Mokraćna kiselina, $\mu\text{mol/L}$	448,40 ± 108,90	400,14 ± 85,78	0,012
s-homocistein, $\mu\text{mol/L}$	22,82 ± 6,38	23,66 ± 12,12	0,758
Fibrinogen, g/L	4,81 ± 0,85	4,80 ± 1,56	0,980
hs-CRP*, mg/L	0,56 (0,23 – 2,77)	1,32 (0,59 – 3,47)	0,025
IL-6*, mg/L	2,52 (2,09 – 3,05)	4,24 (3,44 – 5,23)	< 0,001
SAA*, mg/L	3,37 (2,68 – 4,23)	9,15 (6,74 – 12,41)	< 0,001

*Varijable nemaju normalnu raspodelu i logaritamski su transformisane pre statističke analize

4.4. Promena ispitivanih parametara u zavisnosti od godina kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom

S obzirom da je dokazano da se neki od ispitivanih parametara menjaju sa godinama u kontrolnoj grupi, sada je cilj da se ispituju te promene posebno kod bolesnika sa HBI a posebno kod bolesnika sa transplantiranim bubregom.

4.4.1. Promena ispitivanih parametara u zavisnosti od godina kod bolesnika sa HBI

Ispitanici sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom su podeljeni po starosnim grupama: I - do 30 godina, II - 31 do 40 godina, III- 41 do 50 godina, IV-51 do 60 godina i V- 61 godina i stariji (tabela 22). Ispitivani parametri između pojedinih grupa za muškarce i žene zajedno poređeni su ANOVA analizom a tamo gde je ustanovljena statistička značajnost primenjen je Tukey test da bi se tačno definisalo između kojih ispitivanih grupa se pojavila statistički značajna razlika. Zbog velike varijanse unutar grupa, vrednosti NT-proBNP su upoređene Kruskal Wallis testom a prikazane su u tabeli kao medijane i percentilno odstupanje.

Tabela 22. Podela bolesnika sa HBI prema polu i godinama starosti

POL (N)	I ≤ 30 god. N=22	II 31 – 40 god. N=20	III 41 – 50 god. N=16	IV 51 – 60 god. N=14	V ≥ 61 god. N=20
Žene (44)	8	12	8	6	10
Muškarci (48)	14	8	8	8	10

Postoji razlika u BMI između starosnih grupa ($p=0,025$; tabela 23). Bolesnici u najstarijoj starosnoj grupi su značajno teži od ispitanika starosti 31 do 40 godina ($p=0,033$).

Od renalnih parametara razlika po godinama je zabeležena samo za koncentraciju proteina ($p=0,029$; tabela 24). Najstariji bolesnici sa HBI (stariji od 61 godine) imaju značajno više koncentracije proteina u odnosu na mlađe od 30 godina ($p=0,045$).

Bolesnici starosti od 41 do 50 godina imaju značajno viši holesterol i trigliceride ($p=0,018$ za holesterol i $p=0,029$ za trigliceride) u odnosu na najstarije bolesnike i značajno viši LDL-holesterol u odnosu na najmlađe bolesnike ($p=0,02$; tabela 25).

Iz tabele 26 se vidi da se od inflamatornih parametara samo fibrinogen i IL-6 menjaju značajno u odnosu na godine ($p=0,004$ za fibrinogen i $p<0,001$ za IL-6) Fibrinogen je značajno viši kod bolesnika starosti od 41 do 50 godina u odnosu na dve mlađe grupe (grupe I i III $p=0,002$ i grupe II i III $p=0,016$). Što se tiče IL-6, bolesnici mlađi od 30 godina imaju značajno niže vrednosti u odnosu na II i III grupu, bolesnici II grupe značajno niže u odnosu na III grupu i bolesnici IV grupe značajno niže u odnosu na V grupu ($p<0,05$ za sve grupe). Samo bolesnici iz III grupe imaju značajno više vrednosti u odnosu na bolesnike u starijoj IV grupi ($p<0,05$).

U tabeli 27 prikazana je promena ostalih ispitivanih parametara u odnosu na godine kod HBI bolesnika i dokazano je da se statistički značajno menjaju vrednosti glukoze, SDMA, O_2^- i homocisteina.

Iz tabele se vidi da mlađi bolesnici imaju niže vrednosti glukoze u odnosu na starije bolesnike ($p<0,001$). Po grupama, statistički značajna razlika za glukozu je uočena između I i IV grupe ($p=0,029$), I i V grupe ($p<0,001$), II i V grupe ($p=0,001$) i III i V grupe ($p=0,013$).

Najmlađi bolesnici imaju značajno više vrednosti SDMA i značajno niže vrednosti homocisteina u odnosu na najstarije (grupe I i V, $p=0,042$ za oba parametra) a bolesnici starosti 51 do 60 godina takođe imaju značajno niži homocistein u odnosu na najstarije ($p=0,032$). Urađena je korekcija vrednosti SDMA u odnosu na GFR i posle korekcije statistička značajnost između grupa se zadržala ($p=0,039$) a dobijene korigovane vrednosti po grupama iznose: grupa I $2,31 \mu\text{mol/L}$, grupa II $1,25 \mu\text{mol/L}$, grupa III $1,75 \mu\text{mol/L}$, grupa IV $1,95 \mu\text{mol/L}$ i grupa V $3,71 \mu\text{mol/L}$.

Takođe, najmlađi bolesnici imaju značajno niže vrednosti NT-proBNP u odnosu na III grupu ($p=0,044$) i V grupu ($p=0,015$).

Dokazano je da mlađi bolesnici imaju značajno niže vrednosti superoksidnog anjona u odnosu na starije bolesnike ($p<0,001$). Po grupama, statistički značajna razlika za superoksidni anjon je uočena između I i V grupe ($p=0,004$), II i V grupe ($p<0,001$), II i III grupe ($p=0,001$) i II i IV grupe ($p=0,001$).

Tabela 23. Uticaj godina na demografske parametre kod ispitanika sa hroničnom bubrežnom insuficijom

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
Trajanje bolesti, meseci	13,73 (8,33 – 22,63)	18,62 (10,80–32,08)	107,40 (48,62 – 166,18)	107,75 (28,02 – 187,49)	53,50 (42,75 – 64,25)	< 0,001
HTA, (%)	40	66,7	60	100	100	0,009
Pušenje, (%)	30	50	0	0	0	0,015
BMI, kg/m ²	23,29 ± 2,81	20,83 ± 6,76	24,76 ± 3,82	25,57 ± 2,73	26,58 ± 4,51	0,025

BMI: II i V p=0,033

Tabela 24. Uticaj godina na renalne parametre kod ispitanika sa hroničnom bubrežnom insuficijom

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
Urea, mmol/L	17,86 ± 11,32	17,02 ± 8,51	17,73 ± 4,08	14,10 ± 6,59	20,57 ± 8,49	0,302
Kreatinin, μmol/L	240,04 (180,16 – 319,81)	245,13 (176,0 – 341,21)	289,20 (207,83 – 370,57)	267,00 (119,50 – 414,50)	234,75 (73,16 – 396,35)	0,099
GFR, ml/min/1,73 m ²	27,82 (19,34 – 40,01)	25,20 (19,90 -30,54)	21,44 (17,57 – 25,31)	28,98 (15,80 – 42,15)	31,95 (14,06 – 61,59)	0,120
Proteini, g/L	68,80±7,35	69,00±8,52	68,17±7,25	71,60±5,60	75,25±3,86	0,029
Albumin, g/L	40,91 ± 5,17	38,10 ± 6,20	38,63 ± 5,11	40,57 ± 4,43	41,30 ± 6,14	0,277

Proteini: I i V p=0,045

Tabela 25. Uticaj godina na lipidne parametre kod ispitanika sa hroničnom bubrežnom insuficijom

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
Holesterol, mmol/L	5,47 ± 0,98	5,40 ± 1,29	6,48 ± 1,51	5,83 ± 0,83	5,23 ± 1,21	0,022
Trigliceridi, mmol/L	2,22 (1,67 – 2,78)	1,95 (1,45 – 2,45)	2,27 (2,04 – 2,51)	2,41 (1,76 – 3,06)	1,50 (1,20 – 1,81)	0,021
HDL-h, mmol/L	1,29 ± 0,38	1,18 ± 0,20	1,15 ± 0,38	1,07 ± 0,40	1,26 ± 0,45	0,533
LDL-h, mmol/L	3,24 ± 0,75	3,45 ± 1,06	4,51 ± 1,61	3,52 ± 0,93	3,93 ± 1,17	0,035

Holesterol III i V p=0,018

Trigliceridi: III i V p= 0,029

LDL-h: I i III p=0,02

Tabela 26. Uticaj godina na inflamatorne parametre kod ispitanika sa hroničnom bubrežnom insuficijom

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
Fibrinogen, g/L	4,40 ± 0,72	4,65 ± 0,84	5,83 ± 0,36	5,12 ± 1,03	4,93 ± 0,19	0,004
hs-CRP, mg/L	0,40 (0,23 – 0,73)	3,53 (1,09 – 5,97)	1,45 (0,31 – 6,87)	1,81 (0,13 – 3,49)	2,03 (0,66 – 3,40)	0,090
IL-6, mg/L	1,59 (1,28 – 1,99)	3,59 (2,98 – 4,20)	6,33 (0,72 – 11,94)	1,57 (0,85 – 2,28)	5,47 (4,47 – 6,46)	< 0,001
SAA, mg/L	4,69 (2,97 – 6,41)	4,01 (2,44 – 5,59)	8,93 (0,18 – 17,67)	2,07 (1,69 – 2,45)	5,17 (2,46 – 7,88)	0,429

Fibrinogen : I i III p = 0,002 ; II i III p = 0,016

IL-6: I i II; I i III, I i V; II i IV; III i IV; IV i V (p < 0,05 za sve grupe)

Tabela 27. Uticaj godina na ostale parametre kod ispitanika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
Glukoza, mmol/L	4,91 ± 0,50	5,03 ± 0,46	5,23 ± 0,65	5,87 ± 1,07	6,26 ± 1,54	< 0,001
Mokraćna kiselina, μmol/L	497,73 ± 125,74	441,00 ± 91,59	458,88 ± 84,60	474,14 ± 84,89	401,70 ± 115,04	0,058
Troponin I, μg/L	0,0010 ± 0,00001	0,0013 ± 0,00073	0,0010 ± 0,00001	0,0010 ± 0,00001	0,0015 ± 0,0014	0,374
NT-proBNP, mg/L	48,5 (20,0 – 503,0)	141,5 (69,75 – 4003,5)	240,0 (103,0 – 2560,0)	315,0 (37,0 – 1655,0)	1184,0 (245,75 – 4168,5)	0,049
SDMA, μmol/L	1,47 (1,27 – 1,68)	1,42 (1,16 – 1,69)	1,49 (1,20 – 1,79)	1,45 (0,99 – 1,92)	1,38 (0,96 – 1,79)	0,030
O ₂ ⁻ , μmol/min L	45,57 (37,98 – 54,67)	32,74 (18,26 – 47,22)	102,48 (52,85 – 152,12)	98,22 (53,71 – 142,73)	128,79 (78,91 – 178,67)	< 0,001
s-homocistein, μmol/L	19,73 ± 6,11	26,10 ± 3,21	26,80 ± 2,71	18,73 ± 0,69	29,45 ± 8,49	0,014

Glukoza: I i IV p = 0,029; I i V p < 0,001; II i V p = 0,001; III i V p = 0,013

SDMA: I i V p = 0,042

O₂⁻: I i V p = 0,004; II i V p < 0,001; II i III p = 0,001; II i IV p = 0,001

Homocistein: I i V p = 0,042 ; IV i V p = 0,032

NT-proBNP: I i III p=0,044; I i V p=0,015

4.4.2. Promena ispitivanih parametara u zavisnosti od godina kod bolesnika sa transplantiranim bubregom

Bolesnici su podeljeni po starosnim grupama: I - do 30 godina, II - 31 do 40 godina, III- 41 do 50 godina, IV - 51 do 60 godina i V - 61 godina i stariji (tabela 28). Ispitivani parametri između pojedinih grupa za muškarce i žene zajedno poređeni su ANOVA analizom a tamo gde je ustanovljena statistička značajnost primenjen je Tukey test da bi se tačno definisalo između kojih ispitivanih grupa se pojavila statistički značajna razlika.

Tabela 28. Podela bolesnika sa transplantiranim bubregom prema polu i godinama starosti

POL (N)	I ≤ 30 god. N=6	II 31 – 40 god. N=18	III 41 – 50 god. N=11	IV 51 – 60 god. N=7	V ≥ 61 god. N
Žene (16)	2	9	2	2	1
Muškarci (28)	4	9	9	5	1

Što se tiče posmatranih demografskih (tabela 29), renalnih (tabela 30), lipidnih (tabela 31), inflamatornih (tabela 32) i ostalih parametara (tabela 33) razlika u vrednostima je uočena samo za albumin ($p=0,033$; tabela 30). Bolesnici starosti 51 do 60 godina (grupa V) imaju značajno nižu koncentraciju albumina u odnosu na mlađe bolesnike u grupama II i III ($p<0,05$ za obe grupe).

Tabela 29. Uticaj godina na demografske parametre kod bolesnika sa transplantiranim bubregom

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
Trajanje bolesti, meseci	150,20 (23,81 – 276,59)	108,18 (77,33 – 139,03)	165,50 (118,80 – 219,20)	192,86 (145,60 – 240,11)	178,00 (99,50- 876,84)	0,179
Žene, (%)	33,3	50,0	18,2	28,6	50,0	0,495
HTA, (%)	5,0	17,0	10,0	7,0	2,0	0,306
Pušenje, (%)	40,0	29,4	30,0	14,3	0,0	0,764
BMI, kg/m ²	24,88 ± 2,63	25,30 ± 3,96	25,34 ± 4,25	23,63 ± 3,04	25,16 ± 0,53	0,880

Tabela 30. Uticaj godina na renalne parametre kod bolesnika sa transplantiranim bubregom

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
Urea, mmol/L	9,10 ± 4,37	11,33 ± 5,21	14,82 ± 8,54	11,63 ± 1,25	12,85 ± 7,71	0,429
Kreatinin, μmol/L	145,80 (64,27 – 227,33)	169,62 (138,94 – 207,07)	231,20 (131,49 – 330,91)	162,29 (142,28 – 182,29)	132,50 (24,50 – 240,50)	0,345
GFR, ml/min/1,73 m ²	54,26 (35,71 – 72,81)	40,37 (32,29 – 48,44)	35,04 (24,43 – 45,65)	38,71 (29,66 – 47,77)	44,35 (21,12– 168,24)	0,350
Proteini, g/L	73,00 ± 6,60	72,33 ± 3,82	69,90 ± 3,81	68,57 ± 7,11	74,00 ± 4,24	0,299
Albumin, g/L	42,20 ± 4,38	43,29 ± 2,87	43,22 ± 1,48	39,29 ± 2,98	45,00 ± 4,24	0,033

Albumin: II i IV p < 0,05; IV i V p < 0,05

Tabela 31. Uticaj godina na lipidne parametre kod bolesnika sa transplantiranim bubregom

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
Holesterol, mmol/L	5,18 ± 0,90	6,19 ± 1,13	6,04 ± 1,00	5,33 ± 1,04	6,05 ± 1,25	0,194
Trigliceridi, mmol/L	1,61 (1,30 – 1,91)	2,13 (1,64 – 2,78)	2,01 (1,54 – 2,49)	1,69 (0,96 – 2,41)	2,20 (0,83 – 5,38)	0,475
HDL-h, mmol/L	1,27 ± 0,13	1,21 ± 0,31	1,31 ± 0,40	1,47 ± 0,31	1,47 ± 0,67	0,491
LDL-h, mmol/L	3,28 ± 0,95	4,03 ± 0,94	3,83 ± 0,79	3,10 ± 1,08	3,58 ± 1,05	0,216

Tabela 32. Uticaj godina na inflamatorne parametre kod bolesnika sa transplantiranim bubregom

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
Fibrinogen, g/L	4,66 ± 1,90	4,55 ± 0,76	4,76 ± 1,22	5,82 ± 3,06	4,10 ± 1,30	0,735
hs-CRP, mg/L	1,73 (1,32 – 1,91)	1,28 (0,77 – 2,14)	1,50 (0,63 – 3,58)	5,27 (0,58 – 11,13)	3,81 (0,39 – 47,01)	0,820
IL-6, mg/L	4,66 (2,19 – 7,13)	3,34 (2,44 – 4,57)	6,08 (1,38 – 10,77)	5,69 (3,81 – 7,56)	12,00 (5,88 – 21,88)	0,106
SAA, mg/L	7,06 (2,21 – 11,91)	7,63 (5,01 – 11,64)	23,76 (5,34 – 52,85)	16,40 (3,32 – 29,48)	23,45 (18,84 – 33,74)	0,496

Tabela 33. Uticaj godina na ostale parametre kod bolesnika sa transplantiranim bubregom

PARAMETAR	I ≤ 30 god.	II 31 – 40 god.	III 41 – 50 god.	IV 51 – 60 god.	V ≥ 61 god.	P
Glukoza, mmol/L	4,76 ± 0,49	4,87 ± 0,42	5,23 ± 0,66	5,47 ± 2,02	6,00 ± 0,57	0,331
Mokraćna kiselina, μmol/L	402,40 ± 98,79	373,35 ± 89,65	429,36 ± 80,09	407,71 ± 86,71	435,00 ± 18,38	0,523
Troponin I, μg/L	0,010 ± 0,00001	0,010 ± 0,00001	0,010 ± 0,00001	0,011 ± 0,00378	0,010 ± 0,00001	0,423
NT-proBNP, mg/L	283,17 (62,12 – 628,45)	175,82 (86,49 – 357,42)	392,50 (144,08 – 1069,19)	1188,0 (655,01, – 3031,02)	846,0 (756,51 – 925,51)	0,187
SDMA, μmol/L	1,04 (0,79 – 1,29)	1,35 (1,08 – 1,62)	1,31 (1,09 – 1,59)	1,23 (1,04 – 1,42)	1,20 (0,33 – 2,08)	0,508
O ₂ ⁻ , μmol/min L	58,61 (35,18 – 82,04)	46,15 (33,54 – 63,50)	63,14 (36,60 – 89,68)	89,10 (16,16 – 162,04)	63,36 (35,20-90,33)	0,753
s-homocistein, μmol/L	16,95 ± 0,78	21,22 ± 5,66	29,66 ± 20,27	19,77 ± 4,66	28,95 ± 0,64	0,438

4.5. Ispitivanje veze između renalnih, lipidnih i inflamatornih parametra sa koncentracijom NT-proBNP i SDMA kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom

Primenom Pearson korelacione analize posmatran je pojedinični uticaj ispitivanih varijabli na koncentracije NT-proBNP i SDMA u udruženoj grupi HBI i RT bolesnika.

U tabeli 34 su prikazani rezultati korelacione analize između NT-proBNP i SDMA i ostalih ispitivanih parametara kod svih bolesnika zajedno. Od svih parametara bubrežne funkcije, GFR ($r = -0,596$ za NT-proBNP i $r = -0,742$ za SDMA) i kreatinin ($r = 0,693$ za NT-proBNP i $r = 0,731$ za SDMA) su imali najjaču korelaciju, mada su i urea i albumin pokazali značajnu korelaciju sa oba parametra. Koncentracije i NT-proBNP i SDMA su u pozitivnoj korelaciji sa godinama i u negativnoj korelaciji sa nivoom HDL-holesterola.

Vrednosti NT-proBNP su u pozitivnoj korelaciji sa inflamatornim parametrima (IL-6, hs-CRP, fibrinogen) i koncentracijom SDMA ($\beta = 0,499$). Od inflamatornih parametara, SDMA je u značajnoj korelaciji samo sa hs-CRP. Takođe, SDMA je u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom s-homocisteina ($\beta = 0,327$).

Zatim je izvedena multipla linearna regresiona analiza da bi se utvrdilo koji od ispitivanih parametara determinišu koncentracije NT-proBNP i SDMA. Faktori uticaja koji su bili značajni u uni-varijantnoj analizi uključeni su u forward stepwise linearnu regresionu analizu. Finalni model je uključivao sledeće varijable koje su značajno uticale na koncentracije NT-proBNP i SDMA u svakoj grupi posebno.

U HBI grupi, nezavisni prediktori povišenih koncentracija NT-proBNP bili su starije godine ($\beta = 0,021$; SE= 0,004; $p < 0,001$), povišen kreatinin ($\beta = 0,003$; SE= 0,0001; $p < 0,001$) i snižen albumin ($\beta = -0,025$; SE= 0,009; $p = 0,011$). Takođe u HBI grupi, GFR ($\beta = -0,005$; SE= 0,001; $p < 0,001$) i NT-proBNP ($\beta = 0,057$; SE= 0,013; $p < 0,001$) nezavisno utiču na promenu koncentracije SDMA.

Ista analiza sprovedena kod RT bolesnika je pokazala da su godine ($\beta = 0,016$; SE= 0,006; $p = 0,018$) i urea ($\beta = 0,064$; SE= 0,011; $p < 0,001$) varijable koje nezavisno od drugih varijabli utiču na koncentraciju NT-proBNP. Posle uključivanja godina, GFR, albumina, kreatinina, uree, HDL-h i s-homocisteina u ispitivani model, samo je kreatinin bio nezavisan prediktor ($\beta = 0,001$; $p < 0,001$) povišenih koncentracija SDMA kod RT bolesnika.

Tabela 34. Korelacija ispitivanih parametara sa koncentracijom NT-proBNP i SDMA kod svih bolesnika zajedno

PARAMETAR	NT-proBNP		SDMA*	
	r	p	r	p
Starost, godine	0,294	0,001	0,388	<0,001
BMI, kg/m ²	-0,200	0,058	-0,179	0,082
Trajanje bolesti, meseci	0,171	0,118	-0,018	0,867
Urea, mmol/L	0,584	<0,001	0,475	<0,001
Kreatinin*, µmol/L	0,693	<0,001	0,731	<0,001
GFR*, ml/min/1,73 m ²	-0,596	<0,001	-0,742	<0,001
Albumin, g/L	-0,358	<0,001	-0,301	<0,001
Mokraćna kiselina, µmol/L	0,052	0,579	0,041	0,657
Holesterol, mmol/L	-0,051	0,579	-0,136	0,136
Trigliceridi*, mmol/L	0,014	0,884	-0,007	0,423
HDL-h, mmol/L	-0,434	<0,001	-0,370	<0,001
LDL-h, mmol/L	0,085	0,435	-0,069	0,509
s-homocistein, µmol/L	0,318	0,052	0,327	0,023
Fibrinogen, g/L	0,379	<0,001	0,215	0,051
hs-CRP*, mg/L	0,416	<0,001	0,082	<0,001
IL-6*, mg/L	0,234	0,042	0,061	0,576
SAA*, mg/L	0,028	0,808	0,036	0,739
SDMA*, µmol/L	0,499	<0,001		

*Varijable nemaju normalnu raspodelu i logaritamski su transformisane pre statističke analize

4.6. Promena ispitivanih parametara u odnosu na GFR kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom

Da bi procenili promene ispitivanih parametara u odnosu na stepen oštećenja glomerularne funkcije bolesnici sa HBI i bolesnici sa transplantiranim bubregom su podeljeni na po dve grupe u zavisnosti od vrednosti GFR. Svi bolesnici su imali umereno (GFR 30–59 ml/min/1,73m²) do teško (GFR <30 ml/min/1,73m²) oštećenu glomerularnu funkciju (tabela 35, 36).

Kontinuirane varijable su predstavljene kao srednja vrednost ± standardna devijacija i poređene su Student t-testom dok su kategoričke varijable predstavljene kao relativne frekvencije i poređene Chi-kvadrat testom.

Kod HBI bolesnika HDL-h je značajno niži u grupi sa GFR <30 ml/min/1,73m² dok su urea, kreatinin, mokraćna kiselina, trigliceridi, fibrinogen i homocistein značajno niži u grupi sa GFR ≥30 ml/min/1,73m².

Kod bolesnika sa transplantiranim bubregom, albumin je značajno niži u grupi sa GFR <30 ml/min/1,73m² dok su urea, kreatinin i fibrinogen značajno niži u grupi sa GFR ≥30 ml/min/1,73m².

NT-proBNP i SDMA su značajno viši u grupi sa teškim u odnosu na grupu sa umerenim glomerularnim oštećenjem i kod HBI bolesnika i kod bolesnika sa transplantiranim bubregom.

Tabela 35. Promena demografskih, renalnih i lipidnih parametara u zavisnosti od GFR kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom i transplantiranim bubregom

PARAMETAR	HBI			RT		
	GFR<30 ml/min/1,73m ² N=54	GFR 30-59 ml/min/1,73m ² N=44	p	GFR<30 ml/min/1,73m ² N=10	GFR 30-59 ml/min/1,73m ² N=33	p
Starost, godine	38,2 ± 13,37	42,0 ± 18,77	0,361	40,1 ± 7,46	42,2 ± 11,74	0,615
Trajanje bolesti*, meseci	36,19 (24,48 – 53,49)	20,42 (12,51 – 33,34)	0,114	172,67 (133,10– 212,24)	137,41 (109,39 – 165,42)	0,209
BMI, kg/m ²	24,05 ± 4,32	23,14 ± 5,39	0,465	24,17 ± 3,04	25,12 ± 3,89	0,502
Urea, mmol/L	20,83 ± 8,67	12,14 ± 4,21	< 0,001	20,38 ± 6,93	9,88 ± 2,99	< 0,001
Kreatinin, µmol/L	17,20 (13,22 – 22,37)	58,90 (45,40 – 72,40)	< 0,001	15,93 (5,89 – 25,98)	56,53 (47,43 – 65,63)	< 0,001
Albumin, g/L	40,29 ± 6,01	41,5 ± 5,37	0,413	40,25 ± 3,20	43,27 ± 2,93	0,016
Mokraćna kiselina, µmol/L	505,29 ± 93,26	425,93 ± 110,96	< 0,001	419,56 ± 97,91	397,25 ± 83,20	0,498
Holesterol, mmol/L	5,95 ± 1,43	5,53 ± 0,91	0,183	6,27 ± 0,97	5,72 ± 1,12	0,189
Trigliceridi*, mmol/L	2,19 (1,92 – 2,52)	1,48 (1,18 – 1,85)	0,002	2,02 (1,67 – 2,45)	1,87 (1,56 – 2,26)	0,676
HDL-h, mmol/L	1,08 ± 0,18	1,46 ± 0,37	< 0,001	1,24 ± 0,23	1,32 ± 0,37	0,543
LDL-h, mmol/L	3,80 ± 1,27	3,35 ± 0,80	0,131	4,09 ± 0,95	3,50 ± 0,91	0,103

* Vrednosti za trajanje bolesti i trigliceride su logaritamski transformisane i predstavljene kao geometrijska sredina i 95% interval pouzdanosti (95% CI)

Tabela 36. Promena inflamatornih parametara, NT-proBNP, SDMA i homocisteina u zavisnosti od GFR kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom i bolesnika sa transplantiranim bubregom

PARAMETAR	HBI			RT		
	GFR<30 ml/min/1,73m ² N=54	GFR 30-59 ml/min/1,73m ² N=44	p	GFR<30 ml/min/1,73m ² N=10	GFR 30-59 ml/min/1,73m ² N=33	p
Fibrinogen, g/L	5,26 ± 0,85	4,44 ± 0,67	< 0,001	5,74 ± 2,41	4,46 ± 1,08	0,032
hs-CRP*, mg/L	1,18 (0,59 – 2,37)	0,58 (0,36 – 0,94)	0,108	2,32 (0,77 – 7,02)	1,16 (0,73 – 1,84)	0,182
IL-6*, mg/L	2,66 (2,05 – 3,45)	2,35 (1,75 – 3,15)	0,518	5,03 (3,03 – 8,36)	4,06 (3,18 – 5,17)	0,404
SAA*, mg/L	3,17 (2,27 – 4,50)	3,68 (2,67 – 5,04)	0,522	13,32 (4,70 – 37,74)	8,25 (6,09 – 11,17)	0,194
NT-proBNP*, ng/L	988,78 (370,72 – 2637,3)	88,09 (48,53 – 159,89)	< 0,001	996,87 (335,72 – 2960,1)	197,05 (124,63 – 311,54)	0,003
SDMA*, μmol/L	1,62 (1,49 – 1,76)	1,09 (1,01 – 1,18)	< 0,001	1,18 (0,59 – 2,37)	0,58 (0,36 – 0,94)	< 0,001
s-homocistein, μmol/L	24,05 ± 4,33	17,63 ± 4,43	0,018	32,07 ± 6,63	21,25 ± 7,57	0,051

* Vrednosti za hs-CRP, IL-6, SAA, NT-proBNP, i SDMA su logaritamski transformisane i predstavljene kao geometrijska sredina i 95% interval pouzdanosti (95% CI)

4.7. Promena ispitivanih parametara u odnosu na dijastolnu funkciju kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom

Kod 73 bolesnika sa HBI i sa transplantiranim bubregom urađena je ehokardiografija a bolesnici su na osnovu ehokardiografskog nalaza podeljeni na grupe sa i bez dijastolne disfunkcije. Dijastolna disfunkcija je definisana kao odnos E:A<1 u trenutku sakupljanja krvi bolesnika (tabela 37, 38).

Kontinuirane varijable su u tabelama predstavljene kao srednja vrednost \pm standardna devijacija i poređene su Student t-testom dok su kategoričke varijable predstavljene kao relativne frekvencije i poređene Chi-kvadrat testom.

HBI bolesnici sa dijastolnom disfunkcijom su stariji, imaju više vrednosti LDL-h, hs-CRP i NT-proBNP a nižu vrednost homocisteina u odnosu na HBI bolesnike bez dijastolne disfunkcije. Takođe, HBI bolesnici sa dijastolnom disfunkcijom imaju nešto višu koncentraciju SDMA u odnosu na one bez dijastolne disfunkcije mada bez statističke značajnosti ($p=0,708$).

RT bolesnici sa dijastolnom disfunkcijom su značajno stariji u odnosu na one bez dijastolne disfunkcije. Takođe, imaju značajno povećane koncentracije uree, kreatinina, SAA, NT-proBNP i SDMA a značajno nižu vrednost GFR u poređenju sa RT bolesnicima sa normalnom dijastolnom funkcijom.

Da bi ispitali da li je veza između SDMA/NT-proBNP i dijastolne disfunkcije pod uticajem drugih faktora, koncentracije ova dva parametra u okviru formiranih grupa su ponovo upoređene posle njihove korekcije u odnosu na trajanje bolesti i GFR. Posle korekcije u odnosu na trajanje bolesti, koncentracija NT-proBNP je ostala značajno viša u RT grupi sa dijastolnom disfunkcijom u odnosu na RT grupu bez dijastolne disfunkcije ($F=7,478$; $p<0,011$). Posle korekcije u odnosu na GFR, koncentracija NT-proBNP se nije značajno povećala kod RT pacijenata sa dijastolnom disfunkcijom ($F=2,631$; $p=0,117$). Vrednost NT-proBNP kod bolesnika sa dijastolnom disfunkcijom se smanjila za 36% (sa 489,69 na 313,4 ng/L) posle korekcije u odnosu na GFR. Slično, posle korekcije u odnosu na trajanje bolesti zadržao se značajan uticaj dijastolne disfunkcije na koncentraciju SDMA ($F=6,958$; $p=0,014$) dok se korigovane vrednosti SDMA u odnosu na GFR nisu značajno razlikovale između RT grupa sa i bez dijastolne disfunkcije ($F=0,162$; $p=0,690$). Kod bolesnika sa dijastolnom disfunkcijom koncentracija SDMA se smanjila za 11% (sa 1,39 na 1,34 $\mu\text{mol/L}$) posle korekcije u odnosu GFR.

Korekcija u odnosu na trajanje bolesti i GFR je ponovljena i kod bolesnika sa HBI. Kod ovih bolesnika je slabija veza između koncentracija NT-proBNP/SDMA i dijastolne disfunkcije. Posle korekcije, koncentracije NT-proBNP i SDMA se više nisu značajno razlikovale između HBI grupa sa i bez dijastolne disfunkcije.

Tabela 37. Promena demografskih, renalnih i lipidnih parametara u zavisnosti od dijastolne disfunkcije kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijom i bolesnika sa transplantiranim bubregom

PARAMETAR	HBI Dijastolna disfunkcija			RT Dijastolna disfunkcija		
	NE N=30	DA N=8	P	NE N=17	DA N=15	P
Starost , godine	34,70 ± 11,70	50,25 ± 10,09	0,002	34,60 ± 6,84	47,0 ± 8,49	< 0,001
Trajanje bolesti*, meseci	17,57 (11,48 – 29,26)	41,28 (15,31 – 111,17)	0,108	94,32 (60,67– 146,55)	156,80 (109,65 – 222,84)	0,072
BMI, kg/m ²	23,77 ± 4,17	20,63 ± 10,07	0,192	25,34 ± 3,87	25,31 ± 4,19	0,985
Urea, mmol/L	15,81 ± 5,88	14,00 ± 7,28	0,481	9,54 ± 3,38	15,67 ± 7,33	0,004
Kreatinin*, µmol/L	274,26 (208,93 – 299,72)	217,69 (133,97 – 353,99)	0,498	146,07 (17,35 – 167,49)	200,01 (166,34 – 264,85)	0,008
GFR*, ml/min/1,73m ²	24,24 (19,50 – 30,13)	23,97 (12,71 – 45,29)	0,963	45,09 (60,67– 146,55)	28,49 (21,87 – 37,09)	0,004
Albumin, g/L	40,67 ± 4,52	42,25 ± 2,76	0,355	43,38 ± 3,26	41,14 ± 2,91	0,059
Holesterol, mmol/L	5,41 ± 0,97	5,74 ± 1,17	0,425	5,68 ± 1,08	5,89 ± 1,17	0,613
Trigliceridi*, mmol/L	1,89 (1,57 – 2,27)	1,46 (0,87 – 2,46)	0,227	1,94 (1,47 – 2,54)	1,97 (1,62 – 2,40)	0,919
HDL-h, mmol/L	1,19 ± 0,32	1,32 ± 0,26	0,286	1,26 ± 0,32	1,23 ± 0,31	0,763
LDL-h, mmol/L	3,17 ± 0,74	3,96 ± 0,98	0,036	3,49 ± 0,88	3,72 ± 1,13	0,538

* Varijable su logaritamski transformisane i predstavljene kao geometrijska sredina i 95% interval pouzdanosti (95% CI)

Tabela 38. Promena inflamatornih parametara, mokraćne kiseline, NT-proBNP, SDMA i homocisteina u zavisnosti od dijastolne disfunkcije kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom i bolesnika sa transplantiranim bubregom

PARAMETAR	HBI Dijastolna disfunkcija			RT Dijastolna disfunkcija		
	NE N=30	DA N=8	P	NE N=17	DA N=15	P
Fibrinogen, g/L	4,28 ± 0,70	4,93 ± 1,04	0,073	4,51 ± 1,08	5,29 ± 2,14	0,206
hs-CRP*, mg/L	0,37 (0,20 – 0,71)	1,98 (0,83 – 4,73)	0,009	1,20 (0,69 – 2,09)	2,08 (0,90 – 4,79)	0,236
IL-6*, mg/L	2,21 (1,61 – 3,04)	1,75 (1,14 – 2,69)	0,393	3,44 (2,46 – 4,80)	5,54 (3,78 – 8,13)	0,052
SAA*, mg/L	2,14 (1,65 – 2,78)	2,99 (1,64 – 5,47)	0,215	7,22 (5,22 – 9,99)	15,31 (7,88 – 29,72)	0,027
Mokraćna kiselina, µmol/L	472,57 ± 109,03	452,25 ± 81,19	0,629	385,06 ± 89,65	411,33 ± 60,35	0,263
NT-proBNP*, ng/L	78,43 (34,39 – 178,85)	277,05 (96,82 – 792,60)	0,047	121,76 (69,87 – 212,17)	489,69 (235,29 – 1019,20)	0,003
SDMA*, µmol/L	1,34 (1,26 – 1,62)	1,40 (1,04 – 1,89)	0,708	1,07 (0,94 – 1,22)	1,39 (1,19 – 1,62)	0,009
s-homocistein, µmol/L	26,46 ± 8,39	18,73 ± 0,69	0,043	19,35 ± 4,92	24,25 ± 16,65	0,408

* Vrednosti za hs-CRP, IL-6, SAA, NT-proBNP, and SDMA su logaritamski transformisane i predstavljene kao geometrijska sredina i 95% interval pouzdanosti (95% CI)

4.8. Promena ispitivanih parametara u odnosu na endotelnu funkciju kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom

Da bi ispitali uticaj endotelne funkcije na ispitivane parametre bolesnici sa HBI i bolesnici sa transplantiranim bubregom su na osnovu FMD vrednosti podeljeni u dve grupe: grupu sa oštećenom endotelnom funkcijom i grupu sa neoštećenom (normalnom) endotelnom funkcijom (tabela 39, 40).

Zato što ne postoje referentne vrednosti za FMD sami smo definisali granične vrednosti za razdvajanje oštećene od neoštećene endotelne funkcije. Najniža tercilna vrednost za FMD u HBI i RT grupi je uzeta kao arbitarna granična vrednost za oštećenje endotelne funkcije. Bolesnici su imali verovatno oštećenu endotelnu funkciju ukoliko je procentualna promena dijametra brahijalne arterije u poređenju sa dijametrom u mirovanju bila manja od 3,8% u HBI grupi i manja od 2,19% u RT grupi (prvi tercil vrednosti za FMD u svakoj grupi bolesnika). Ukoliko je procentualna promena dijametra bila veća od ovih graničnih vrednosti smatrano je da ispitanici imaju verovatno neoštećenu endotelnu funkciju (drugi i treći tercil vrednosti za FMD u svakoj grupi bolesnika).

Nema razlike u godinama starosti i polu između ispitivanih grupa kod HBI i RT bolesnika. Kod HBI bolesnika inflamatorni parametri (hs-CRP, IL-6 i SAA) su značajno viši u grupi sa oštećenom endotelnom funkcijom dok su HDL-h i mokraćna kiselina viši u grupi sa neoštećenom endotelnom funkcijom. Takođe, koncentracija SDMA i homocisteina je značajno viša u grupi sa oštećenom u odnosu na neoštećenu endotelnu funkciju ($p < 0,001$ za oba parametra).

RT bolesnici sa oštećenom endotelnom funkcijom imaju više vrednosti LDL-h i niže vrednosti albumina u odnosu na RT bolesnike sa neoštećenom endotelnom funkcijom.

Da bi ispitali da li je veza između inflamatornih parametara, SDMA, lipida, mokraćne kiseline i albumina pod uticajem drugih faktora, ponovo smo poredili koncentracije ovih parametara posle korekcije u odnosu na GFR u okviru formiranih grupa. Posle korekcije u odnosu na GFR inflamatorni parametri kod HBI bolesnika sa oštećenom endotelnom funkcijom ostali su značajno viši u poređenju sa HBI bolesnicima bez endotelnog oštećenja ($F=16,065$; $p < 0,001$ za hs-CRP; $F=5,624$; $p=0,026$ za IL-6 i $F=8,201$; $p=0,008$ za SAA). Ipak, posle korekcije u odnosu na GFR, SDMA i mokraćna kiselina više nisu bili značajno viši a HDL-h značajno niži kod bolesnika sa oštećenom endotelnom funkcijom ($F=1,33$; $p=0,262$ za SDMA; $F=3,58$; $p=0,069$ za mokraćnu kiselinu i $F=1,198$; $p=0,283$ za HDL-holesterol).

Korekcija u odnosu na GFR je ponovljena i kod bolesnika sa transplantiranim bubregom. Posle korekcije, vrednost LDL-h je ostala značajno viša kod RT bolesnika sa oštećenom endotelnom funkcijom u odnosu na bolesnike bez oštećenja dok se značajnost za albumin između dve grupe izgubila posle korekcije ($F=1,775$; $p=0,197$).

Tabela 39. Promena demografskih, renalnih i lipidnih parametara u zavisnosti od endotelne disfunkcije kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom i bolesnika sa transplantiranim bubregom

PARAMETAR	HBI Endotelna funkcija			RT Endotelna funkcija		
	neoštećena (N=22)	oštećena (N=10)	P	neoštećena (N=18)	oštećena (N=8)	P
Starost, godine	38,45 ± 12,72	44,2 ± 12,04	0,238	39,5 ± 8,8	39 ± 8,65	0,894
Muškarci, %	45,5	40,0	0,773	61,1	62,5	0,946
Trajanje bolesti, meseci	20,27 (10,59 – 38,80)	88,80 (25,85 – 151,74)	0,076	140,44 (103,08 – 177,81)	145,63 (92,79 – 198,45)	0,811
BMI, kg/m ²	23,63 ± 3,40	23,09 ± 10,44	0,875	25,48 ± 4,30	25,18 ± 3,11	0,856
Urea, mmol/L	15,20 (12,56 – 17,85)	19,20 (13,44 – 24,95)	0,157	10,47 (8,36 – 13,12)	14,02 (9,30 – 18,74)	0,229
Kreatinin, μmol/L	233,94 (189,45 – 288,88)	412,8 (202,65 – 622,94)	0,164	165,99 (138,46 – 198,99)	222,13 (141,40 – 302,85)	0,202
GFR, ml/min/1,73m ²	27,98 ± 13,48	19,54 ± 11,78	0,104	40,97 ± 13,86	32,95 ± 13,48	0,182
Albumin, g/L	40,18 ± 5,93	37,40 ± 7,07	0,256	43,47 ± 3,24	40,57 ± 2,70	0,049
Holesterol, mmol/L	5,51 ± 1,20	5,25 ± 1,53	0,596	5,63 ± 0,97	6,49 ± 1,19	0,064
Trigliceridi, mmol/L	1,58 (1,25 – 2,00)	1,73 (1,16 – 2,58)	0,653	1,78 (1,47 – 2,17)	2,05 (1,75 – 2,40)	0,232
HDL-h, mmol/L	1,22 ± 0,22	1,06 ± 0,18	0,045	1,28 ± 0,39	1,30 ± 0,31	0,904
LDL-h, mmol/L	3,38 ± 0,99	3,46 ± 1,36	0,859	3,41 ± 0,64	4,25 ± 1,02	0,019

Tabela 40. Promena inflamatornih parametara, mokraćne kiseline, NT-proBNP, SDMA i homocisteina u zavisnosti od endotelne disfunkcije kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom i bolesnika sa transplantiranim bubregom

PARAMETAR	HBI Endotelna funkcija			RT Endotelna funkcija		
	neoštećena (N=22)	oštećena (N=10)	p	neoštećena (N=18)	oštećena (N=8)	p
Fibrinogen, g/L	4,51 (4,02 – 5,06)	5,38 (4,03 – 7,21)	0,166	4,58 (3,94 – 5,31)	4,65 (3,55 – 6,08)	0,909
hs-CRP, mg/L	0,45 (0,28 – 0,73)	5,96 (1,02 – 34,91)	0,010	1,53 (0,74 – 3,17)	1,79 (0,87 – 3,71)	0,772
IL-6, mg/L	1,93 (1,44 – 2,60)	4,58 (3,21 – 6,53)	< 0,001	4,29 (2,96 – 6,19)	3,97 (2,64 – 5,97)	0,802
SAA, mg/L	2,18 (1,92 – 2,47)	3,78 (2,06 – 6,97)	0,006	9,86 (5,96 – 16,37)	8,88 (3,71 – 21,28)	0,809
Mokraćna kiselina, µmol/L	475,45 ± 88,20	403,40 ± 79,88	0,035	408,39 ± 71,39	382,38 ± 89,62	0,435
NT-proBNP, ng/L	232,27 (79,43 – 679,20)	645,65 (245,47 – 1258,1)	0,104	199,99 (91,83 – 435,51)	348,34 (183,65 – 660,69)	0,353
SDMA, µmol/L	1,34 (1,19 – 1,51)	1,97 (1,69 – 2,28)	< 0,001	1,25 (1,10 – 1,42)	1,30 (0,90 – 1,89)	0,759
s-homocistein, µmol/L	18,92 ± 4,64	32,95 ± 4,46	< 0,001	27,32 ± 17,11	17,14 ± 2,82	0,142
O ₂ ⁻ , µmol/min L	49,77 (34,83 – 71,29)	28,84 (9,86 – 84,14)	0,154	46,56 (33,73 – 64,27)	44,67 (35,73 – 55,85)	0,860

4.8.1. Provera značajnosti ispitivanih parametara kao prediktora rizika za oštećenje endotelne funkcije

Da bi proverili da li povišene vrednosti hs-CRP, IL-6, SAA, SDMA i O_2^- imaju potencijal za predviđanje oštećenja endotelne funkcije upotrebljena je binarna logistička regresiona analiza. Odnos šansi (engl. odds ratio, OR) predstavlja veličinu koja nam pokazuje koliko je puta osoba koja ima povišenu vrednost ispitivane varijable sklonija nastanku oštećenja endotela u poređenju sa osobom koja nema povišenu vrednost date varijable. Vrednosti OR veće od 1 pokazuju koliko puta osoba sa povišenim vrednostima ispitivanih varijabli ima veću verovatnoću za razvoj oštećenja endotela. Arbitarno je uzeto da su vrednosti ispitivanih parametara niže od najviše tercilne vrednosti zapravo koncentracije sa niskim rizikom i one su kodirane sa 0. Vrednosti više od najviše tercilne vrednosti su koncentracije sa visokim rizikom za oštećenje endotelne funkcije i one su kodirane sa 1.

Univarijantna logistička regresiona analiza je pokazala da visoke vrednosti hs-CRP i SDMA povećavaju verovatnoću za razvoj endotelne disfunkcije kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom (tabela 41). Posle primene multivarijantne analize (korekcija u odnosu na GFR), visoke vrednosti hs-CRP i SDMA zadržale su statističku značajnost za predviđanje oštećenja endotelne funkcije. Dobijeni rezultat ukazuje da hs-CRP i SDMA, nezavisno od GFR, mogu da predvide oštećenje endotelne funkcije. Bolesnici sa koncentracijom hs-CRP višom od najviše tercilne vrednosti imaju 3,7 puta, dok osobe sa visokim SDMA imaju 3,3 puta veću verovatnoću da razviju oštećenje endotela u odnosu na bolesnike sa nižim vrednostima nezavisno od bubrežne funkcije.

Tabela 41. OR za oštećenu endotelnu funkciju kod HBI i RT bolesnika

	Direktni OR	OR korigovan za GFR
SDMA	5,25 (1,894 – 14,550) p=0,001	3,342 (1,030 – 10,847) p=0,045
hs-CRP	4,24 (1,677 – 10,746) p=0,002	3,738 (1,450 – 9,638) p=0,006
IL-6	2,10 (0,841 – 5,262) p=0,112	/
SAA	2,381 (1,000-5,665) p=0,051	/
O_2^-	0,844 (0,313 – 2,280) p=0,739	/

OR – odnos šansi, CI – interval pouzdanosti; SDMA, hs-CRP, IL-6, SAA, O_2^- – kategoričke varijable

4.8.2. Provera značajnosti ispitivanih parametara kao detektora oštećenja endotelne funkcije

Da bi proverili sposobnost inflamatornih parametara, SDMA i O_2^- da detektuju oštećenje endotelne funkcije kod naših bolesnika primenjena je ROC analiza (tabela 42). Samo hs-CRP (AUC = 0,754; $p < 0,001$), IL-6 (AUC = 0,699; $p = 0,002$) i SDMA (AUC = 0,689; $p = 0,007$) značajno detektuju oštećenje endotela (sniženje FMD).

Kombinacija SDMA ili O_2^- sa hs-CRP ne povećava značajno sposobnost samog hs-CRP da razlikuje oštećeni FMD od neoštećenog FMD.

Dalje, kombinacija hs-CRP sa SDMA i O_2^- zajedno slabo povećava diskriminativnu sposobnost samog hs-CRP (AUC = 0,756; $p = 0,004$).

Takođe, ispitali smo i da li IL-6 ima bolju sposobnost da u kombinaciji sa SDMA i/ili O_2^- razdvoji bolesnike sa oštećenim FMD od bolesnika sa neoštećenim FMD. Dodavanje SDMA u model povećava AUC za IL-6 (AUC = 0,732; $p = 0,001$).

Sa druge strane, kombinacija sva tri parametra zajedno (IL-6, SDMA i O_2^-) snižava površinu ispod krive (AUC = 0,724; $p = 0,003$). Za SDMA sve kombinacije sa inflamatornim parametrima i superoksidnim anjonom povećavaju njegove osobine za detekciju oštećene endotelne funkcije. Nijedna ispitivana kombinacija ne povećava značajno AUC u odnosu na AUC za hs-CRP kao samostalnog parametra.

Tabela 42. ROC analiza za detekciju oštećene od neoštećene endotelne funkcije

	AUC	Interval pouzdanosti	Standardna greška	P
SDMA	0,689	0,549 – 0,829	0,071	0,007
hs-CRP	0,754	0,602 – 0,905	0,054	< 0,001
IL-6	0,699	0,597 – 0,802	0,052	0,002
SAA	0,605	0,486 – 0,725	0,061	0,093
O_2^-	0,593	0,467 – 0,719	0,064	0,174
Model: hs-CRP i SDMA	0,730	0,582 – 0,878	0,076	0,005
Model: hs-CRP i O_2^-	0,671	0,531 – 0,812	0,072	0,025
Model: hs-CRP, SDMA i O_2^-	0,756	0,623 – 0,888	0,068	0,004
Model: IL-6 i SDMA	0,732	0,614 – 0,851	0,061	0,001
Model: IL-6 i O_2^-	0,628	0,507 – 0,749	0,062	0,070
Model: IL-6, SDMA i O_2^-	0,724	0,570 – 0,878	0,079	0,003
Model: SDMA i O_2^-	0,737	0,598 – 0,876	0,071	0,002

5. DISKUSIJA

Proučavanje netradicionalnih faktora rizika koji mogu biti uključeni u patogenezu hronične bubrežne insuficijencije i/ili kardiovaskularne bolesti je predmet intenzivnog naučnog istraživanja. Poslednjih godina velika pažnja se pridaje endotelnoj disfunkciji, oksidativnom stresu i hroničnoj inflamaciji i njihovoj međusobnoj sprezi. Ova trijada netradicionalnih faktora leži u osnovi različitih ali međusobno povezanih patoloških stanja (KVB, HBI, gojaznost, malnutricija, diabetes) (42). Širok spektar različitih endotelnih, oksidativnih, inflamatornih, srčanih i bubrežnih biomarkera se intenzivno proučava poslednjih godina.

Zbog toga su u ovom radu, pored koncentracija SDMA i NT-proBNP, određene i koncentracije različitih parametara za procenu bubrežne funkcije, lipidnog, oksidativnog i inflamatornog statusa kod ispitivanih bolesnika i kontrolne grupe. Vrednosti biohemijskih parametara u našoj kontrolnoj grupi iznosile su: BMI $25,74 \pm 4,85$ kg/m²; holesterol $5,36 \pm 1,38$ mmol/L; trigliceridi $1,34$ (1,18-1,52) mmol/L; HDL-h $1,35 \pm 0,31$ mmol/L; LDL-h $3,41 \pm 1,19$ mmol/L; hs-CRP $1,19$ (0,92-1,53) mg/L; kreatinin $73,62$ (70,79-76,56) μ mol/L (tabela 6). Navedeni rezultati su u dobroj saglasnosti sa literaturnim podacima dobijenim za kontrolne grupe iz naše populacije.

U radu Memon i saradnika, kontrolna grupa koju su činili muškarci i žene naše populacije starosti 31 do 71 godine imala je sledeće vrednosti: BMI $26,5 \pm 3,5$ kg/m²; holesterol $5,48 \pm 1,01$ mmol/L; trigliceridi $1,36$ (1,02-1,93) mmol/L; HDL-h $1,17 \pm 0,32$ mmol/L; LDL-h $3,65 \pm 0,95$ mmol/L; hs-CRP $1,19$ (0,62-2,35) mg/L (43). U radu Jelić-Ivanović i saradnika, kontrolna grupa naše populacije imala je srednju vrednost kreatinina $62,31 \pm 16,91$ μ mol/L (44). Izmerena vrednost SDMA u kontrolnoj grupi ($1,30$ (1,12-1,51) μ mol/L) je u dobroj saglasnosti sa literaturnim podacima dobijenim za kontrolne grupe iz drugih populacija, mada vrednosti kod zdravih osoba znatno variraju između studija: 0,4-1,6 μ mol/L (45, 46, 47).

Poređenjem ispitivanih parametara između muškaraca i žena kod kontrolne grupe utvrđeno je da muškarci imaju više vrednosti BMI ($p < 0,001$), uree ($p < 0,001$), kreatinina ($p < 0,001$), proteina ($p < 0,001$), holesterola ($p = 0,008$), triglicerida ($p < 0,001$), LDL-h ($p = 0,002$), SDMA ($p = 0,013$) i superoksidnog anjona ($p = 0,045$) a nižu vrednost za HDL-h ($p = 0,045$) u odnosu na žene (tabela 7). Izvršena je korekcija za SDMA u odnosu na koncentraciju kreatinina da bi se utvrdilo da li je razlika među polovima nastala usled razlike u koncentraciji kreatinina. Posle korekcije za kreatinin razlika u koncentraciji SDMA između polova se izgubila ($p = 0,574$; slika 5) . Ovo je očekivano, s obzirom da žene imaju nižu referentnu vrednost kreatinina u odnosu na muškarce zbog manje mišićne mase a da se koncentracija SDMA menja paralelno sa koncentracijom kreatinina (46). U radu Zinnelija (48) i saradnika nije bilo razlike u koncentraciji SDMA između muškaraca i žena ($1,70 \pm 1,62$ prema $1,62 \pm 0,36$ izraženo kao nmol/mg proteina). U radu Hov (49) i saradnika 2,5-ti i 97,5-ti percentil za vrednost SDMA izmerenu HPLC metodom kod zdravih odraslih muškaraca iznosio je 0,31 i 0,57 μ mol/L u poređenju sa 0,31 i 0,55 μ mol/L kod zdravih žena te nije bilo razlike u referentnim vrednostima između muškaraca i žena.

Kod naših zdravih ispitanika nije bilo razlike u koncentraciji NT-proBNP između polova što se može objasniti izborom ispitanika jer nije bilo ni razlike u vrednosti GFR ($p = 0,767$). Dokazano je da žene imaju umereno povećane vrednosti BNP

u odnosu na muškarce iz nepoznatog razloga (25). Takođe, neki istraživači su dokazali da žene imaju u proseku za 1,4 puta više vrednosti NT-proBNP u odnosu na muškarce (50, 51). Jedno od mogućih objašnjenja za ovu razliku između polova je da žene svih godina starosti imaju mnogo manje elastičan mišić srčane komore u odnosu na muškarce (52). Generalno, polne razlike pojedinih parametara koji su pod direktnim ili indirektnim uticajem mišićne mase zavise od osobina izabrane grupe kao što su starost i opšte stanje zdravlja ispitanika, etnička pripadnost, antropometrijske karakteristike, dijeta i terapija lekovima.

Interesantno je da je koncentracija O_2^- bila značajno viša kod zdravih muškaraca u odnosu na zdrave žene (36,81 prema 25,23 $\mu\text{mol}/\text{minL}$; $p=0,045$). Studije na eksperimentalnim životinjama su pokazale da mužjaci pacova imaju višu koncentraciju O_2^- u odnosu na ženke zbog pojačane ekspresije enzima NAD(P)H-oksidadze koja je glavni izvor sinteze O_2^- u vaskularnom sistemu (53). Veliki broj humanih studija se bavio uticajem pola na oksidativni stres. Mada nema definitivnog zaključka, izgleda da su žene do menopauze zaštićenije od nastanka kardiovaskularne bolesti u odnosu na muškarce ne samo zbog hormonskog statusa već i zbog pojačane enzimske antioksidativne zaštite (54).

Uticaj godina na ispitivane parametre u kontrolnoj grupi proveren je ANOVA analizom. U zavisnosti od godina svi ispitanici su podeljeni na pet grupa: prvu grupu čine osobe do 30-te godine starosti, drugu grupu od 31-40, treću grupu od 41-50, četvrtu grupu od 51-60 i petu grupu stariji od 61 godine.

Kod zdravih osoba uočen je uticaj godina na koncentraciju BMI ($p=0,003$), uree ($p<0,001$), kreatinina ($p<0,001$), GFR ($p=0,033$), holesterola ($p<0,001$), triglicerida ($p<0,001$) i LDL-h ($p<0,001$) što je u skladu sa literaturnim podacima.

Naša studija potvrđuje i porast koncentracije uree sa godinama i razliku između polova što je već odavno poznata i dobro dokumentovana činjenica (55). Takođe, dobijeni rezultati potvrđuju porast koncentracije kreatinina sa godinama do koje dolazi zbog gubitka renalne funkcije usled starenja kao i niže vrednosti kreatinina kod žena u odnosu na muškarce zbog manje mišićne mase (56, 57). Upravo zbog ovog poznatog uticaja pola i godina na vrednost kreatinina, jednačine za izračunavanje eGFR uključuju korekzione faktore za pol i godine. Novija istraživanja ukazuju da i BMI utiče na tačnost izračunavanja eGFR preko Cockcroft-Gault i Mayo Clinic jednačine ali da ne utiče značajno na tačnost izračunavanja preko MDRD jednačine koju smo koristili u ovom radu (58).

Opšte je poznato da je opadanje vrednosti GFR sa godinama normalan i očekivan fenomen starenja. Opadanje vrednosti GFR počinje između 30 i 40 godine života i kod muškaraca i kod žena a ubrzava se posle 70-te godine. U populacionoj Nijmegen Biomedical Study određene su referentne vrednosti za eGFR na uzorku od 1660 zdravih muškaraca i 2072 zdrave žene starosti od 18 do 90 godina. U starosnim grupama od 25-29 godina, 35-39 godina, 45-49 godina, 55-59 godina i 65-69 godina dobijene su sledeće srednje vrednosti za eGFR: kod muškaraca 93, 85, 83, 76, 75 $\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ a kod žena 85, 79, 74, 70 i 66 $\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ (59).

Ispitivanjem uticaja godina na koncentraciju NT-proBNP nije dokazana statistička značajnost između poređenih grupa verovatno zbog toga što su naši ispitanici mlađi od 75 godina (tabela 12). Brzina glomerularne filtracije normalno opada sa starenjem što utiče na nivo NT-proBNP u krvi. Zbog toga cut-off vrednost za detekciju srčane insuficijencije naglo raste sa vrednosti 125 ng/L na 450 ng/L posle 75 godine života (60).

U našoj studiji nije dokazana razlika u koncentraciji SDMA između ispitivanih starosnih grupa kod zdravih osoba što je u saglasnosti sa literaturnim podacima (tabela 12). U radu Hov i saradnika koji su odredili referentne vrednosti za SDMA takođe nije uočena zavisnost vrednosti SDMA u odnosu na godine starosti u zdravoj populaciji muškaraca i žena starosti od 19 do 69 godina (49).

Kod zdravih osoba u ispitanoj populaciji godine utiču na vrednost hs-CRP ($p=0,003$) i to je u saglasnosti sa rezultatima nekih drugih studija (tabela 13). U radu Macy i saradnika koji su ispitivali uticaj godina na uzorku od 143 dobrovoljna davaoca krvi oba pola starosti od 18 do 67 godina konstatovan je slab uticaj godina na vrednost hs-CRP (61).

S obzirom da kod zdravih osoba nema patologije koja bi mogla da utiče na vrednosti NT-proBNP i SDMA, primenom Pearson korelacione analize ispitan je uticaj ostalih varijabli na koncentracije ova dva parametra (tabela 14). Utvrđeno je da sa starošću raste koncentracija NT-proBNP dok se smanjuje sa porastom koncentracije proteina ($r = - 0,240$; $p=0,043$) i sa porastom koncentracije SDMA ($r = - 0,262$; $p=0,028$).

U našem radu je ustanovljena značajna negativna korelacija između NT-proBNP i SDMA kod zdravih osoba bez znakova srčane i bubrežne bolesti. Poznato je da se NT-proBNP eliminiše putem glomerularne filtracije čija brzina opada sa godinama. Pošto se SDMA potpuno izlučuje putem bubrega i u pozitivnoj je korelaciji sa kreatininom negativna korelacija između NT-proBNP i SDMA je posledica jakog uticaja renalne funkcije na oba parametra.

Jak uticaj godina na koncentraciju NT-proBNP kod zdravih osoba demonstriran je u većem broju studija. U Korea Rural Genomic Cohort Study koja je uključila 1518 osoba oba pola starosti od 40 do 69 godina, dokazana je značajna pozitivna korelacija NT-proBNP sa godinama ($\beta=0,169$; $p=0,000$) kao i odsustvo korelacije sa BMI i kreatininom (62).

U našoj kontrolnoj grupi nije bilo korelacije SDMA sa godinama što je u saglasnosti sa rezultatima Fleck i saradnika koji takođe nisu uočili uticaj ni pola ni godina na koncentraciju SDMA i ADMA u kontrolnoj grupi od 26 zdravih ispitanika oba pola čija je prosečna starost bila 50 godina (63). Miyazaki i saradnici su utvrdili pozitivnu korelaciju ADMA sa godinama kod osoba bez simptoma koronarne i periferne arterijske bolesti (64). Kontraverzni literaturni podaci o uticaju godina na vrednosti ADMA i SDMA zahtevaju dalja istraživanja.

Dalje, dokazali smo značajnu pozitivnu korelaciju SDMA sa koncentracijom kreatinina ($r = 0,381$; $p=0,001$) i značajnu negativnu korelaciju sa GFR ($r = - 0,261$; $p=0,034$) kod zdravih osoba. Faktorskom analizom takođe je dokazana značajna pozitivna korelacija između renalne varijable i koncentracije SDMA (tabela 16).

Nijveldt i saradnici su ispitivali renalnu ekstrakciju SDMA kod zdravih muškaraca sa normalnom bubrežnom funkcijom starosti $63,8 \pm 10,7$ godina i ustanovili su da je SDMA u značajnoj korelaciji sa koncentracijom kreatinina u uzorcima arterijske krvi ($r = 0,607$; $p=0,005$) što ukazuje da nivo SDMA u krvi predominantno zavisi od ekskretorne renalne funkcije (16). Negativna korelacija sa GFR je posledica recipročne matematičke zavisnosti između procenjenje brzine glomerularne filtracije i serumskog kreatinina u MDRD jednačini.

Sa druge strane, ni Pearson-ovom korelacionom analizom ni faktorskom analizom nije konstatovana značajna zavisnost između bubrežne funkcije i koncentracije

NT-proBNP kod zdravih osoba. Najnovija naučna istraživanja ukazuju da je povećanje nivoa BNP i NT-proBNP predominantno rezultat prisustva i težine srčanog oboljenja a ne smanjene bubrežne funkcije, čak i kod bolesnika sa hroničnim bubrežnim oboljenjima (65). Segawa (51) i saradnici su u populacionoj studiji dokazali da je umereno smanjena eGFR nezavisno udružena sa povećanjem koncentracije BNP. Ima više razloga zbog kojih u našoj studiji nije uočena slična korelacija sa NT-proBNP a to su pre svega normalna bubrežna funkcija kod naših zdravih ispitanika, odsustvo kardiovaskularne patologije i eventualno manji broj ispitanika u odnosu na velike populacione studije.

U ovom radu je dokazana značajna negativna korelacija ukupnih proteina sa NT-proBNP ($r = -0,240$; $p=0,043$) i značajna pozitivna korelacija ukupnih proteina sa SDMA ($r = 0,413$; $p=0,001$).

Segawa (51) i saradnici su merili vrednost BNP u populaciji od 8178 Japanaca oba pola prosečne starosti 62 ± 12 godina. Primenom univarijantne logističke regresione analize dokazali su statistički značajnu negativnu korelaciju BNP sa ukupnim proteinima kod oba pola ($p<0,01$ za oba pola). Negativna korelacija BNP i NT-proBNP sa ukupnim proteinima se može objasniti promenama proteinskog turnover-a koje se dešavaju kao normalna posledica starenja. Naime, starenjem dolazi do smanjenja proteinske mase organizma, smanjenja sinteze proteina i povećanja oksidativne degradacije proteina usled pojačanog dejstva slobodnih radikala (66). Gardner (55) i saradnici su u u populaciji od 4000 ispitanika starosti 19 do 88 godina uočili blag pad koncentracije ukupnih proteina sa godinama starosti kod muškaraca ali ne i kod žena.

Arterijska hipertenzija je važan faktor rizika za nastanak HBI i ateroskleroze i često je udružena sa drugim faktorima rizika. Visok krvni pritisak oštećuje celo arterijsko stablo uključujući i krvne sudove u bubregu što dugoročno gledano dovodi do retencije tečnosti i uremijskih toksina u organizmu. Većina starijih osoba sa hipertenzijom ima i abnormalni lipidni profil koji karakterišu povećane vrednosti triglicerida, ukupnog holesterola i LDL-holesterola. Naučna istraživanja su pokazala da su visoke vrednosti holesterola i triglicerida nezavisni faktori rizika za progresiju bubrežne bolesti kod odraslih.

Zato je u ovom radu ispitana veza između hipertenzije i ostalih određivanih parametara kod kontrolne grupe. U zavisnosti od visine krvnog pritiska i godina starosti izvršena je podela kontrolne grupe na četiri podgrupe: normotenzivne mlađe osobe (grupa $0 \leq 50$ godina i HTA-), normotenzivne starije osobe (grupa $1 \geq 51$ godina i HTA-), hipertenzivne mlađe osobe (grupa $2 \leq 50$ godina i HTA+) i hipertenzivne starije osobe (grupa $3 \geq 51$ godina i HTA+) (tabela 19).

U našoj studiji smo pokazali da postoji značajna razlika u renalnim i lipidnim parametrima između normotenzivnih i hipertenzivnih osoba u kontrolnoj grupi. Hipertenzivni ispitanici mlađi od 50 godina imaju više vrednosti ukupnog holesterola, LDL-h i kreatinina u odnosu na normotenzivne osobe istih godina. Hipertenzivni ispitanici obe grupe imaju značajno višu ureu u odnosu na normotenzivne osobe mlađe od 50 godina. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa rezultatima studije Vancea i saradnika koji su takođe dokazali značajno više vrednosti uree, kreatinina, ukupnog holesterola, LDL-h i triglicerida kod starijih osoba sa hipertenzijom u odnosu na normotenzivne osobe istih godina (67).

Dalje, vrednost BMI i triglicerida se ne razlikuju između starosnih grupa kod normotenzivnih osoba, ali mlađi ispitanici bez hipertenzije imaju niže vrednosti BMI i triglicerida u odnosu na ispitanike sa hipertenzijom bez obzira na starost (trigliceridi

grupe 0 i 2 $p < 0,001$; trigliceridi 0 i 3 grupe $p=0,047$; BMI grupe 0 i 2 $p=0,001$; BMI grupe 0 i 3 $p=0,002$). Mlađi ispitanici sa hipertenzijom imaju višu vrednost hs-CRP u odnosu na mlađe ispitanike bez hipertenzije ali bez statističke značajnosti, najverovatnije zbog razlike u broju ispitanika po grupama. Stariji ispitanici sa hipertenzijom imaju značajno višu vrednost hs-CRP u odnosu na starije ispitanike bez hipertenzije ($p=0,008$). U radu Shafi Dar (68) i saradnika hipertenzivne osobe su imale značajno višu vrednost hs-CRP u odnosu na normotenzivnu kontrolnu grupu (3,26 mg/L prema 1,36 mg/L) što je u saglasnosti sa našim vrednostima u kontrolnoj grupi. Veliki broj studija je dokazao vezu između povišenog krvnog pritiska i koncentracije CRP-a. Sa druge strane, samo nekoliko objavljenih studija je negiralo postojanje ove veze i te studije su imale mali broj hipertenzivnih bolesnika (69). Kliničke i epidemiološke studije su uočile specifično udruživanje gojaznosti, hipertenzije, hipertrigliceridemije, sniženog HDL-h, insulinske rezistencije i hiperglikemije i njihov sinergistički uticaj na nastanak KVB. Svi ovi metabolički poremećaji zajedno su definisani kao metabolički sindrom. Osobe sa ovim sindromom imaju povećan rizik da obole od HBI zato što svaki od ovih poremećaja per se može da dovede do oštećenja bubrega. U našem radu najstariji ispitanici sa hipertenzijom imaju najveći BMI, najvišu vrednost hs-CRP i najnižu vrednost HDL-h u odnosu na ostale ispitanike. Yudkin (70) i saradnici su pokazali da je subkutano adipozno tkivo glavni izvor cirkulišućeg IL-6 i da su koncentracije IL-6 i CRP u jakoj korelaciji sa BMI. Takođe, pokazali su da postoji veza između proinflatornih citokina (IL-6), proteina akutne faze (CRP, fibrinogen), parametara insulinske rezistencije (krvni pritisak, trigliceridemija, HDL-h, insulinska osetljivost) i markera endotelne disfunkcije (trombomodulin, fibronektin, von Willebrandov faktor) što objašnjava sinergizam različitih faktora rizika i njihov štetan efekat na kardiovaskularni sistem.

Što se tiče NT-proBNP, utvrdili smo da je njegova vrednost značajno različita između različitih starosnih grupa sa HTA ($p=0,01$), kao i između mlađih osoba bez HTA i starijih osoba sa HTA ($p=0,02$). U ovom radu je više puta naglašeno da je NT-proBNP u inverznoj korelaciji sa GFR i da se zbog toga akumulira u krvi sa smanjenjem GFR (71). Da bi utvrdili da li na dobijene vrednosti NT-proBNP u kontrolnoj grupi utiče funkcija bubrega, izvršili smo korekciju dobijenih vrednosti u odnosu na kreatinin (slike 3 i 4). Posle korekcije, vrednosti NT-proBNP su se i dalje značajno razlikovale između istih grupa. Činjenica da na ovu razliku nije uticala vrednost kreatinina tj. GFR ukazuje da su veće vrednosti NT-proBNP kod hipertenzivnih osoba posledica njegove srčane produkcije a ne renalnog klirensa.

U ovom radu nije bilo razlike u koncentraciji SDMA u zavisnosti od visine krvnog pritiska i godina starosti kod kontrolne grupe. Surdacki (47) i saradnici su dokazali prisustvo povišene koncentracije ADMA kod muškaraca sa novotkrivenom i nelečenom hipertenzijom. Druge studije su uočile povišenu koncentraciju ADMA kod hipertenzivne dece i trudnica što je ukazalo da ADMA možda ima aktivnu ulogu u ranoj fazi nastanka hipertenzije (72, 73).

Päivä (74) i saradnici su izmerili koncentracije ADMA i SDMA kod 47 mlađih, zdravih muškaraca (sistolni pritisak 114 ± 12 mmHg; dijastolni pritisak 63 ± 8 mmHg) i 16 muškaraca sa graničnom hipertenzijom (sistolni pritisak 137 ± 22 mmHg; dijastolni pritisak 82 ± 10 mmHg). Konstatovano je da krvni pritisak ne utiče na vrednosti ADMA i SDMA (normotenzivni muškarci $0,33\pm 0,08$ $\mu\text{mol/L}$ prema hipertenzivni muškarci $0,33\pm 0,06$ $\mu\text{mol/L}$ SDMA) što se slaže sa rezultatom naše studije.

U ovom radu upoređene su vrednosti ispitivanih parametara između zdravih osoba, bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom (tabele 20 i 21).

Zdrave osobe imaju očekivano niže vrednosti uree i kreatinina i značajno viši GFR u odnosu na bolesnike sa HBI i transplantiranim bubregom dok bolesnici sa HBI imaju očekivano više vrednosti uree i kreatinina i značajno niži GFR u odnosu na bolesnike sa transplantiranim bubregom ($p < 0,001$ za sve grupe).

Kod obolelih od HBI dolazi do povećane propustljivosti glomerularne membrane i do gubitka proteina putem urina što snižava koncentraciju proteina u krvi. Zbog toga, zdravi ispitanici imaju značajno višu koncentraciju proteina u odnosu na bolesnike sa HBI ($p < 0,001$) dok je razlika u odnosu na bolesnike sa transplantiranim bubregom na granici statističke značajnosti ($p=0,05$). Takođe, HBI bolesnici imaju značajno nižu vrednost albumina u odnosu na RT bolesnike ($p=0,005$) što se slaže sa literaturnim podacima. U radu Fleck (63) i saradnika u grupi od 96 HBI i 40 RT bolesnika dobijene su sledeće vrednosti za albumin: $36,85 \pm 0,93$ g/L prema $42,97 \pm 1,88$ g/L.

Naši bolesnici sa HBI su imali za 78% više vrednosti SDMA u odnosu na kontrolnu grupu što ukazuje na zavisnost koncentracije SDMA od bubrežne funkcije. Posle transplantacije, vrednost SDMA pada na vrednost kao kod zdravih osoba: $1,30$ ($0,89-1,74$) $\mu\text{mol/L}$ (tabela 21). Fleck (63) i saradnici su izmerili četiri puta više vrednosti SDMA kod HBI bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu dok je izmerena vrednost posle transplantacije u saglasnosti sa našim rezultatom ($1,21 \pm 0,12$ $\mu\text{mol/L}$). U drugom radu, Fleck (75) i saradnici su dokazali da su koncentracije ADMA i SDMA povećane kod HBI bolesnika. Povećanje je naročito izraženo za SDMA (srednja vrednost $2,05$ $\mu\text{mol/L}$) dok je vrednost ADMA umereno povećana. Posle transplantacije bubrega vrednost SDMA se vratila na normalu (srednja vrednost $1,15$ $\mu\text{mol/L}$) dok je vrednost ADMA ostala povišena. Naši rezultati su u saglasnosti sa studijom Fleck-a i saradnika.

Koncentracija NT-proBNP je značajno niža kod zdravih osoba u odnosu na HBI bolesnike i RT bolesnike ($p < 0,001$ za obe grupe). Interesantno je da nije bilo značajne razlike u koncentraciji NT-proBNP između HBI i RT grupe.

U studiji Roberts-a (76) i saradnika izmerena je koncentracija NT-proBNP kod bolesnika koji nisu na dijalizi, bolesnika na dijalizi i bolesnika sa transplantiranim bubregom. Razlike u koncentraciji između grupa bile su statistički značajne. U okviru ovih grupa, bolesnici sa istorijom KVB su imali značajno višu vrednost NT-proBNP u odnosu na one bez KVB, sa izuzetkom transplantiranih bolesnika.

Wei (77) i saradnici ispitivali su dinamičke promene u koncentraciji BNP posle transplantacije bubrega. Značajno smanjenje koncentracije je uočeno posle 24 časa ali je posle tri meseca BNP u proseku bio i dalje viši nego kod zdravih osoba. Naši rezultati za NT-proBNP su u saglasnosti sa rezultatima za BNP. Kod naših transplantiranih bolesnika (prosečan vremenski period posle transplantacije $9,56 \pm 5,27$ godina) koncentracija NT-proBNP nije značajno niža u odnosu na HBI bolesnike i još uvek je viša od cut-off vrednosti za isključivanje srčane insuficijencije (cut-off vrednost < 125 ng/L). Postoje dva moguća objašnjenja. Prvo, transplantacija nije uspela da kompletno obnovi bubrežnu funkciju kod naših bolesnika. Drugo, iako RT bolesnici imaju bolju funkciju bubrega nego HBI bolesnici, srčana funkcija je ostala oštećena usled dugotrajnog prisustva bubrežne bolesti. Može se reći da vrednost NT-proBNP reflektuje promene u bubrežnoj funkciji kod naših ispitanika posle transplantacije ali su potrebna dodatna istraživanja da bi se utvrdilo da li određivanje NT-proBNP može da posluži kao marker disfunkcije i/ili odbacivanja kalema.

U našem radu dokazali smo da je koncentracija superoksidnog anjona značajno viša kod obe grupe bolesnika u odnosu na zdrave osobe ($p < 0,001$ za sve grupe) što je u saglasnosti sa literaturnim podacima. U krvi obolelih od HBI pronađen je povišen nivo oksidativnih markera i to u ranim stadijumima bolesti (78, 79).

Kod HBI bolesnika gradus 1-2 uočena je abnormalno povećana NADPH-zavisna generacija superoksidnog anjona u limfocitima i monocitima (80). U eritrocitima HBI bolesnika Yilmaz (81) i saradnici su izmerili smanjenu aktivnost SOD i smanjene vrednosti cinka i bakra u odnosu na eritrocite zdravih osoba. Na osnovu do sada poznatih činjenica, može se zaključiti da do povećanja O_2^- kod HBI dolazi zbog njegovog povećanog stvaranja, oslabljenog zaštitnog antioksidativnog sistema i smanjenog klirensa. Dobijeni rezultati u ovom radu dokazuju da oksidativni stres ima aktivnu ulogu u nastanku i progresiji hronične bubrežne bolesti.

U ovom radu, bolesnici sa HBI imaju značajno niže vrednosti hs-CRP, IL-6 i SAA u odnosu na RT bolesnike što ukazuje da transplantacija bubrega popravlja bubrežnu funkciju ali ne i inflamaciju. Ovi rezultati su značajan dokaz da u organizmu bolesnika u poslednjoj fazi bubrežne bolesti postoje faktori koji utiču na post-transplantacionu inflamatornu aktivnost i da transplantacija per se ne utiče na ove faktore.

Hiperurikemija je često udružena sa bubrežnom bolešću i smatra se markerom bubrežne disfunkcije a ne faktorom progresije bolesti. Između 20 i 60% obolelih od gihta ima blagu ili umerenu bubrežnu disfunkciju. Ipak, postoje kontraverze u pogledu etiološke uloge mokraćne kiseline u nastanku i razvoju bubrežne bolesti. Studija Kang (82) i saradnika je pružila dokaze da hiperurikemija izaziva hipertenziju i bubrežnu hipertrofiju i ubrzava progresiju bubrežne bolesti kod pacova a da oštećenje bubrega nije nastalo usled intrarenalne depozicije uratnih kristala. U našem radu dokazano je da HBI bolesnici imaju značajno višu vrednost mokraćne kiseline u odnosu na RT bolesnike, što se može objasniti poboljšanjem bubrežne funkcije posle transplantacije.

Kod HBI bolesnika nismo imali značajnu razliku između starosnih grupa za bubrežne parametre, kao što je to bio slučaj kod kontrolne grupe. Na osnovu toga se može zaključiti da težina bubrežne bolesti maskira i nadvladava uticaj godina na ove parametre (tabela 24).

Abnormalnosti u metabolizmu lipida i lipoproteina se dešavaju u svim stadijumima HBI. Lipoproteini svih klasa imaju tendenciju promene ka malim, gustim, proaterogenijim izoformama. Zbog smanjenog klirensa akumuliraju se apo B lipoproteini a HDL postaje manje efektivan zbog smanjene paraoksonazne aktivnosti. Povećana propustljivost glomerularne membrane dovodi do gubitka apo C-II, aktivatora lipoproteinske lipaze. LDL iz cirkulacije se vezuje za bazalne glomerularne mebrane i još više povećava njihovu permeabilnost. Sve ovo dovodi do dislipidemije koja se u najvećem broju slučajeva karakteriše povećanom koncentracijom triglicerida i LDL-h, smanjenom koncentracijom HDL-h dok ukupan holesterol može biti čak normalan ili snižen zbog malnutricije (83).

U našoj studiji, kod kontrolne grupe (tabela 11) i kod HBI bolesnika (tabela 25) uočen je trend povećanja koncentracije ukupnog holesterola, LDL-h i triglicerida sa godinama mada je on bio izraženiji u kontrolnoj grupi. Kod bolesnika, koji pripadaju starijoj populaciji, promene u lipidnom metabolizmu se mogu pripisati ne samo osnovnoj bolesti već i starenju. Poznato je da je većina HBI bolesnika u zreloj dobi,

tako da dislipidemija doprinosi povećanom mortalitetu od KVB kod ove populacije (84).

Proces starenja je udružen sa promenama u regulaciji i produkciji citokina, što dovodi do disregulacije imunog i inflamatornog odgovora. IL-6 je citokin sa kompleksnom i višestrukom funkcijom u regulaciji imunog odgovora, uključujući i reakciju akutne faze. Sinteza IL-6 je u stanju zdravlja toliko niska da se njegova koncentracija često ne može ni detektovati u odsustvu bolesti. Iz tog razloga nismo određivali vrednost ovog citokina u našoj kontrolnoj grupi. Literaturni podaci o uticaju starenja na vrednost IL-6 su kontraverzni. Daynes (85) i saradnici su prijavili veću produkciju IL-6 kod starijih osoba u odnosu na mlađe dok su Beharka (86) i saradnici došli do zaključka da godine nemaju uticaja na promene u koncentraciji IL-6. U ovom radu je dokazano da najstariji HBI bolesnici imaju znatno višu vrednost IL-6 u odnosu na najmlađe HBI bolesnike ($p < 0,05$; tabela 26). Kod naših ispitanika povećane vrednosti IL-6 su verovatno posledica udruženog delovanja godina i bolesti i ne mogu se objasniti samo prirodnim procesom starenja. IL-6 je citokin koji indukuje sintezu CRP, SAA i fibrinogena u jetri pa je bilo realno očekivati da kod naših ispitanika vrednosti ovih parametara prate vrednosti IL-6. Međutim, nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima za hs-CRP ($p = 0,09$) i SAA ($p = 0,429$) između starosnih grupa. Dobijena je statistička značajnost za porast koncentracije fibrinogena sa godinama ($p = 0,004$) mada ne kod istih starosnih grupa kao za IL-6. Nesledljivost dobijenih rezultata verovatno je posledica malog broja ispitanika po grupama.

Iako poremećaj metabolizma glukoze kod HBI nije bio predmet ove studije, uočili smo da se koncentracija glukoze povećava sa godinama starosti kod naših HBI ispitanika ($p < 0,001$; tabela 27). Abnormalnosti u metabolizmu glukoze, insulinska rezistencija i posledična hiperinsulinemija doprinose nastanku i razvoju ateroskleroze i njenih komplikacija kod hroničnih bubrežnih bolesnika (87).

Kod naših ispitanika prisutan je veći broj tradicionalnih aterogenih faktora rizika kao što su godine, hipertenzija, dislipidemija kao i novi faktori rizika kao što su fibrinogen i homocistein. Svi ovi faktori zajedno doprinose razvoju kardiovaskularnih komplikacija kod osoba sa smanjenom bubrežnom funkcijom.

Homocistein je novi faktor rizika za nastanak bubrežne i kardiovaskularne bolesti i predmet je intenzivnog naučnog proučavanja. Dosadašnje studije su pokazale iznenađujuće konfliktne rezultate u pogledu veze između homocisteina i KVB. U ovoj studiji, dokazali smo da najmlađi bolesnici sa HBI imaju značajno niže vrednosti homocisteina ($p = 0,042$) i O_2^- ($p = 0,004$) u odnosu na najstarije bolesnike (tabela 27). Kod zdravih osoba nismo imali promenu vrednosti superoksidnog anjona sa godinama starosti a homocistein nije izmeren u kontrolnoj grupi.

Studije na ćelijskim i životinjskim modelima kao i humane studije sugerišu da povišena vrednost homocisteina smanjuje biorasploživost NO putem oksidativnog stresa (88). Naime, homocistein sa jedne strane povećava produkciju O_2^- a sa druge strane inhibira DDAH i time povećava akumulaciju ADMA u organizmu (15). Takođe, najnoviji dokazi ukazuju da ADMA direktno ubrzava prirodno starenje endotelnih ćelija i da endotelna funkcija progresivno opada sa starenjem (89, 90). Nažalost, u ovoj studiji nismo odredili koncentraciju ADMA koja bi potvrdila gore navedene činjenice. Što se tiče SDMA, kod zdravih ispitanika nije bilo promene SDMA sa godinama ali se kod obolelih od HBI pojavila statistički značajna razlika između najmlađih i najstarijih ispitanika, s tim što su najmlađi imali više vrednosti SDMA u odnosu na najstarije (1,47

$\mu\text{mol/L}$ prema $1,38 \mu\text{mol/L}$). Ovaj rezultat na prvi pogled deluje paradoksalno, ali treba imati u vidu da vrednost SDMA, za razliku od ADMA, direktno zavisi od bubrežne funkcije. Zbog toga je izvršena korekcija vrednosti SDMA u odnosu na GFR. Posle korekcije, zadržala se statistički značajna razlika između starosnih grupa ($p=0,039$) ali su najmlađi HBI bolesnici posle korekcije imali nižu vrednost SDMA u odnosu na najstarije (grupa I $2,31 \mu\text{mol/L}$ prema grupa V $3,71 \mu\text{mol/L}$ SDMA).

Hipoalbuminemija je snažan prediktor mortaliteta kod obolelih od hronične bubrežne bolesti. U hroničnoj bubrežnoj insuficijenciji, hipoalbuminemija nastaje kao rezultat kombinovanog efekta inflamacije i neadekvatnog proteinskog i kalorijskog unosa. Inflamacija preko citokina redukuje koncentraciju albumina a indukcijom anoreksije redukuje unos proteina i povećava katabolizam endogenog albumina. U organizmu albumin služi kao rezervoar za NO tako da hipoalbuminemija direktno smanjuje biorasploživost NO i smanjuje endotel zavisnu vazodilataciju. Za sada, hipoalbuminemija se smatra markerom inflamacije i malnutricije kod ovih pacijenata (91).

Kod transplantiranih bolesnika nije bilo razlike u koncentraciji ispitivanih parametara između starosnih grupa osim za albumin i to je dokaz da transplantacija značajno popravlja ne samo bubrežnu funkciju već i opšte stanje zdravlja obolelih (tabela 30).

Bolesnici sa transplantiranim bubregom imaju više vrednosti albumina u odnosu na HBI bolesnike ($p=0,005$; tabela 21) što je još jedna potvrda da transplantacija popravlja bubrežnu funkciju. S druge strane, konstatovano je da RT bolesnici starosti 31-40 godina i 41 do 50 godina imaju više vrednosti albumina u odnosu na bolesnike starosti 51 do 60 godina ($p<0,05$ za obe grupe) ali su vrednosti albumina kod svih starosnih grupa u opsegu referentnih vrednosti.

Mark (92) i saradnici su pokazali da postoji značajna negativna korelacija između BNP i GFR ($r = - 0,40$; $p<0,001$) kod hroničnih bubrežnih bolesnika koji nisu na dijalizi i kod bolesnika sa transplantiranim bubregom. U istom radu, glavne determinante log BNP bili su GFR, albumin i godine u udruženoj grupi HBI i RT bolesnika. Naši rezultati za NT-proBNP su u dobroj saglasnosti sa navedenim podacima ($r = - 0,596$; $p<0,001$; tabela 34). U multiploj linearnoj regresionoj analizi, nezavisni prediktori povišene koncentracije NT-proBNP kod naših HBI bolesnika bili su starije godine, povišen kreatinin i snižen albumin. Relativno male bubrežne abnormalnosti kao što su blago snižen GFR ili mikroalbuminurija čak i opsegu normalnih vrednosti mogu biti udružene sa povećanim rizikom za KVB (93). PREVEND studija (The Prevention of Renal and Vascular End Stage Renal Disease) je pokazala da je dupliranje vrednosti urinarnog albumina udruženo sa 29% povećanjem relativnog rizika za HBI mortalitet (94). Kod osoba starijih od 65 godina čak je i umereno smanjenje funkcije bubrega udruženo sa lošijim KVB ishodom (95).

Aktuelni problem je istraživanje mehanizma koji povezuje koncentraciju NT-proBNP sa bubrežnom funkcijom. Klirens NT-proBNP u ljudskom organizmu ima nepoznanica ali male količine ovog propetida mogu se naći u urinu što ukazuje da njegov nivo u krvi zavisi od funkcije bubrega. Kod pacijenata na dijalizi, koncentracija NT-proBNP je značajno povišena (96). Povišena vrednost NT-proBNP kod naših bolesnika možda jednostavno reflektuje smanjenje bubrežnog klirensa kao posledicu primarne bolesti. Ipak, širok opseg dobijenih NT-proBNP vrednosti u PRIDE studiji ukazuje da je redukovani klirens samo jedan od mehanizama koji povećava koncentraciju NT-proBNP kod bubrežnih bolesnika (97). Pošto se NT-proBNP uklanja

iz organizma isključivo preko bubrega, povećanje NT-proBNP vrednosti u krvi zavisi i od bubrežne i od srčane funkcije (98). Spanaus (99) i saradnici su ustanovili da povećana koncentracija NT-proBNP ukazuje na povećani rizik za ubranu progresiju HBI sve do završne faze bubrežne bolesti.

U našem radu, dokazali smo značajnu korelaciju između koncentracije NT-proBNP i inflamatornih biomarkera IL-6, hs-CRP i fibrinogena (tabela 34). Uzroci ove korelacije mogu biti posledica različitih faktora. Poznato je da proinflamatorni citokini izazivaju odgovor organizma na inflamaciju. Štaviše, IL-6 stimuliše produkciju rekatanata akutne faze u jetri kao što su CRP i fibrinogen. IL-6 je naročito interesantan biomarker zato što utiče i na bubrežnu funkciju, retenciju uremijskih toksina, preopterećenje srca zapreminom i srčanu insuficijenciju (100). Tanaka (101) i saradnici su dokazali da IL-6 značajno povećava ekspresiju ANP i BNP informacione RNA u kulturi mišjih ventrikularnih miocita. Zbog toga, korelacija između NT-proBNP i inflamatornih biomarkera kod naših pacijenata je posledica uticaja IL-6 i na srčanu i na bubrežnu funkciju.

Interesantno, SDMA nije u značajnoj korelaciji sa inflamatornim parametrima kao što su hs-CRP i IL-6 u grupi HBI bolesnika. U studiji Bode-Böger (102) i saradnika, SDMA nije bio u značajnoj korelaciji sa hs-CRP ali je bio u značajnoj korelaciji sa IL-6. Nedavna studija Schepers-a (103) je dokazala da SDMA ispoljava proinflamatorni efekat putem stimulacije stvaranja ROS u monocitima što može biti okidač za vaskularno oštećenje. Veza između SDMA i inflamacije u HBI treba da bude cilj budućih studija.

Koristeći multiplu regresionu analizu, pokazali smo da je SDMA, posle korekcije u odnosu na ispitivane parametre, u značajnoj vezi sa GFR i koncentracijom NT-proBNP HBI grupi i sa kreatininom u RT grupi. Ovaj rezultat je u saglasnosti sa radom Codognotto i saradnika (104).

Da bi procenili promene ispitivanih parametara u odnosu na stepen oštećenja glomerularne funkcije bolesnici sa HBI i bolesnici sa transplantiranim bubregom su podeljeni na po dve grupe u zavisnosti od vrednosti GFR. Svi bolesnici su imali umereno ($GFR\ 30\text{--}59\ \text{ml/min/1,73m}^2$) do teško ($GFR < 30\ \text{ml/min/1,73m}^2$) oštećenu glomerularnu funkciju (tabele 35, 36).

U ovoj studiji, NT-proBNP i SDMA su značajno viši u grupi sa teškim u odnosu na grupu sa umerenim glomerularnim oštećenjem i kod HBI bolesnika i kod bolesnika sa transplantiranim bubregom.

Studija Chenevier-Gobeaux (105) i saradnika je ispitivala uticaj bubrežne funkcije na vrednost NT-proBNP kod dispnoičnih bolesnika u urgentnoj službi. Cut-off vrednosti za NT-proBNP rastu uporedo sa kategorijama GFR: od 1360 pg/ml kod bolesnika sa $GFR\ 60\text{--}89\ \text{ml/min/1,73m}^2$, do 6550 pg/ml kod bolesnika sa $GFR\ 15\text{--}29\ \text{ml/min/1,73m}^2$.

Studija Wang (10) i saradnika ispitala je vezu između umerene bubrežne disfunkcije ($GFR > 45\ \text{ml/min/1,73m}^2$) i faktora rizika za nastanak koronarne arterijske bolesti i utvrđeno je postojanje značajne korelacije između GFR i sledećih parametara: SDMA ($r = -0,328$; $p < 0,001$); homocistein ($r = -0,291$; $p < 0,001$); kreatinin ($r = -0,399$; $p < 0,001$); LDL-h ($r = -0,135$; $p = 0,043$); HDL-h ($r = -0,195$; $p = 0,003$); dok nije bilo korelacije sa godinama, ukupnim holesterolom i CRP. Kod naših HBI bolesnika HDL-h je značajno niži u grupi sa $eGFR < 30\ \text{ml/min/1,73m}^2$ dok su urea, kreatinin,

mokraćna kiselina, trigliceridi, fibrinogen i homocistein značajno viši u grupi sa $eGFR < 30$ ml/min/1,73m².

Manjunath (95) i saradnici su ispitali vezu između bubrežne funkcije (grupe GFR: 15–59 ml/min/1,73m²; 60–89 ml/min/1,73m² i 90–130 ml/min/1,73m²) u populaciji 4893 osobe starije od 65 godina. Bolesnici sa nižim GFR imali su niži HDL-h i viši kreatinin, trigliceride i fibrinogen što je u saglasnosti sa našim rezultatima.

Interesantno je da smo u našem radu dokazali da je fibrinogen značajno viši u grupi sa teškim u odnosu na grupu sa umerenim glomerularnim oštećenjem i kod HBI bolesnika i kod bolesnika sa transplantiranim bubregom. Tromboza i inflamacija igraju važnu ulogu u procesu aterogeneze, naročito u njenoj progresiji. Hiperfibrinogemija je udružena sa starenjem, ženskim polom, povišenim nivoom LDL-h i triglicerida, sniženim nivoom HDL-h, gojaznošću, pušenjem, fizičkom neaktivnošću, diabetesom i hipertenzijom. Pored svoje osnovne uloge u koagulacionoj kaskadi, fibrinogen stimuliše migraciju i proliferaciju glatkih mišićnih ćelija, pomaže agregaciju trombocita, povećava viskoznost krvi i predstavlja važnu komponentu aterosklerotske lezije uz holesterol i njegove estre. In vivo, fibrinogen se adsorbuje ne samo na i oko aterosklerotskih lezija već i na citoplazmatske membrane trombocita i makrofaga. One lezije koje sadrže visok procenat holesterol-estara poseduju i veliki afinitet za fibrinogen čime se delimično može objasniti i trombotička predispozicija ovih lezija (106, 107). Povećan nivo fibrinogena kod naših ispitanika sa smanjenom bubrežnom funkcijom treba tumačiti u sklopu povećanog kardiovaskularnog rizika, mada do danas nije sasvim jasno da li je povećan fibrinogen sam po sebi faktor rizika ili je inflamatorni marker koji ukazuje na prisustvo uznapredovale ateroskleroze kod ovih bolesnika.

KVB je glavni uzrok smrtnosti kod pacijenata u terminalnoj fazi bubrežne bolesti i veća je verovatnoća da će takav pacijent umreti od kardiovaskularne bolesti nego što će dočekati dijalizu. Veza između bubrežne i kardiovaskularne bolesti je složena i još uvek u velikoj meri nepoznata. Sistolna i dijastolna disfunkcija su znaci hipertrofije leve komore koja je česta pojava kod bubrežnih bolesnika. Ovakvo srce ne može da pumpa krv bogatu kiseonikom u perifernu cirkulaciju. Tada se telo zamara zato što ne prima dovoljno kiseonika i simptomi se prvo javljaju pri fizičkom naporu a kako bolest napreduje i u stanju mirovanja. Zbog pritiska u plućnim venama razvija se plućni edem i dispneja.

Dijagnostikovanje insuficijencije leve komore se konvencionalno zasniva na specifičnim metodama kao što su ehokardiografija i određivanje koncentracije BNP/NT-proBNP u krvi i nespecifičnim metodama kao što su klinički pregled, EKG i rentgenski snimak grudnog koša. Povećanje rezidualne zapremine krvi na kraju dijastole u levoj komori je prvi znak otpočinjanja insuficijencije leve komore što znači da dijastolna disfunkcija prethodi sistolnoj disfunkciji. Dosadašnje studije su se mahom bavile dijagnostičkim potencijalom BNP i NT-proBNP za detekciju sistolne disfunkcije. Populaciona studija Redfield-a (108) i saradnika je ukazala da BNP može biti sub-optimalni marker i za detekciju dijastolne disfunkcije. Druge studije su potvrdile da je određivanje NT-proBNP koristan dijagnostički i prognostički marker za kongestivnu srčanu bolest i sistolnu disfunkciju leve komore (26). Karakteristično je da se porast natriuretskih peptida javlja pre pojave simptoma srčane insuficijencije.

Nažalost, nema dovoljno relevantnih naučnih činjenica koje povezuju koncentraciju NT-proBNP i dijastolnu disfunkciju, naročito kod HBI bolesnika i bolesnika sa transplantiranim bubregom. Većina objavljenih radova do sada bavila se vezom između sistolne disfunkcije i NT-proBNP ali pošto dijastolna disfunkcija nastaje

pre sistolne nas je zanimalo da li do povećanja koncentracije NT-proBNP dolazi na samom početku srčane insuficijencije kod bubrežnih bolesnika.

Pretpostavlja se da je akumulacija SDMA u krvi obolelih od HBI udružena sa hipertenzijom i kardiovaskularnom bolešću (45). Studija Fleck i saradnika je zaključila da je ne samo ADMA, već i SDMA odgovoran za nastanak hipertenzije i to najverovatnije zbog kompeticije sa argininom u bubrezima (75). Udruženi efekti hipertenzije, anemije, ateroskleroze i opterećenja volumenom kod hroničnih bubrežnih bolesnika dovode do strukturnih abnormalnosti na srčanom mišiću što za posledicu ima dijastolnu i sistolnu disfunkciju (3). Zbog nedovoljno poznate patofiziološke interakcije između srca i bubrega a i zbog njene važnosti, pretpostavili smo da povećane koncentracije SDMA i NT-proBNP mogu biti markeri dijastolne disfunkcije i srčane insuficijencije kod pacijenata sa bubrežnom disfunkcijom. Određivanje ADMA i NT-proBNP može da identifikuje osobe sa povećanim rizikom za nastanak strukturnih i funkcionalnih srčanih abnormalnosti u različitim stadijumima HBI (109). Lubien (110) i saradnici su dokazali da je, u odsustvu sistolne disfunkcije leve komore, nivo BNP značajno viši kod osoba sa dijastolnom disfunkcijom u poređenju sa osobama bez dijastolne disfunkcije.

U našoj studiji, veza između koncentracije SDMA, NT-proBNP i dijastolne disfunkcije je bila izraženija kod RT u odnosu na HBI bolesnike (tabela 38). Takođe, RT bolesnici sa dijastolnom disfunkcijom su imali više vrednosti IL-6 i SAA u odnosu na HBI bolesnike sa dijastolnom disfunkcijom. Povišene vrednosti markera inflamacije mogu biti razlog za ubranu aterosklerozu i njene kliničke komplikacije uprkos poboljšanju bubrežne funkcije kod transplantiranih bolesnika. Brojne studije su već ukazale na nezavisnu asocijaciju između kardiovaskularnog ishoda i različitih markera inflamacije kod HBI bolesnika.

Dalje, RT bolesnici sa dijastolnom disfunkcijom imali su više vrednosti NT-proBNP i SDMA u odnosu na RT bolesnike bez dijastolne disfunkcije. Ovo može biti posledica prisustva srčane insuficijencije ili dugotrajne bubrežne bolesti. Izvršena je korekcija vrednosti SDMA i NT-proBNP u odnosu na dužinu bubrežne bolesti da bi se utvrdilo da li trajanje same bolesti utiče na porast vrednosti ovih parametara kod RT bolesnika sa dijastolnom disfunkcijom. Prema rezultatima ANKOVA analize, oba parametra su i posle korekcije ostala povišena što znači da trajanje bolesti nema uticaja na koncentraciju SDMA i NT-proBNP kod bolesnika sa transplantiranim bubregom. Ista korekcija je izvršena i u odnosu na GFR, ali se posle ove korekcije izgubila značajnost razlike između grupa sa i bez dijastolne disfunkcije. Na osnovu toga je zaključeno da su vrednosti SDMA i NT-proBNP zavisne od bubrežne funkcije kod bolesnika sa dijastolnom disfunkcijom i transplantiranim bubregom. Dobijeni rezultati ukazuju da postoji interakcija između srčane i bubrežne funkcije kod ovih bolesnika. Mark (92) i saradnici su ustanovili da GFR ispoljava jači uticaj na BNP nego ventrikularna funkcija kod HBI i RT bolesnika.

Interesantno je da HBI bolesnici sa dijastolnom disfunkcijom imaju niže vrednosti homocisteina u odnosu na bolesnike bez dijastolne funkcije (tabela 38). Razlog za to može biti nedovoljan broj ispitanika po grupama ali postoji i mogućnost da homocistein nije važan kao drugi faktori rizika u etiologiji srčane insuficijencije kod hroničnih bubrežnih bolesnika.

Endotelna disfunkcija, oksidativni stres i inflamacija su prepoznati kao novi faktori rizika za nastanak HBI. Njihova međusobna interakcija je još uvek nedovoljno

proučena. Sve je veći broj dokaza da povećana koncentracija ADMA ispoljava efekat na kardiovaskularni sistem kod obolelih od HBI (19). Takođe, povećana koncentracija ADMA je udružena sa povećanim morbiditetom, mortalitetom i slabljenjem funkcije kalema kod bolesnika sa transplantiranim bubregom (20). Uloga SDMA je za sada nepoznata i predmet je naučnog istraživanja. Značaj različitih inflamatornih markera je isto od velikog interesa kod hroničnih bubrežnih bolesnika. Zbog svega navedenog, naša studija je fokusirana na istraživanje biomarkera koji reprezentuju ove netradicionalne faktore rizika: SDMA kao marker endotelne funkcije, O_2^- kao marker oksidativnog stresa i CRP, IL-6 i SAA kao markere inflamacije. Ispitali smo postojanje veze između SDMA, inflamacije i O_2^- sa endotelnom disfunkcijom i potencijal ovih markera da detektuju endotelnu disfunkciju kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom. Takođe, proverili smo i eventualno postojanje veze između ostalih ispitivanih parametara i endotelne funkcije kod naših ispitanika (tabele 39, 40).

Dobijeni rezultati dokazuju da je oštećena endotelna funkcija udružena sa povećanom inflamatornom aktivnošću kod HBI bolesnika jer smo imali značajno povećane vrednosti, IL-6, hs-CRP i SAA u grupi sa oštećenom endotelnom funkcijom u odnosu na neoštećenu. Kao što je ranije naglašeno, IL-6 indukuje sintezu CRP i SAA tako što stvara komplekse sa nukleolarnim proteinima u hepatocitima dok CRP snižava ekspresiju endotelne azot oksid sintaze (eNOS) (111, 112).

Nema mnogo literaturnih podataka o vezi između IL-6, CRP i/ili SAA i endotelne funkcije kod bolesnika sa transplantiranim bubregom. Cueto-Manzano (113) i saradnici su utvrdili da se vrednost CRP posle transplantacije snižava uprkos porastu vrednosti IL-6.

Endotelna funkcija se poboljšava posle transplantacije bubrega, ali ne u ranom post-transplantacionom periodu (114). Dugoročno posmatrano, transplantacija popravlja endotelnu funkciju ali ne i inflamaciju. Ovo otkriće ukazuje da neki drugi faktori utiču na post-transplantacionu aktivnost pojedinih markera inflamacije. Rezultati naše studije su u saglasnosti sa prethodnim studijama zato što nismo našli značajnu razliku između grupa sa oštećenom i neoštećenom endotelnom funkcijom kod bolesnika sa transplantiranim bubregom.

Iako su abnormalnosti u metabolizmu lipida i lipoproteina kao i kardiovaskularna bolest uobičajene komplikacije posle transplantacije bubrega, nije dokazana uzročna veza između dislipidemija i kardiovaskularnog rizika kod ove populacije. Povećanje vrednosti LDL-h je često posle transplantacije kao posledica imunosupresivne terapije (32, 115, 116).

U našem radu, nivo LDL-h je značajno viši u grupi sa oštećenom endotelnom funkcijom u odnosu na neoštećenu kod RT bolesnika. Ova razlika je ostala značajna i posle korekcije dobijenih vrednosti u odnosu na GFR. Imajući u vidu da je endotelna disfunkcija prvi korak u nastanku ateroskleroze, više vrednosti LDL-h kod ovih ispitanika mogu biti posledica zajedničkog efekta endotelne disfunkcije i imunosupresivne terapije.

Pošto veza između koncentracije SDMA i endotelne funkcije kod HBI bolesnika i bolesnika sa transplantiranim bubregom do sad nije dovoljno istražena, ispitali smo da li povišene vrednosti SDMA predviđaju oštećenje endotelne funkcije (FMD). Upotrebili smo binarnu logističku regresionu analizu da ispitamo da li hs-CRP, IL-6, SAA, SDMA i O_2^- imaju potencijal da predvide oštećenu FMD. Nekorigovana analiza je pokazala da su visoke vrednosti hs-CRP i SDMA udružene sa oštećenom FMD kod HBI i RT

bolesnika (tabela 41). Posle korekcije u odnosu na GFR koja je izvršena multivarijantnom analizom dokazano je da povišene vrednosti oba parametra mogu da predvide oštećenu FMD ($p=0,006$ za hs-CRP i $p=0,045$ za SDMA). Bolesnici sa koncentracijom hs-CRP višom od najviše tercilne vrednosti imaju 3,7 puta, dok osobe sa visokim SDMA imaju 3,3 puta veću verovatnoću da razviju oštećenje endotelne funkcije u odnosu na bolesnike sa nižim vrednostima nezavisno od bubrežne funkcije.

Brojne studije su ukazale na postojanje veze između koncentracije ADMA i endotelne disfunkcije kod bubrežnih oboljenja i drugih patoloških stanja (117-121). Glavni metabolički put ADMA je enzimska degradacija preko DDAH dok je renalna ekskrecija od manjeg značaja. Za razliku od ADMA, SDMA se isključivo ekskretuje putem bubrega (21).

U radu Fliser-a i saradnika (121), korelacioni koeficijent između SDMA i GFR je skoro identičan koeficijentu između serumskog kreatinina i GFR što ukazuje da je urinarna ekskrecija zaista glavni eliminacioni put za SDMA kod ljudi. Takođe, SDMA nije direktni inhibitor eNOS kao što je to ADMA. Ova saznanja navode na zaključak da uticaj SDMA na endotel možda nije od tolikog značaja kao uticaj ADMA.

Zbog svega toga, povišene vrednosti SDMA kod naših hroničnih bubrežnih bolesnika ne mogu se objasniti samo endotelnom disfunkcijom, već međusobnom interakcijom bubrežne i endotelne disfunkcije. Imajući u vidu da se SDMA akumulira osam puta više u odnosu na ADMA kod osoba u završnoj fazi bubrežne bolesti nameće se zaključak da bubrežna disfunkcija ima ključni uticaj na koncentraciju SDMA u krvi (122).

Nedavna studija Schepers-a (103) i saradnika je pokazala da SDMA, ali ne i ADMA, ima proinflamatornu ulogu u HBI tako što stimuliše produkciju ROS u monocitima. Intrigirajući podatak je da akutnu inflamaciju karakteriše povećanje koncentracije ADMA, ali ne i SDMA (123). Pitanje koje se samo po sebi nameće je da li ADMA i SDMA, pored različitih metaboličkih puteva, imaju i različite patofiziološke uloge u organizmu? Svakako su neophodna dodatna istraživanja koja bi razjasnila uticaj SDMA na kardiovaskularni sistem kod bubrežnih bolesnika.

Mnoge studije su pokazale da je CRP faktor rizika za kardiovaskularne komplikacije i mortalitet u različitim kohortama bubrežnih bolesnika (124-127). Takođe, veliki broj studija je našao vezu između inflamacije i endotelne funkcije kod HBI bolesnika (81, 128, 129).

U našem radu hs-CRP je individualni marker koji je pokazao najjaču vezu sa FMD. Ovo saznanje je u saglasnosti sa saznanjem Recio-Mayoral i saradnika (130), koji su objavili da je hs-CRP u značajnoj negativnoj korelaciji sa FMD kod bolesnika pre dijalize, na dijalizi i posle transplantacije. Štaviše, naši podaci predstavljaju novi dokaz da hs-CRP može da predvidi endotelnu disfunkciju procenjenu brahijalnim testom endotel-zavisne vazodilatacije kod HBI bolesnika. U našoj studiji ispitali smo dijagnostičku pouzdanost hs-CRP, IL-6, SAA, SDMA i O_2^- za detekciju endotelne disfunkcije kod HBI bolesnika. Posmatrano za sve bolesnike zajedno, ROC krive pojedinačnih markera pokazuju da samo hs-CRP i IL-6 imaju sposobnost da detektuju endotelnu disfunkciju preko procentualnog FMD. Takođe, AUC je veća za hs-CRP nego za IL-6.

Zatim smo primenili multi-marker strategiju koja podrazumeva izbor adekvatnog seta biomarkera i konstruisali smo ROC krive za odabrane setove. Sve kombinacije biomarkera su imale komparabilne AUC, u rasponu od 0,724 za IL-6/SDMA/ O_2^- do 0,756 za hs-CRP/SDMA/ O_2^- . Nijedan od ovih modela nije imao značajno bolji AUC u poređenju sa AUC za samostalni hs-CRP (0,754) (tabela 42).

Naši rezultati pokazuju da $O_2^{\cdot -}$ ima lošu sposobnost da detektuje FMD kod HBI. Ovako slab učinak $O_2^{\cdot -}$ se može objasniti činjenicom da su u uremiji aktivni različiti oksidativni putevi. Koji je od ovih puteva najznačajniji još uvek je nepoznato (8). Neophodno je ispitati različite oksidativne puteve u uremiji kao i biokemijske parametre oksidativnog stresa koji figurišu u ovim putevima.

Rezultati ove studije ukazuju da HBI utiče na vrednost NT-proBNP i SDMA. Takođe, dokazano je da su oba parametra veoma osetljivi markeri za procenu smanjenja bubrežne funkcije. NT-proBNP predstavlja biomarker koji dokazuje prisustvo dijastolne disfunkcije uz odsustvo sistolne disfunkcije kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom. Neočekivano, uočena je i veza između vrednosti NT-proBNP i markera inflamacije kod ovih bolesnika. Dalje, ova studija je pokazala da postoji jaka prediktivna veza između vrednosti hs-CRP, IL-6, SDMA i endotelne disfunkcije kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom. Individualni marker koji pokazuje najjaču prediktivnu sposobnost je hs-CRP u poređenju sa IL-6, SDMA, SAA i $O_2^{\cdot -}$. Nije uočena nikakva veza između endotelne disfunkcije i $O_2^{\cdot -}$.

Bilo bi poželjno da se ispitivanje nastavi u formi prospektivne studije kako bi se potvrdili doneti zaključci, ispitali mehanizmi dejstva između pojedinih biomarkera, kao i njihova sposobnost da procene kardiovaskularni rizik kod ove kategorije bolesnika. Buduće studije treba da uključe i druge biomarkere oksidativnog stresa a naročito markere endotelne ćelijske aktivacije kako bi se ispitala njihova uloga u kardiorrenalnom sindromu. Naša studija predstavlja objektivan uvid u postojanje veze između bubrežne, dijastolne i endotelne disfunkcije sa jedne strane i ispitivanih biomarkera sa druge strane kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom. Ova studija treba da posluži kao osnova za buduća klinička istraživanja kako bi se pronašao najbolji set biomarkera koji treba da pomognu u postavljanju dijagnoze i lečenju bubrežne, dijastolne i endotelne disfunkcije kod bolesnika sa HBI i bolesnika sa transplantiranim bubregom.

6. ZAKLJUČCI

1. Kod ispitanika kontrolne grupe nema razlike u koncentraciji SDMA i NT-proBNP između muškaraca i žena. Koncentracija O_2^- je značajno viša kod zdravih muškaraca u odnosu na zdrave žene.
2. U kontrolnoj grupi dokazali smo pozitivnu korelaciju NT-proBNP sa godinama starosti dok nije bilo korelacije između SDMA i godina starosti.
3. Dokazana je značajna pozitivna korelacija SDMA sa koncentracijom kreatinina ($r = 0,381$; $p=0,001$) i značajna negativna korelacija sa GFR ($r = - 0,261$; $p=0,034$) kod zdravih osoba.
4. U kontrolnoj grupi, NT-proBNP je značajno različit između različitih starosnih grupa sa hipertenzijom ($p=0,01$), kao i između mlađih osoba sa i bez hipertenzije ($p=0,02$). Nije bilo razlike u vrednosti SDMA između ispitivanih grupa sa i bez hipertenzije u kontrolnoj grupi.
5. Koncentracija NT-proBNP je značajno niža kod zdravih osoba u odnosu na HBI bolesnike ($p<0,001$) i RT bolesnike ($p<0,001$).
6. Zdrave osobe imaju značajno nižu vrednost SDMA u odnosu na HBI bolesnike ($p<0,001$) ali ne i u odnosu na RT bolesnike ($p=0,09$). Takođe, HBI bolesnici imaju značajno višu vrednost SDMA u odnosu na RT bolesnike ($p<0,001$).
7. Kod bolesnika, vrednosti NT-proBNP su u pozitivnoj korelaciji sa inflamatornim parametrima (hs-CRP, IL-6, fibrinogen) i koncentracijom SDMA ($\beta = 0,499$). Od inflamatornih parametara, SDMA je u značajnoj korelaciji samo sa hs-CRP. Takođe, SDMA je u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom s-homocisteina ($\beta = 0,327$).
8. Nezavisni prediktori povišenih koncentracija NT-proBNP kod HBI bolesnika bile su starije godine, povišen kreatinin i snižen albumin a kod RT bolesnika starije godine i povišena urea.
9. Nezavisni prediktori povišenih koncentracija SDMA kod HBI bolesnika bile su snižena GFR i povišen NT-proBNP, a kod RT bolesnika samo povišen kreatinin.
10. NT-proBNP i SDMA su značajno viši u grupi sa teškim ($GFR < 30 \text{ ml/min/1,73 m}^2$) u odnosu na grupu sa umerenim ($GFR 30\text{--}59 \text{ ml/min/1,73m}^2$) glomerularnim oštećenjem i kod HBI bolesnika i kod bolesnika sa transplantiranim bubregom.
11. Koncentracija NT-proBNP je značajno viša u RT grupi sa dijastolnom disfunkcijom u odnosu na RT grupu bez dijastolne disfunkcije posle korekcije u odnosu na trajanje bolesti i GFR. Posle korekcije u odnosu na trajanje bolesti zadržao se značajan uticaj dijastolne disfunkcije na koncentraciju SDMA dok se

korigovane vrednosti SDMA u odnosu na GFR nisu značajno razlikovale između RT grupa sa i bez dijastolne disfunkcije.

12. Kod HBI bolesnika je slabija veza između koncentracija NT-proBNP/SDMA i dijastolne disfunkcije. Posle korekcije u odnosu na trajanje bolesti i GFR, koncentracije NT-proBNP i SDMA se više nisu značajno razlikovale između HBI grupa sa i bez dijastolne disfunkcije.
13. Kod HBI bolesnika inflamatorni parametri (hs-CRP, IL-6 i SAA) su značajno viši u grupi sa oštećenom endotelnom funkcijom u odnosu na grupu sa neoštećenom endotelnom funkcijom.
14. SDMA i hs-CRP, nezavisno od GFR, mogu da predvide oštećenje endotelne funkcije. Bolesnici sa koncentracijom hs-CRP višom od najviše tercilne vrednosti imaju 3,7 puta, dok osobe sa visokim SDMA imaju 3,3 puta veću verovatnoću da razviju oštećenje endotela u odnosu na bolesnike sa nižim vrednostima nezavisno od bubrežne funkcije.
15. Samo hs-CRP (AUC = 0,754; $p < 0,001$), IL-6 (AUC = 0,699; $p = 0,002$) i SDMA (AUC = 0,689; $p = 0,007$) značajno detektuju oštećenje endotela (sniženje FMD). Nijedna kombinacija biomarkera (hs-CRP, IL-6, SDMA i O_2^-) ne povećava značajno AUC u odnosu na AUC za hs-CRP kao samostalnog parametra.

7. LITERATURA

1. Archibald G, Bartlett W, Brown A, Christie B, Elliott A, Griffith K, et al. UK Consensus Conference on Early Chronic Kidney Disease. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22 [Suppl 9]: ix4-ix5.
2. National Kidney Foundation K/DOQUI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39 [Suppl 2]: S1-S246.
3. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton B, Hamm LL, et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease : a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2003; 108: 2154–2169.
4. Vanholder R, Massy Z, Argiles A, Spasovski G, Verbeke F, Lamiere N. Chronic kidney disease as a cause of cardiovascular morbidity and mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1048-1056.
5. Hallan SI, Dahl K, Oien CM, Grootendorst DC, Aasberg A, Holmen J, Dekker FW. Screening strategies for chronic kidney disease in the general population: follow-up of cross sectional health survey. *BMJ* 2006; 333: 1047.
6. Kottgen A, Russel SD, Loehr LR, Crainiceanu CM, Rosamond WD, Chang PP, Chambless LE, Coresh J. Reduced kidney function as a risk factor for incident heart failure: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 1307-1315.
7. House AA, Anand I, Bellomo R, Cruz D, Bobek I, Anker SD, et al. Definition and classification of Cardio-Renal Syndromes: workgroup statements from the 7th ADQI Consensus Conference. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 1416-1420.
8. Stenvinkel P, Carrero JJ, Axelsson J, Lindholm B, Heimbürger, Massy Z. Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in the chronic kidney disease patient: how do new pieces fit into the uremic puzzle? *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 505-501.
9. Ronco C, Haapio M, House AA, Anavekar N, Bellomo R. Cardiorenal syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52: 1527-1539.
10. Wang J, Sim AS, Wang XL, Salonikas C, Moriatis M, Naidoo D, Wilcken DEL. Relations between markers of renal function , coronary risk factors and the occurrence and severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2008; 197: 853-859.
11. Ružić A, Miletić B, Nola AI, Peršić V, Ražov Radas M, Včev A. Endotelna disfunkcija u „enigmatskoj slagalici” kardiovaskularnih bolesti. *Med Glas* 2009; 6(1): 2-15.
12. Maluszko J. Mechanism of endothelial dysfunction in chronic kidney disease. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 1412-1420.
13. Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 2000; 104: 1899-1906.

14. Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation* 2002; 105: 546-549.
15. Sydow K, Hornig B, Arakawa N, Bode-Böger SM, Tsikas D, Münuzel T, Böger RH. Endothelial dysfunction in patients with peripheral arterial disease and chronic hyperhomocysteinemia: potential role of ADMA. *Vasc Med* 2004; 9: 93-101.
16. Nijveldt RJ, van Leeuwen PA, van Guldener C, et al. Net renal extraction of asymmetrical (ADMA) and symmetrical (SDMA) dimethylarginine in fasting humans. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1999-2002.
17. Zoccali C. Asymmetric dimethylarginine in end-stage renal disease patients: a biomarker modifiable by calcium blockade and angiotensin II antagonism? *Kidney Int* 2006; 70: 2053-2055.
18. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572-575.
19. Zoccali C. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a cardiovascular and renal risk factor on the move. *J Hypertens* 2006; 24: 611-619.
20. Abbedini S, Meinitzer A, Holme I, März W, Weihrauch G, Fellström B, Jardine A, Holdaas H. Asymmetrical dimethylarginine is associated with renal and cardiovascular outcomes and all-cause mortality in renal transplant recipients. *Kidney Int* 2010; 77: 44-50.
21. Leiper J, Vallance P. Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 542-548.
22. Kronenberg F. Emerging risk factors and markers of chronic kidney disease progression. *Nat Rev Nephrol* 2009; 5: 677-689.
23. Suzuki T, Yamazaki T, Yazaki Y. The role of the natriuretic peptides in the cardiovascular system. *Cardiovasc res* 2001; 51: 489-494.
24. Clerico A, Recchia FA, Passino C, Emdin M. Cardiac endocrine function is an essential component of the homeostatic regulation network: physiological and clinical implications. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290: H17-H29.
25. Mc Cullough PA. Clinical utility of blood natriuretic peptide levels. *Business briefing: US Cardiology* 2006.
26. MCCullough PA, Duc P, Omland T, McCord J, Nowak RM, Hollander JE. B-type natriuretic peptide and renal function in the diagnosis of heart failure: an analysis from the Breathing Not Properly Multinational Study. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 571-579.
27. Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Bailey KR, Burnett JC. Plasma brain natriuretic peptide to detect preclinical ventricular systolic or diastolic dysfunction. A community-based study detect preclinical ventricular systolic or diastolic dysfunction. A community-based study. *Circulation* 2004; 109: 3176-3181.
28. Yasue H, Yoshimura M, Sumida H, et al. Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation* 1994; 90: 195-203.
29. Mc Cullough PA, Sandberg KR. Sorting out the evidence on natriuretic peptides. *Rev Cardiovasc Med* 2003;4 [Suppl 4]: S13-S19.

30. Clerico A, Emdin M. Diagnostic accuracy and prognostic relevance of the measurement of cardiac natriuretic peptides: a review. *Clin Chem* 2004; 50: 33-50.
31. Haug C, Metzele A, Steffen J, et al. Increased brain natriuretic peptide and atrial peptide plasma concentration in dialysis-dependent chronic renal failure and in patients with elevated left ventricular filling pressure. *Clin Invest* 1994; 72: 430-434.
32. Liefeldt L, Budde K. Risk factors for cardiovascular disease in renal transplant recipients and strategies to minimize risk. *Transplant Int* 2010; 23: 1191-1204.
33. Hausberg M, Kisters K, Kosch M, et al. Alterations of the arterial wall in renal failure. *Med Klin* 2000; 95(5): 279-285.
34. Kocak H, Ceken K, Dinckan A, et al. Assessment and comparison of endothelial function between dialysis and kidney transplant patients. *Transplant Procc* 2006; 38(2): 416-418.
35. Gorgulu N, Yelken B, Caliskan Y, et al. Endothelial dysfunction in peritoneal dialysis patients with and without failed renal transplants. *Transplant Proc* 2009; 41(9): 3647-3650.
36. Kiberd BA. Cardiovascular disease in kidney transplant recipients. *Adv Stud Med* 2007; 7(6): 169-178.
37. Auclar C, Voisin E. Nitroblue tetrazolium reduction. *CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*, R.A. Greenworld, Ed., pp.123-132, CRC Press, Boca Raton, Fla, USA, 1985.
38. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation: Modification of Diet in Renal Disease Study group. *Ann Intern Med* 1999; 130: 461-470.
39. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spielhalter DJ, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 1111-1115.
40. Lang RM, Bierig M, Devereaux RB, et al. Chamber Quantification Writing Group, American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee, European Association of Echocardiography. Recommendations for chamber quantification: A report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *JASE* 2005; 18: 1440-1463.
41. Appleton CP, Jensen JL, Hatle LK, Oh JK. Doppler evaluation of left and right ventricular diastolic function: a technical guide for obtaining optimal flow velocity recordings. *JASE* 1997; 10: 271-91.
42. Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, et al. IL-10, IL-6, and TNF- α : central factors in the altered cytokine network of uremia – the good, the bad, and the ugly. *Kidney Int* 2005; 67: 1216-1233.
43. Memon L, Spasojević-Kalimanovska V, Bogavac-Stanojević N, et al. Association of C-reactive protein with the presence and extent of angiographically verified coronary artery disease. *Tohoku J Exp Med* 2006; 209: 197-206.

44. Jelić-Ivanović Z, Memon L, Spasojević-Kalimanovska V, et al. Independent association of high serum uric acid concentration with angiographically defined coronary artery disease. *Tohoku J Exp Med* 2007; 211: 369-377.
45. Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, et al. Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 594-600.
46. MacAllister RJ, Rambašek MH, Vallance P, Williams D, Hoffmann KH, Ritz E. Concentration of dimethyl-L-arginine in the plasma of patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 2449-2452
47. Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Böger RH, Bode-Böger SM, et al. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 33: 652-658.
48. Zinnelu A, Sotgia S, Scanu B, Deicana L, Carru C. Determination of protein-incorporated methylated arginine reference values in healthy subjects whole blood and evaluation of factors affecting protein methylation. *Clin Biochem* 2008; 41: 1218-1223.
49. Hov GG, Sagen E, Bigonah A, Asberg A. Health associated reference values for arginine, asymmetric dimethylarginine (ADMA) symmetric dimethylarginine (SDMA) measured with high-performance liquid chromatography. *Scan J Clin Lab Invest* 2007; 67(8): 868-876.
50. Raymond L, Groenning BA, Hildebrandt PR, et al. The influence of age, sex and other variables on the plasma level of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in a large sample of the general population. *Heart* 2003; 89: 745-751.
51. Segawa T, Nakamura M, Itai K, Onoda T, Okayama A, Hiramori K. Plasma B-type natriuretic peptide levels and risk factors for congestive heart failure in a Japanese general population. *Int Heart J* 2005; 46: 465-475.
52. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Engl J Med* 2004; 350(7): 655-663.
53. Dantas APV, Franco MCP, Silva-Antonialli MM, et al. Gender differences in superoxide generation in microvessels of hypertensive rats: role of NAD(P)H-oxidase. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 22-29.
54. Sartori-Valinotti JC, Iliescu R, Fortepiani LA, Yanes LL, Reckelhoff JF. Sex differences in oxidative stress and the impact on blood pressure control and cardiovascular disease. *CEPP* 2007; 34: 938-945.
55. Gardner MD, Scott R. Age- and sex-related reference ranges for eight plasma constituents derived from randomly selected adults in a Scottish new town. *J Clin Pathol* 1980; 33: 380-385.
56. McPherson K, Healy MJR, Flynn FV, Piper KAJ, Garcia-Webb P. The effect of age, sex and other factors on blood chemistry in health. *Clin Chim Acta* 1978; 84: 373-397.
57. Willding P, Rollason JG, Robinson D. Patterns of change for various biochemical constituents detected in well population screening. *Clin Chim Acta* 1972; 41: 375-387.
58. Cirillo M, Anastasio P, De Santo NG. Relationship of gender, age and body mass index to errors in predicted kidney function. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1791-1798.

59. Wetzels JFM, Kiemeney LALM, Swinkels DW, Willems HL, den Heijer M. Age- and gender- specific reference values of estimated GFR in Caucasians: The Nimegen Bomedical Study. *Kidney Int* 2007; 72: 632-637.
60. Roche Diagnostics. ProBrain natriuretic peptide package insert. Indianapolis: Roche diagnostic; 2002.
61. Macy EM, Hayes TE, Tracy RP. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin Chem* 1997; 43: 52-58.
62. Kyung-Hoon L, Jang-Young K, Sang-Baek K, et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels in the Korean general population. *Korean Circ J* 2010; 40: 645-650.
63. Fleck C, Schweitzer F, Karge E, Busch M, Stein G. Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in patients with chronic kidney diseases. *Clin Chim Acta* 2003; 336: 1-12.
64. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, et al. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 1999; 99: 1141-1146.
65. De Filippi CR, Christenson RH. B-type natriuretic peptide (BNP)/NT-proBNP and renal function: is the controversy over? *Clin Chem* 2009; 55(7): 1271-1273.
66. Rayazanov AG, Nefsky BS. Protein turnover plays a key role in aging. *Mech Ageing Dev* 2002; 123: 207-213.
67. Vancea C, Serban C, Mozos I, Susan L, Pacurari A, Romosan I. Lipid metabolism parameters and renal function in hypertensive elderly patients. *Annals of RSCB Vol.XIV*, 2: 226-230.
68. Shafi Dar M, Pandith AA, Sameer AS, Sultan M, Yousuf A, Mudassar S. Hs-CRP: a potential marker for hypertension in Kashmiri population. *Ind J Clin Biochem* 2010; 25(2): 208-212.
69. Boss JC, Lip GYH. Is hypertension an inflammatory process? *Curr Pharm Des* 2006; 12: 1623-1635.
70. Yudkin JS, Stehouwer CDA, et al. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance and endothelial dysfunction *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 972-978.
71. Van Kimmenade RRJ, Januzzi JL, Bakker JA, Houben AJ, et al. Renal clearance of B-type natriuretic peptide and amino terminal pro-B-type natriuretic peptide. *JACC* 2009; 53(10): 884-890.
72. Goonasekera CD, Rees DD, Woolard P, et al. Nitric oxide synthase inhibitors and hypertension in children and adolescents. *J Hypertens* 1997; 15: 901-909.
73. Pettersson A, Hedner T, Milsom I. Increased circulating concentrations of asymmetric dimethyl arginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis, in preeclampsia. *Acta Obstet Gynaecol Scand* 1998; 77: 808-813.
74. Päivä H, Laakso J, Laine H, Laaksonen R, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine and hyperemic myocardial blood flow in young subjects with borderline hypertension or familial hypercholesterolemia. *JACC* 2002; 40(7): 1241-1247.
75. Fleck C, Janz A, Schweitzer EK, et al. Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in renal failure patients. *Kidney Int* 2001; 59(suppl 78): S14-S18.

76. Roberts MA, Srivastava PM, Macmillan N, et al. B-type natriuretic peptides strongly predict mortality in patients who are treated with long-term dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 1057-1065.
77. Wei TM, Jin L, et al. Changes in plasma B-type natriuretic peptide after allograft renal transplantation. *Nephrology* 2007; 12: 102-106.
78. Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant of uremia: oxidative stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int* 2002; 62: 1524-1538.
79. Zalba G, Fortuno A, Diez J. Oxidative stress and atherosclerosis in early chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 2686-2690.
80. Fortuno A, Beloqui O, San Jose G, et al. Increased phagocytic nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase-dependent superoxide production in patients with early chronic kidney disease. *Kidney Int* 2005; 68[Suppl 99]: S71-S75.
81. Yilmaz MI, Saglam M, Caglar K, et al. The determinants of endothelial dysfunction in CKD: oxidative stress and asymmetric dimethylarginine. *Am J Kidney Dis* 2006; 47: 42-50.
82. Kang DH, Nakagawa T, Feng L, Watanabe S, Han L, et al. A role for uric acid in the progression of renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2888-2897.
83. Kaysen GA. Lipid and lipoprotein metabolism in chronic kidney failure. *J Renal Nutr* 2009; 19(1): 73-77.
84. Choudhury D, Tuncel M, Levi M. Disorders of lipid metabolism and chronic kidney disease in the elderly. *Semin Nephrol* 2009; 29(6): 610-620.
85. Daynes RA, Araneo BA, Ershler WB, Maloney C, et al. Altered regulation of IL-6 production with normal aging. *J Immunol* 1993; 150: 5219-5230.
86. Beharka AA, Meydani M, Wu D, Leka LS, Meydani A, Meydani SN. Interleukin-6 production does not increase with age. *J Gerontol* 2001; 56A(2): B81-B88.
87. Cheng HT, Huang JW, Chiang CK, Yen CJ, Hung KY, Wu KD. Metabolic syndrome and insulin resistance as risk factors for development of chronic kidney disease and rapid decline in renal function in the elderly. *J Clin Endocr* 2012; 97(4): 1268-1276.
88. Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 1983-1992.
89. Bode-Böger SM, Scalera F, Martens-Lobenhoffer J. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) accelerates cell senescence. *Vasc Med* 2005;10: 65-71.
90. Vanhoutte PM. Ageing and endothelial dysfunction. *Eur Heart J Suppl* 2002; 4(Suppl A): A8-A17.
91. Don BR, Kaysen G. Serum albumin concentration and chronic kidney disease. *US Nephrology* 2010; 5(1): 20-27.
92. Mark PB, Stewart GA, Gansevoort RT, et al. Diagnostic potential of circulating natriuretic peptides in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 402-410.
93. Schiffrin EL, Lipman ML and Mann JF. Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation* 2007; 116: 85-97.
94. Hillege HL, Fidler V, Diercks GF, et al. Urinary uric acid excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. *Circulation* 2002; 106: 1777-1782.

95. Manjunath G, Tighiouart H, Coresh J, et al. Level of kidney function as a risk factor for cardiovascular outcomes in the elderly. *Kidney Int* 2003; 63: 1121-1129.
96. Ng LL, Geeranavar S, Jennings SC, et al. Diagnosis of heart failure using urinary natriuretic peptides. *Clin Sci (Lond)* 2004; 106: 129-133.
97. Anwaruddin S, Lloyd-Jones DM, Baggish A, et al. Renal function, congestive heart failure and amino-terminal pro-brain natriuretic peptide measurement: results from the proBNP investigation of dyspnea in the emergency department (PRIDE) study. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 91-97.
98. Srisawasdi P, Vanavanan S, et al. The effect of renal dysfunction on BNP, NT-proBNP and their ratio. *Am J Clin Pathol* 2010; 133: 14-23.
99. Spanaus KS, Kronenberg F, Ritz E, Schlapbach R, Fliser D, et al. B-type natriuretic peptide concentrations predict the progression of nondiabetic chronic kidney disease: the mild-to-moderate kidney disease study. *Clin Chem* 2007; 53(7): 1264-1272.
100. Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, Lindholm B, et al. IL-10, IL-6, and TNF- α : central factors in the altered cytokine network of uremia-the good, the bad, and the ugly. *Kidney Int* 2005; 67: 1216-1233.
101. Tanaka T, Kanda T, Takanashi T, Saegusa S, Moriya J, Kurabayashi M. Interleukin-6-induced reciprocal expression of SERCA and natriuretic peptides mRNA in cultured rat ventricular myocytes. *J Int Med Res* 2004; 32: 57-61.
102. Bode-Böger SM, Scalera F, Kielstein JT, et al. Symmetrical dimethylarginine: a new combined parameter for renal function and extent of coronary artery disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1128-1134.
103. Schepers E, Glorieux G, Dhondt A, et al. Role of symmetric dimethylarginine in vascular damage via store-operated calcium influx in monocytes. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 1429-1435.
104. Codognotto M, Piccoli A, Rubini C, et al. Determinants of circulating asymmetric and symmetric dimethylarginines in patients evaluated for acute dyspnea. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49 (2): 237-242.
105. Chenevier-Gobeaux C, Claessens YE, Voyer S, et al. Influence of renal function on N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in patients admitted for dyspnoea in the emergency department: comparison with brain natriuretic peptide (BNP). *Clin Chim Acta* 2005; 361: 167-175.
106. Harjai K. Potential new cardiovascular risk factors: left ventricular hypertrophy, homocysteine, lipoprotein(a), triglycerides, oxidative stress, and fibrinogen. *Ann Inter Med* 1999; 131: 376-386.
107. Retzinger GS. Adsorption and coagulability of fibrinogen on atheromatous lipid surfaces. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 786-792.
108. Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Bailey KR, Burnett JC. Plasma brain natriuretic peptide to detect preclinical ventricular systolic or diastolic dysfunction. A community-based study detect preclinical ventricular systolic or diastolic dysfunction. A community-based study. *Circulation* 2004; 109: 3176-3181.
109. Luchner A, Hengstenberg C, Lowel H, Riegger GAJ, Schunkert H, Holmer S. Effect of compensated renal dysfunction on approved heart failure markers: direct comparison of brain natriuretic peptide (BNP) and N-terminal pro-BNP. *Hypertension* 2005; 46: 118-123.

110. Lubien E, DeMaria A, Krishnaswamy P, et al. Utility of B-natriuretic peptide in detecting diastolic dysfunction: comparison with Doppler velocity recordings. *Circulation* 2002; 105: 595-601.
111. Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, et al. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cell. *Circulation* 2002; 106: 1439-1441.
112. Singh U, Devaraj S, Vasquez –Vivar J, Jialal I. C-reactive protein decreases endothelial nitric oxide synthase activity via uncoupling. *J Mol Cell Cardiol* 2007; 43(6): 780-791.
113. Cueto-Manzano AM, Morales-Buenrostro LE, Gonzales-Espinoza L, et al. Markers of inflammation before and after renal transplantation. *Transplantation* 2005; 80: 47-51.
114. Oflaz H, Turkmen A, Turgut F, et al. Changes in endothelial function before and after renal transplantation. *Transplant Int* 2006; 19: 333-337.
115. Quaschnig T, Mainka T, Nauck M, Rump LC, Wanner C, Krämer-Guth A. Immunosuppression enhances atherogenicity of lipid profile after transplantation. *Kidney Int* 1999; 56[Suppl 71]: S235-S237.
116. Marcen R. Cardiovascular risk factors in renal transplantation-current controversies. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21[Suppl 3]: iii3-iii8.
117. Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, Blaschke TF, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98: 1842-1847.
118. Zoccali C, Bode-Böger SM, Mallamaci F, Bendetto FA, Tripepi G, Malatino L, Cataliotti A, Bellanuova I, Fermo I, Frölich JC, Boger RH. Plasma concentrations of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001; 358: 2113-2117.
119. Caglar K, Yilmaz MI, Sonmez A, Cakir E, Kaya A, Acikel C, Eyiletten T, Yenicesu M, Oguz Y, Bilgi C, Oktenli C, Vural A, Zoccali C. ADMA, proteinuria and insulin resistance in non-diabetic stage I chronic kidney disease. *Kidney Int* 2006; 70: 781-787.
120. Leiper JM, Vallance P. The synthesis and metabolism of asymmetric dimethylarginine (ADMA). *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62: 33-38.
121. Fliser D, Kronenberg F, Kielstein JT, Morath C, Bode-Böger SM, Haller H, Ritz E. Asymmetric dimethylarginine and progression of chronic kidney disease: the Mild to Moderate Kidney Disease Study. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2456-2461.
122. Fliser D, Kielstein JT, Haller H, Bode-Böger SM. Asymmetric dimethylarginine: a cardiovascular risk factor in renal disease? *Kidney Int* 2003;63[Suppl 84]: S37-S40.
123. Zoccali C, Maas R, Cutrupi S, et al. Asymmetric dimethyl-arginine (ADMA) response to inflammation in acute infections. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 801-806.
124. Wanner C, Zimmerman J, Schwedler S, Metzger T. Inflammation and cardiovascular risk in dialysis patients. *Kidney Int* 2002; 61: S99-S102.
125. Apple FS, Murakami MM, Pearce LA, Herzog CA. Multi-biomarker risk stratification of N-terminal-pro-B-type natriuretic peptide, high-sensitivity C-reactive protein, and cardiac troponin T and I in end-stage renal disease for all-cause death. *Clin Chem* 2004; 50(12): 2279-2285.

126. Menon V, Greene T, Wang X, Pereira AA, Marcovina SM, et al. C-reactive protein and albumin is predictors of all-cause and cardiovascular in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2005; 68: 766-772.
127. Varaganam M, Finney H, Trevitt R, et al. Pretransplantation levels of C-reactive protein predict all-cause and cardiovascular mortality, but not graft outcome, in kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 502-507.
128. Cottone S, Palermo A, Vaccaro F, et al. Inflammation and endothelial activation are linked to renal function in long-term kidney transplantation. *Transplant Int* 2007; 20: 82-87.
129. Stam F, van Guldener C, Schalkwijk CG, ter Wee PM, Donker AMJ, Stehouwer CDA. Impaired renal function is associated with markers of endothelial dysfunction and increased inflammatory activity. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 892-898.
130. Recio-Mayoral A, Banerjee D, Streater C, Kaski JC. Endothelial dysfunction, inflammation and atherosclerosis in chronic kidney disease- a cross-sectional study of predialysis, dialysis and kidney-transplantation patients. *Atherosclerosis* 2011; 216: 446-451.

Prilog

OBJAVLJENI REZULTATI KOJI ČINE SASTAVNI DEO DOKTORSKE DISERTACIJE

M22 – Rad u istaknutom međunarodnom časopisu

1. Memon L, Spasojevic-Kalimanovska V, Bogavac-Stanojevic N, Kotur-Stevuljevic J, Simic-Ogrizovic S, Giga V, Dopsaj V, Jelic-Ivanovic Z, Spasic S. Assessment of endothelial dysfunction: the role of symmetrical dimethylarginine and proinflammatory markers in chronic kidney disease and renal transplant recipients. *Disease markers* 2013; 35(3): 173-180 (IF 2.479; rang časopisa 53/121 u kategoriji Medicine, Research & Experimental)

M23 – Rad u međunarodnom naučnom časopisu

2. Memon L, Spasojevic-Kalimanovska V, Bogavac-Stanojevic N, Kotur-Stevuljevic J, Simic-Ogrizovic S, Giga V, Dopsaj V, Jelic-Ivanovic Z, Spasic S. Are Levels of NT-proBNP and SDMA useful to determine diastolic dysfunction in chronic kidney disease and renal transplant patients? *JCLA* 2013; DOI 1010002/jcla.21628. (IF 1.356; rang časopisa 18/32 u kategoriji Medical Laboratory Tehnology)

Biografija

Lidija Memon je rođena 31. oktobra 1964. godine u Beogradu, Srbija. Na Farmaceutski fakultet u Beogradu upisala se školske 1983/84. godine, a diplomirala 15. septembra 1988. sa srednjom ocenom 9,42.

Po obavljenom jednogodišnjem pripravničkom stažu u biohemijskoj laboratoriji Kliničko-bolničkog centra „Zvezdara” u Beogradu, položila je stručni ispit 1989. godine. Od oktobra 1990. godine stalno je zaposlena u Centralnoj laboratoriji Kliničko-bolničkog centra „Bežanijska kosa” u Beogradu.

Školske 1996/1997. godine Lidija Memon se upisala na specijalističke studije iz oblasti Medicinska biohemija na Farmaceutskom fakultetu u Beogradu a specijalistički ispit je odbranila 2000. godine. Poslediplomske magistarske studije na predmetu Medicinska biohemija na istom fakultetu upisala je novembra 1998. godine a magistarsku tezu pod nazivom „Inflamatorni parametri ateroskleroze kod pacijenata sa angiografski dokazanom koronarnom bolešću” odbranila je 2006. godine. Zvanje primarijus stekla je 2007. godine. Na mesto šefa Odseka za hematologiju sa hemostazom Centralne laboratorije Kliničko-bolničkog centra „Bežanijska kosa” postavljena je 2004. godine. Od oktobra 2013. godine se nalazi na mestu načelnika iste laboratorije.

U okviru svog naučno-istraživačkog rada učestvovala je na brojnim naučnim skupovima u zemlji gde je prezentovala svoja istraživanja kao usmena izlaganja i posterske prezentacije. Do sada je publikovala deset naučnih radova u inostranim časopisima i ima sedam saopštenja u zbornicima sa naučnih skupova u inostranstvu.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Lidija Memon

број индекса 25/10

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Značaj određivanja simetričnog dimetil-L-arginina i N-terminalnog fragmenta natriuretskog

propeptida B tipa kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom i transplantiranim

bubregom

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 11.11.2013.

Lidija Memon

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Lidija Memon

Број индекса 25/10

Студијски програм doktorske akademske studije iz medicinske biohemije

Наслов рада Značaj određivanja simetričnog dimetil-L-arginina i N-terminalnog fragmenta natriuretskog propeptida B tipa kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom i transplantiranim bubregom

Ментор dr Vesna Spasojević-Kalimanovska, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet

Потписани/а Lidija Memon

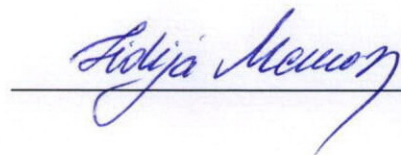
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 11.11.2013.



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Značaj određivanja simetričnog dimetil-L-arginina i N-terminalnog fragmenta natriuretskog

propeptida B tipa kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom i transplantiranim

bubregom

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

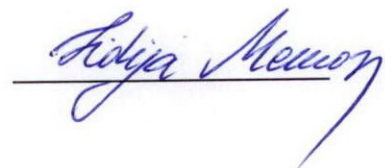
Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 11.11.2013.



1. Ауторство - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.